



De complementbindingsreactie bij echinococcose van mensch en dier: een onderzoek naar de eigenschappen van het antigeen, de specificiteit der reactie en haar waarde voor de diagnostiek

<https://hdl.handle.net/1874/277586>

1922

De Complementbindingsreactie bij Echinococcose van mensch en dier

(Een onderzoek naar de eigenschappen van het
antigeen, de specificiteit der reactie en haar
waarde voor de diagnostiek)

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT



3627 5356

V.f. A. 590

De Complementbindingsreactie bij Echinococcose van mensch en dier

(Een onderzoek naar de eigenschappen van het
antigeen, de specificiteit der reactie en haar
waarde voor de diagnostiek)

Proefschrift

Ter verkrijging van den Graad van
Doctor in de Veeartsenijkunde
aan de Veeartsenijkundige Hoogeschool te Utrecht, na
machtiging van den Rector Magnificus Dr. H. M. Kroon,
volgens besluit van den Senaat der Veeartsenijkundige
Hoogeschool, tegen de bedenkingen van den Senaat te
verdedigen op Woensdag, 28 Juni 1922 des namiddags
te 4 ure

door

Jacob van der Hoeden
geboren te Utrecht

BIJLIJDE
DIERGENEESKUNDE
UTRECHT

RIJKSUNIVERSITEIT UTRECHT



1467 3903

Berlin 1922
Emil Ebering
Mittelstr. 29

Die

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

Aan mijne ouders

Aan mijne vrouw

And the end

And the end

Inhoud.

	blz.
I. Inleiding	1
II. De complementbindingsreactie	4
III. Methoden van complementbindingsreactie voor de echinococcus- diagnostiek	
A. Overzicht van verschillende methoden uit de literatuur . .	6
B. Beschrijving van de door mij toegepaste methode	8
De complementbindingsindex	11
IV. Het echinococcusantigeen.	
a) De echinococcusvloeistof	
1. Literatuuroverzicht	13
2. Eigen onderzoek	16
Reactie, eiwitgehalte	16
Voorkomen van micro-organismen	17
Antigeenwaarden	18
Leucine, tyrosine, cholesterine	22
Gedrag t. o. v. sera van luetici	26
Aard van het antigeen in de vloeistof	28
b) Extracten der blaaswanden en broedkapsels	
1. Literatuuroverzicht	31
2. Eigen onderzoek	32
Waterig extract der echin. blaaswanden	32
Alcoholisch extract der echin. blaaswanden	32
Extracten uit broedkapsels	34
Gedrag der extracten t. o. v. sera van luetici	35
c) Alcoholische extracten van voor echino- coccose onspecifieken oorsprong	
1. Literatuuroverzicht	38
2. Eigen onderzoek (Taenia, Fasciola, Ascaris, Cysticercus, Wassermannextracten)	38
d) Aard en herkomst van het antigeen.	
Literatuur en eigen opvattingen	42
V. De Echinococcusantilichamen.	
Specificiteit en waarde der complementbin- dingsreactie bij echinococcose.	
1. Literatuuroverzicht	48
2. Eigen onderzoek	53
VI. Samenvatting der eigen onderzoekingen en conclusies	76
VII. Literatuur omtrent de complementbindingsreactie bij echino- coccose	79

In het voorwoord tot dit proefschrift grijp ik gaarne de gelegenheid aan om U, Hoogleraren en andere docenten van de Veeartsenijkundige Hoogeschool, te danken voor den grondslag, dien Gij hebt gelegd tot mijn wetenschappelijke vorming.

In het bijzonder geldt deze dank U, Hooggeleerde Wester en zeer geachte Beyers, onder wier leiding ik het voorrecht had, na het voleindigen mijner studien, in de „Kliniek voor Inwendige Ziekten“ geruimen tijd te arbeiden.

Niet minder dank ik U, Hooggeleerde de Blieck, zeer geachte Promotor. De gelegenheid, die gij mij, als student, geboden hebt om in Uw Instituut zelfstandig onderzoek te verrichten, heeft den lust tot bacterio- en serologisch werken bij mij wakker geroepen. Ik ben U zeer erkentelijk voor de belangstelling, die gij in mijn proefschrift hebt getoond en voor Uw nuttige wenken, die het tengoede zijn gekomen.

Bovenal, zeergeleerde Broers, dank ik U. Gij hebt mij, voordat van de bewerking van een proefschrift sprake was, tot dit onderzoek aangespoord. Uw levendige belangstelling en tot verder zoeken aansporende kritiek zijn niet het minst aanleiding geweest, dat de aanvankelijk bescheiden opgezette studie tot deze vormen is uitgegroeid, hetgeen mij werd verlicht door de vriendelijke hulp, die gij mij in velerlei opzichten daarbij hebt geboden en de ruime gelegenheid die ik in het „Centraal Laboratorium voor de Volksgezondheid“ daartoe mocht vinden.

Ook U, geachte lector Hoefnagel en zeer gewaardeerde Rutgers en de Graaf, door wier bemiddeling ik zoo ruimschoots dierlijk onderzoekingsmateriaal uit de Gemeentelijke Slachtplaats te Utrecht mocht ontvangen, breng ik mijn dank voor Uwe hulp.

Tenslotte betuig ik mijn erkentelijkheid aan U, bacteriologen en scheikundigen van het „Centraal Laboratorium“, die mij bijna allen in meerdere of mindere mate bij mijn proefnemingen hebt terzijde gestaan, terwijl tevens een woord van oprechten dank past aan de vele artsen, die mijn werk, door het verschaffen van waardevol materiaal en nauwkeurige inlichtingen, hebben bevorderd.

Utrecht, Januari 1922.

I. Inleiding.

Voor de veterinaire kliniek is, in tegenstelling met de medische, de echinococcus, ondanks haar veelvuldig voorkomen bij verschillende huisdieren, in het algemeen van geringe beteekenis. Het belang, dat de echinococcose bij onze huisdieren bezit, moet dan ook in de eerste plaats worden gezocht in de rol, die haar toekomt bij de verbreiding der echinococcusziekte onder den mensch; dit springt onmiddellijk in het oog, wanneer men den ontwikkelingscyclus van den parasiet volgt.

De met rijpe embryonen voorziene eieren van *Taenia echinococcus*, de lintworm, die in hoofdzaak leeft in den dunnen darm van den hond, groeien, nadat zij door herkauwers, varken, paard of mensch zijn opgenomen (ook bij den aap en andere in het wild levende dieren is de blaasworm aangetroffen), in verschillende organen, voornamelijk in lever en longen, uit tot larve, de echinococcusblaas of echinococcus. Deze met vloeistof gevulde „blaasworm“ kan zich uniloculair of multiloculair (alveolair) voordoen. Binnen of buiten de moederblazen kunnen zich dochterblazen (*E. hydatidosus*) en daarin zelfs weer kleindochterblazen ontwikkelen. De parasitaire blaaswand bestaat uit een cellooze chitinemembraan met karakteristieke lamellairen bouw, die aan den binnenkant bekleed is met een dunne, kernrijke kiemlaag (parenchym), terwijl het geheel omgeven wordt door een min of meer dikke bindweefselkapsel, afkomstig van den gastheer. Door instulping kunnen zich aan den binnenwand der blazen kleine broedkapsels ontwikkelen, die zich geheel kunnen afsnoeren (hydatidenzand) en waarin gemiddeld 10 à 30 scolices, de echinococcuskopjes, ontstaan (Brumpt, 1913). In tegenstelling met deze fertiele *Echinococcus*cysten, kan bij de slachtdieren en voornamelijk bij het rund, het uitgroeien der broedkapsels achterwege blijven; dit is de steriele vorm (*E. cysticus sterilis*, *Acephalocyst* Laennec).

De ontwikkelingscyclus van den parasiet wordt gesloten, doordat de hond, meestal door het eten van slachtafval, den inhoud uit fertiele *Echinococcus*blazen tot zich neemt, waarna de vrijgekomen scolices zich in den dunnen darm hechten en uitgroeien tot de *Taenia echinococcus*.

Tot waarneembare ziekteverschijnselen komt het bij de huisdieren, die echinococcusblazen herbergen, slechts zelden. Alleen in die gevallen, waarbij de parasiet belangrijke organen als het

centraal zenuwstelsel of het hart tot zetel heeft gekozen, of wanneer de uitbreiding zeer belangrijk is, kunnen af en toe afwijkingen worden waargenomen.

Anders is dat bij den mensch, waar tenslotte het dragen van echinococcen vrij regelmatig, subjectieve bezwaren en functiestoornissen tengevolge kan hebben.

De diagnostiek der echinococcose is daarom, vooral in een gebied als onze provincie Friesland, waar deze ziekte zeer veelvuldig voorkomt, van groote beteekenis, temeer waar een tijdig chirurgisch ingrijpen bij den mensch van belang kan zijn.

Behalve de gebruikelijke physische onderzoekingsmethoden als palpatie en percussie heeft langen tijd als hulpmiddel gegolden het hydatidenknisteren (Hydatidenschwirren, hydatid thrill, frémissement hydatique) veroorzaakt door crepitatie der tegen elkaar stootende dochterblazen, totdat gebleken is, dat dit verschijnsel slechts zelden kan worden waargenomen (Finsen vond bij 235 gevallen geen enkele maal „schwirren“) en dat ook bij andere afwijkingen het knisteren meermalen kan worden opgemerkt (Hahn, Putzu 1910). Van meer belang, vooral voor den chirurg, is het Röntgenonderzoek. Toch is, met name bij een nog niet oude uitzaaiing, of wanneer de plaats van de localisatie overigens niet is te vermoeden en tenslotte bij den multiloculairen vorm, niet veel nut van de doorlichting te verwachten, terwijl bij de dieren hieraan, wegens de groote technische bezwaren, moeilijk waarde voor de diagnostiek te hechten valt.

Dat soms toxische verschijnselen en, vooral na punctie of chirurgisch ingrijpen, een urticaria-achtig uitslag kunnen optreden, heeft op zich zelf voor den clinicus in het algemeen weinig waarde, omdat dit geen specifiek verschijnsel is.

De verhooging van het aantal eosinophile cellen in het bloed (Sabrazès) gaat bij den mensch veelal met echinococcosis samen, maar behoeft daarbij niet steeds aanwezig te zijn (Weinberg en Boidin); bovendien wordt het ook vrij regelmatig waargenomen bij alle andere parasitaire aandoeningen (Emerson) en vindt men het allerminst zelden bij huidziekten, leucaemie, asthma bronchiale, maligne tumoren, malaria, secundaire anaemie, milttumor en nog andere afwijkingen (Webster, Diagn. Meth. 1920).

Bij onze huisdieren is een verhooging van het eosinophilengetal bij echinococcose niet beschreven, en, waar dit verschijnsel met andere wormaandoeningen dezer dieren niet samengaat (Wester), is voor de diagnostiek der echinococcusziekte bij dieren, voorloopig althans, aan het bloedbeeld geen waarde toe te kennen.

De afkeer, die echinococcendragers zouden bezitten voor vette voedingsmiddelen (Dieulafoy) is volgens Weinberg onbewezen en zeker niet specifiek voor echinococcose.

Het vinden van echinococcushaken of membranen in sputum, faeces, of urine is bewijzend voor de aanwezigheid van den parasiet, maar behoort tot de zeldzaamheden.

Belangrijk is het chemisch en microscopisch onderzoek van den door punctie, uit daartoe bereikbare cysten verkregen blaasinhoud, doch de praktische moeilijkheden, waarop men bij onze huisdieren daarbij stuiten zal en de gevaren voor uitzaaiing der scolices (Puntoni, Devé) en het optreden van anaphylactische verschijnselen (urticaria), die aan dit ingrijpen meer speciaal voor den mensch verbonden zijn, maken de toepassing van deze, overigens waardevolle, methode van onderzoek veelal ongewenscht.

Het belangrijkste moment in de geschiedenis van de diagnostiek der echinococcose was, toen het Ghedini in 1906 gelukte in het bloedserum van lijders aan deze ziekte en van met echinococcenvloeistof ingespoten konijnen, specifieke complementbindende antistoffen aan te toonen.

Tevoren had Langer (1905) dergelijke bestanddeelen tevergeefs gezocht in sera van menschen en honden, die lintwormen herbergden en zoomin Joest (1906) als Geradini (1906) waren erin geslaagd specifieke praecipiteerende stoffen ten opzichte van echinococcus en cysticercus bij slacht- en proefdieren te vinden.

In 1907 konden Fleig en Lisbonne echter met zekerheid praecipitinen bij echinococcendragers aantoonen en talrijke onderzoekers hebben daarna overeenkomstige resultaten verkregen. Toch heeft deze serologische onderzoekingsmethode zich geen algemeen ingang weten te verschaffen, vooral, omdat het aantal positief uitvallende reacties aanmerkelijk kleiner is ($\frac{1}{3}$ Weinberg, $\frac{1}{2}$ Ghedini), dan het aantal echinococcuszieken.

Zoomin de meiostagminereactie (Ascoli, 1910) als de anaphylaxiemethode (Chauffard, Boidin en Laroche, 1909) hebben tenslotte waarde voor de diagnostiek verkregen, en ook aan de intradermale reactie (Luridiana, 1921) is dit nog niet gelukt.

De complementbindingsreactie daarentegen is gebleken te zijn een uitnemend hulpmiddel, dat vooral door de onderzoekingen van Weinberg en zijn medewerkers zich een eerste plaats heeft veroverd op het gebied van het echinococcusonderzoek.

II. De complementbindingsreactie.

De complementbindingsreactie, die o. m. onschatbare diensten heeft bewezen voor het syphilisonderzoek (Wassermann en Bruck) en de malleusdiagnostiek (Schütz en Schubert) is geïnaugureerd door Bordet en Gengou.

Hierbij wordt gebruik gemaakt van de volgende reagentia:

1. Geïnactiveerd (d. i. door verhitting gedurende $\frac{1}{2}$ uur op 56° C. van complement bevrijd) serum van een konijn, dat door herhaalde injecties met (schapen)erythrocyten de eigenschap verkregen heeft om deze bloedcellen in vitro op te lossen (haemolyse), wanneer daartoe samenwerking met complement mogelijk is. Het werkende bestanddeel van dit serum heet (haemolytische) amboceptor (Ehrlich), fixateur of substance sensibilisatrice (Bordet).

2. (Schapen)bloedcellen, die door herhaald wasschen met physiologische (0,85 %) keukenzoutoplossing van serum zijn bevrijd.

3. Het Complement (Ehrlich) of Alexine (Buchner) is in dierlijke sera in verschillende hoeveelheid voorhanden en wordt door inactivering vernietigd (thermolabel). Caviaserum, dat in het algemeen rijk is aan complement, wordt in den regel hiertoe aangewend.

4. Antigeen is in het algemeen: een stof, die in staat is antistoffen in het dierlijk organisme op te wekken (Detré). Met betrekking tot de pathologie is het de ziekteverwekker, een gedeelte of product daarvan of een extract daaruit.

5. Het antilichaam (de antistof) is de stof, die onder invloed van het antigeen (veelal den ziekteverwekker) in het dierlijk organisme wordt gevormd en in bloedserum of cerebrospinaalvloeistof is aan te toonen, doordat het onder bepaalde omstandigheden een binding met het daarbij behoorende antigeen kan aangaan. Het complementbindend antilichaam heeft amboceptornatuur en is thermostabiel (verdraagt verhitting tot 56° C. ged. $\frac{1}{2}$ uur).

Het principe van de complementbindingsreactie berust op het volgende: De antistof combineert zich met het antigeen (onder daartoe gunstige omstandigheden), dat daardoor gesensibiliseerd wordt, d. w. z. toegankelijk gemaakt voor de inwerking van het complement. Dit wordt daarbij quantitatief gebonden. Zonder de samenwerking der twee eerstgenoemde stoffen heeft geen complementbinding plaats en omgekeerd mag uit de verdwijning van het complement besloten worden, dat deze samenwerking van het bij elkaar passende antilichaam en antigeen zich heeft voltrokken. Gaat men dus uit van een bekend antigeen, dan bewijst de complementbinding de aanwezigheid van het op dat antigeen ingestelde antilichaam. Om aan te toonen, dat complement is verbruikt, wordt een indicator gebezigd, het haemolytisch systeem (Bordet). Dit bestaat uit gelijke deelen van een 5 % emulsie van erythrocyten en een geeigende verdunning van den homologen haemolytischen amboceptor. Komt bij het samenvoegen van antistof, antigeen en complement binding tot stand, dan zal, mits geen overmaat van complement aanwezig was, na daaropvolgende toevoeging van het haemolytisch systeem, geen lysis der bloedlichaampjes optreden, omdat de haemolytische antistof (amboceptor) niet op de bloedlichaampjes kan inwerken, aangezien daartoe geen complement beschikbaar is. De onbeschadigde erythrocyten zakken uit op den bodem en laten de bovenstaande vloeistof ongekleurd. — Treedt daarentegen geen binding van het complement op (omdat de onderzochte vloeistof geen homologe antistof bevatte), dan kan dit vrije complement dienst doen voor het tot stand brengen der haemolyse. Het uitblijven van haemolyse bewijst dus de aanwezigheid van de specifieke, bij het gebruikte antigeen passende antistoffen, waaruit tot het bestaan der overeenkomstige ziekte besloten mag worden.

De complementbindingsreactie kan, om een indruk te bekomen van de hoeveelheid antistoffen, die een te onderzoeken serum bevat, quantitatief worden uitgevoerd, waartoe elk der 3 factoren, serum, antigeen of complement, gewisseld kunnen worden.

III. Methoden van Complementbindingsreactie voor de Echinococcusdiagnostiek.

A. Overzicht der verschillende methoden uit de litteratuur.

De eerste nauwkeurige opgaven omtrent de toegepaste techniek voor de complementbindingsreactie bij echinococcose zijn van Weinberg en Parvu (1908). Aanvankelijk hielden zij de hoeveelheden serum en complement constant en wisselden het quantum antigeen, later (1909) werkten zij met stijgende doses patientserum. Een belangrijke verbetering ondervond de methode toen Weinberg (1909), voordat de proef werd ingesteld, in verband met de wisselende hoeveelheid complement in de verschillende cavia'sera, het uittitreeren daarvan als eisch stelde. Vrijwel alle modificaties, die voor en na, ten bate van de Wassermannreactie en de complementbindingsreactie bij tuberculose zijn toegepast, heeft men ook voor het echinococcenonderzoek aangewend.

De methode van Margarethe Stern, waarbij gebruik wordt gemaakt van het in onverhit patientserum aanwezige complement is door Weinberg (1909) verwerkt tot zijn „procédé rapide“, welke een combinatie vormt van deze modificatie en de door Hecht aangegevene. Volgens Bauer (Parvu, 1909), wordt gebruik gemaakt van de normale haemolytische amboceptoren, die menschersera ten opzichte van schapenerythrocyten bezitten, terwijl Hecht zoowel van deze normale amboceptoren als van het normale complement zich bedient (Jianu 1909; Eckenstein 1910). Door Bettencourt (1910), Weinberg en Bromfenbrenner (1910) en Romanelli (1912) is de methode van Noguchi gevolgd, waarbij als haemolytisch systeem worden gebezigd menschenbloedcellen en antimenscherserum van het konijn.

Rubinstein (1921) zegt met de methodiek, die Duhot (1919) ter bepaling van de antigeenwaarde zijner cystenvloeistoffen aanwendde en waarbij toenemende hoeveelheden complement bij constante hoeveelheden der overige reagentia werden gevoegd, ook voor de echinococcendiagnostiek gunstige resultaten te hebben verkregen. Onafhankelijk daarvan is door mij (1920) in het „Centraal Laboratorium“ een op dezelfde principes berustende werkwijze ingevoerd.

Tenslotte geeft Rubinstein (1921) de door hem voor het syphilisonderzoek gevolgde methode aan, ten dienste van het serologisch echinococcenonderzoek. Hij maakt daarbij gebruik van versch serum, voegt in de eerste phase slechts antigeen toe en na den noodigen inwerkingsduur toenemende doses schapenbloedcellen in 5% emulsie.

De appreciatie der verschillende methoden is zeer afwijkend. Alleen aan de positieve uitkomsten der uitvoering volgens Stern is volgens Weinberg (1909) waarde toe te kennen, aangezien onder de sera met negatieve reactie, langs anderen weg, meermalen een voor echinococcose pleitende uitkomst werd verkregen.

De snelle methode volgens Weinberg moet begeleid worden door de noodige contrôles ter bepaling van den haemolytischen index van het serum (die meermalen gering is en soms zelfs afwezig) en de aanwezigheid van anticomplementaire eigenschappen van het serum.

De bezwaren die deze methodiek aankleven, zijn de volgende: Complementarme sera geven onspecifieke binding; wanneer een betrekkelijk geringe hoeveelheid antistoffen gepaard gaat met een groote hoeveelheid complement, dan wordt slechts een deel daarvan gebonden en geeft deze overmaat haemolyse; bij anticomplementaire werking van het serum is de snelle methode onbruikbaar.

Betrouwbaarder resultaten levert de „langzame methode“ van Weinberg, die algemeen toepassing heeft gevonden en waarbij met haemolytisch en anticomplementair vermogen van het serum rekening wordt gehouden. De complementrijkdom van het caviaserum en het haemolytisch vermogen van het patienserum worden in een voorproef bepaald en het ontbrekende bedrag aan haemolytische amboceptoren wordt in de proef aangevuld met haemolytisch konijnenserum.

De modificatie volgens Bauer is, zooals Weinberg en Parvu aangeven, slechts bij 25 % der sera toe te passen, omdat het haemolytisch vermogen daartoe in de overige gevallen tekort schiet. Tenslotte heeft de langzame methode volgens Weinberg ook geen onverdeeld gunstige kritiek verworven, zoodat Blumenthal (1921) die haar te gecompliceerd en niet voldoende betrouwbaar acht, nog kortelings een met de oude methode van Wassermann (voor

luesonderzoek) overeenkomende techniek, daartegenover meende te moeten stellen.

B. Beschrijving van de door mij toegepaste methode.

De zeer uiteenlopende en menigmaal van geringe waardeering getuigende beoordeelingen, die verschillende onderzoekers aan de meest gebruikelijke uitvoering der complementbindingsreactie bij echinococcose hebben gehecht, naast de weinig beemoedigende statistiek, die de methode van Weinberg (procédé lent) in het „Centraal Laboratorium voor de Volksgezondheid“ geleverd had, deden mij besluiten een betere werkwijze op te sporen. Het principe daartoe werd ontleend aan de quantitative Wassermannreactie volgens Wigger Boelens (1914) waarbij het complement, in meetkundige reeks toenemend, de wisselende factor is en waarmee bij het syphilisonderzoek aan genoemd laboratorium zeer gunstige ervaringen zijn verkregen. De praktische en theoretische bezwaren, die tegen deze methode voor de WR. zijn geuit (Kapsenberg 1919), hebben voor de complementbindingsreactie bij echinococcose, geen of zeer ondergeschikt belang, omdat, zooals later zal worden toegelicht, aan de hiermee verkregen indices geen waarde voor de prognose en een ruime beoordeeling voor de diagnose moet worden gehecht. De methodiek, die ik toepaste, is echter geheel afwijkend van die van Wigger Boelens.

De voorproef (ter bepaling der minimale hoeveelheid complement om met het haemolytisch systeem en antigeen, in gebruiksdoses, complete haemolyse te bereiken), die bij W. B. aan de eigenlijke proef voorafgaat, wordt door mij ingeschakeld naast de hoofdproef. Hierdoor wordt de tijd, nodig voor de reactie, aanmerkelijk bekort, de techniek vereenvoudigd, en bestaat bovendien zekerheid, dat deze complementtitreering (de „voorproef“) onder volkomen dezelfde omstandigheden verkeert als de hoofdproef.

Een tweede afwijking van de genoemde methodiek is, dat de complementhoeveelheden niet wisselen volgens meetkundige, maar volgens rekenkundige reeks, waardoor de toename geringer en de titreering dus scherper is.

Zooals later blijken zal, was voor mijn onderzoek meermalen deze scherpe titreering van het antistofgehalte noodig. De keuze van het complement als wisselenden factor, bood hierbij als voordeel, dat de verhouding der specifieke reageerende stoffen (antigeen en antistoffen) gelijk bleef en hier dus werd bepaald in hoeverre de combinatie dezer beiden in staat was, het in alle proeven gelijke element, het complement, te binden. Aangezien voor de bestudeering van antigeen of antistof werden gebruikt, resp. bekende antistoffen en antigenen, kon, door het complement quantitatief te laten wisselen, deze titreeringsmethode steeds in den zelfden vorm worden toegepast, omdat daarbij de te onderzoeken stof de eenige onbekende was.

Als haemolytisch systeem wordt gebezigd gelijke deelen van het gebruikelijke konijnen(antischapenerythrocyten)serum, in een verdunning, overeenkomende met de 8 à 10 voudige minimale dosis, en 5 % emulsie van schapenbloedcellen. Het konijnenserum wordt, na filtratie door een Chamberlandkaars en inactivering, geconserveerd met 0,5 % phenol; het schapenbloed wordt versch, of verduurzaamd met 0,25 % formaline, gebruikt.

Als complement diende steeds caviaserum, dat wegens zijn doorgaans groot alexinegehalte, zijn gemis of groote armoede aan natuurlijke antischapenbloedamboceptoren, en de afwezigheid van anticomplementaire werking, daarvoor als regel gebruikt wordt. Het werd verkregen door halssnede of hartpunctie of uit insnijdingen in het oor, door middel van luchtverdunning in een zuigklok. Herhaaldelyk werden mengsera van verschillende cavia's en af en toe, met verzadigde keukenzoutoplossing geconserveerde sera aangewend.

Het antigeen bestond uit echinococcusvloeistof of waterige, alcoholische of aetherische extracten uit echinococcebestanddeelen.

De te onderzoeken sera werden zoo snel mogelijk door centrifugeeren van den bloedkoek bevrijd en gedurende een half uur bij 56° C. verhit ter inactivering.

Het schema van onderzoek is als volgt, waarbij de getallen in horizontale lijn aangeven de hoeveelheid der stoffen, die in elk buisje worden bijeengevoegd:

	Serum (20%)	Antigeen	Complement 10%	NaCl-solutie 0,85%	Schapenery- throcyten- emulsie 5%
A. Contrôle v/h bloed.	—	—	—	1,75	0,25
B. Contrôle v/h complement.	—	—	0,5	1,25	0,25
Serumcontrôle					
C. I	0,5	—	0,1	0,9	—
II	0,5	—	0,2	0,8	—
III	0,5	—	0,3	0,7	—
IV	0,5	—	0,4	0,6	—
V	0,5	—	0,5	0,5	—
Antigeencontrôle					
D. I	—	0,5	0,1	0,9	—
II	—	0,5	0,2	0,8	—
III	—	0,5	0,3	0,7	—
IV	—	0,5	0,4	0,6	—
V	—	0,5	0,5	0,5	—
Hoofdproef.					
E. I	0,5	0,5	0,1	0,4	—
II	0,5	0,5	0,2	0,3	—
III	0,5	0,5	0,3	0,2	—
IV	0,5	0,5	0,4	0,1	—
V	0,5	0,5	0,5	—	—

Deze 17 buisjes worden gedurende 1 uur bij 37° C. in de broedstoof gelaten. Indien daarna in de buisjes A en B geen haemolyse is opgetreden (contrôle van bloed en complement op eigen haemolytisch vermogen), dan wordt in elk der overige buisjes toegevoegd 0,5 cm³ haemolytisch systeem, dat tegelijk met de proeven, dus gedurende 1 uur, in de broedstoof is geweest, zoodat de bloedcellen door de haemolytische amboceptor gesensibiliseerd zijn voor de daarop volgende complementinwerking. De bijgevoelde buisjes worden weder een half uur bij 37° C. gehouden en daarna, of indien de lysis nog niet is voleindigd na nog 1 uur verblijf bij kamertemperatuur, beoordeeld. Door

vergelijking van de 5 overeenkomstige buisjes in groep E met die in C en D valt onmiddellijk te bepalen hoeveel bindingsvermogen in de hoofdproef wegens eigen complementbindend vermogen van het serum (serum plus complement, dus zonder antigeen) en voor haemolyseremmend vermogen van het antigeen (antigeen plus complement, dus zonder serum) in mindering moet worden gebracht. De hoofdproef E wordt steeds uitgevoerd met verschillende antigenen naast elkaar, terwijl als contrôle een serum van een gezond individu en, zoo mogelijk, ook een van een echinococcendrager tegelijk wordt onderzocht.

Deze opzet kwam mij daarom juist verkieselijk voor, omdat een belangrijk deel van mijn onderzoek tot taak had, na te gaan in welke mate de verschillende sera het vermogen van complementbinding met echinococcusantigeen vertoonden en hoe sterk dat vermogen gebonden was aan verschillende echinococcusantigenen. Daartoe was noodig een mathematische vorm, om de verschillende proeven te kunnen vergelijken. Noemt men in elk buisje:

volkomen remming der haemolyse = 2;
geringe haemolyse = 1,5;
gedeeltelijke haemolyse = 1,
bijna volkomen haemolyse = 0,5 en
volkomen haemolyse = 0,

dan kan men door het remmend vermogen in de 5 buisjes der hoofdproef, waarin in rekenkundige reeks toenemende hoeveelheden complement aanwezig zijn, te summeeren, een indruk krijgen van de complementbindende kracht van het onderzochte serum. Dit getal dient te worden verminderd met de som der op gelijke wijze verkregen waarden van de buisjes in groep C en D. De fout, die theoretisch gesproken kan insluipen, doordat de geringste hoeveelheid ($0,1 \text{ cm}^3$) complement niet in staat zou zijn met het haemolytisch systeem volkomen lysis te doen optreden, waardoor deze remming der haemolyse dubbel zou gelden (in C en in D), kan worden verwaarloosd, aangezien bij meer dan 50 daarop onderzochte caviasera de complementrijkdom voldoende bleek te zijn en geen enkele maal het tegendeel werd waargenomen.

Ter verduidelijking moge hier een voorbeeld volgen:

C.	I	gedeeltelijke haemolyse	= 1	} totaal 1
	II	haemolyse	= 0	
	III	"	= 0	
	IV	"	= 0	
	V	"	= 0	
D.	I	geringe haemolyse	= 1,5	} totaal 2
	II	bijna volkomen haemolyse	= 0,5	
	III	haemolyse	= 0	
	IV	"	= 0	
	V	"	= 0	
E.	I	geen haemolyse	= 2	} totaal 7
	II	" "	= 2	
	III	geringe haemolyse	= 1,5	
	IV	gedeeltelijke haemolyse	= 1	
	V	bijna volk. haemolyse	= 0,5	

De index voor deze serumreactie bedraagt dus $7 - (1 + 2) = 4$.

Men kan tenslotte de reeks in groep E voortzetten door inplaats van met 10 % complement met sterker geconcentreerde complementverduunningen te werken.

IV. Het *Echinococcus*antigeen.

a) De *Echinococcus*vloeistof.

1. Literatuuroverzicht:

De waterige inhoud der echinococcusblaas wordt beschreven als een meestal heldere, soms licht troebele vloeistof, isotonisch met bloedserum (Schilling, 1904), van gering soortelijk gewicht (Weinberg 1,007 — 1,010, Pfeiler 1,010 — 1,013, Rubinstein 1,010 — 1,015). Haar reactie wordt door verschillende onderzoekers als amfoteer, neutraal (Joest, 1921), zwak alcalisch of zuur opgegeven (Pfeiler, 1912). Zij bevat behalve de vaste bestanddeelen (broedkapsels, haken, scolices en membraanstukjes) een ongelijke hoeveelheid organische en anorganische stoffen.

De anorganische zouten, totaal $\pm$ 1,5 %, bestaan voor een belangrijk deel uit natriumchloride (Heinz: 0,385 %, Jakobsen: 0,83 %), verder uit K en Ca-chloriden, -phosphaten, -sulfaten en succinaten. In leverechinococcon werd meermalen glucose en, bij schapen, inosiet gevonden (Mehlhose, 1909). Verder worden, behalve cholesterine en barnsteenzure zouten, ook leucine en tyrosine aangetroffen. De aanwezigheid van toxinen (Weinberg en Ciuca 1913) is na de onderzoeken van Parisot en Simonin (1920) wel als bewezen te beschouwen. Toevallige vondsten als galkleurstoffen in levercysten, typhusagglutininen (Ghedini) bij een patient, die vroeger aan typhus had geleden en syphilitische antistoffen in de echinococcusvloeistof van een man met mesaortitis luetica (Pewny 1921), bewijzen, evenals het soms voorhanden zijn van eiwitten van den gastheer (Graetz) dat er een uitwisseling van stoffen van den gastheer naar den parasiet moet hebben plaats gehad.

Over het voorkomen van eiwitten bestaan uiteenlopende mededeelingen. De afwezigheid daarvan wordt in meerdere leerboeken als een diagnostisch hulpmiddel bij het onderzoek van de punctievloeistof aangegeven. Méhu (1878) toonde reeds aan, dat de normale cystenvloeistof nu en dan sporen eiwit kan bevatten, en Rubinstein (1921) noemt haar weer eiwitvrij of soms zeer kleine hoeveelheden eiwit houdend. Mehlhose (1909) legde een verband tusschen de aanwezigheid van eiwitten en het voorhanden zijn van micro-organismen, waarop Griglio (1906) reeds

had gewezen (42 van 45 cysten waren geïnfecteerd). Het aantal kiemen van zeer uiteenlopenden aard, bedroeg bij 12 vloeistoffen 5 tot 1200 per mm³, terwijl een parallellisme tusschen deze getallen en de afwezigheid of hoeveelheid der eiwitten kon worden genoteerd. Magnussen, Joest en Weinberg (1909) betwijfelen de juistheid dezer gegevens, aangezien zij cystenvloeistoffen vaak langen tijd steriel konden bewaren.

Over de houdbaarheid der echinococcusvloeistoffen is veel geschreven. Ghedini, Brauer, Kreuter, Vas, Lippmann, Urioste en Scaltritti en aanvankelijk ook Weinberg en Parvu (1908) achtten voor de reactie noodig, dat de vloeistof niet ouder dan 1 of 2 dagen zou zijn en Falcoiano beweerde nog in 1912, dat het cystenvocht zeer moeilijk te conserveeren is. Onder steriele voorzorgen in de ijskast bewaard, kon echter zooals later bleek, na enkele maanden nog gebruik worden gemaakt van den blaasinhoud (Weinberg 1909, Graetz). Bij ultrafiltratie door Chamberlandkaarsen (Welsh en Chapman, 1908) boet de vloeistof een deel zijner antigeenwaarde in (Weinberg, Hahn, 1912). Al dan niet onder vloeibare paraffine geconserveerd met 0,5 % phenol waren echinococcenvochten na 4 maanden nog bruikbaar (Apphatie en Lorentz 1909, Puntoni, Braunstein 1910, Pfeiler 1912) hoewel Rubinstein (1921) daarbij vaak anticomplementaire werking zag optreden. Schoo (1910) bedekte de vloeistof met toluol. Uitdrukkelijk waarschuwt Citron (1910) het bodemneerslag, dat bij bewaren ontstaat, niet met de vloeistof mee te nemen.

Tenslotte beschreef Weinberg een methode om in vacuum de cystenvloeistof tot poeder in te dampen en voor het gebruik dit poeder met gedestilleerd water op te lossen.

Omtrent de waarde als antigeen der verschillende Echinococcenvloeistoffen bestaan zeer uiteenlopende opvattingen. Weinberg en Parvu toonden aan, dat de vloeistoffen van schaap, rundpaard, varken en kameel die van den mensch konden vervangen. Alleen het kristalheldere vocht („aspect d'eau de roche caractéristique“) mocht worden gebruikt. Door sommigen wordt waarde gehecht aan het orgaan waarin de cyste gezeteld was, terwijl algemeen de opvatting gehuldigd wordt, dat de diersoort, die tot gastheer diende, van het grootste belang is (Eckenstein 1910). In het bijzonder heeft het schaap zich, dank zij Weinberg's auto-

riteit, in dit opzicht de eerste plaats weten te verzekeren (o. a. Eckenstein, Putzu 1910, Henius, 1911), hoewel Lippmann (1910), Dobrotine (1910) e. a. minder gunstig daarover oordeelen. Graetz (1910) roemt als specifiek antigeen de vloeistof van varkens. Weinberg en Vieillard kregen met cystenvocht van den dromedaris even gunstige uitkomsten als met die van het schaap. Ook over de waarde van de vloeistof uit menschencysten bestaan zeer uiteenlopende meeningen (Ghedini 1906, Dobrotine 1910, Silber en Chmelnitzky 1913), terwijl hierbij vaak anticomplementaire werking wordt beschreven. Dezelfde elkaar tegensprekende waardeeringen gelden voor echinococcenvloeistoffen uit runderen, die als zeer goed bruikbaar worden geprezen (Israel 1910, Vas 1911, Silber en Chmelnitzky 1913) of als zwak of geheel onbruikbaar verworpen (Dobrotine 1910, Falcoiano 1912).

Israel (1910) meent dat een niet te sterk gehalte aan scolices de bruikbaarheid der vloeistof niet opheft; Weinberg (1909), Apphatie en Lorentz (1909) gaven hieraan zelfs de voorkeur en Jahn (1920) voegt hieraan toe, dat een groot gehalte aan eiwit voor de antigeenwaarde van belang zou zijn.

Met het alcoholisch extract van de echinococcusvloeistof kregen Parvu en Kreuter (1909) zeer gunstige, Weinberg, Paiseau en Tixier (1909) onbetrouwbare uitkomsten. Jianu (1909) Urioste en Scaltritti (1911), Rist, Kindberg, Parvu en Falcoiano (1912) konden het aetherisch extract als antigeen gebruiken. (De laatste vond bij 25 rundersera met echinococcus vloeistof als antigeen slechts 2, met het aetherisch extract daaruit 20 positieve reacties. Er zijn hier echter geen contrôlesera onderzocht, zoodat de juistheid dezer getallen mij niet zonder meer aannemelijk lijkt.) Meier (1910) geeft aan, dat de werkzame bestanddeelen bovendien in chloroform en benzol overgaan.

De waarde van de antigeenwerking, die Graetz (1910) naar aanleiding zijner proeven bij konijnen, aan de eiwitafbraakproducten, leucine en tyrosine meende te moeten hechten, is door latere onderzoekingen gebleken van geen of gering belang te zijn (Weinberg en Bronfenbrenner 1910, Jahn 1920).

De antigeenwaarde der verschillende echinococcenvloeistoffen is zeer afwijkend (Thomsen en Magnussen) en wisselt volgens Weinberg tusschen 1 en 20, d. w. z. bij 20-voudige verdunning zijn enkele dezer nog in staat als antigeen te worden aange-

wend. Duhot (1919) vond de grootste antigeenwaarde bij het varken, terwijl de vloeistof uit cysten van het schaap de helft en uit die van den mensch slechts het tiende deel aan antigeeneenheden bezat.

2. Eigen onderzoek.

Van de 62 door mij onderzochte echinococcusvloeistoffen waren afkomstig uit

het paard 36, waarvan 34 fertiel en 2 steriel,
het rund 21, waarvan 5 fertiel en 16 steriel,
het varken 2, waarvan 1 fertiel en 1 steriel,

het schaap 1 fertiele en van den mensch 2, die beide fertiel waren. Een der blazen van het paard was multiloculair.

De vloeistoffen der slachtdieren werden verkregen, door, zoo snel mogelijk na slachting der dieren, den buitenwand van de blaas met alcohol te reinigen en, door middel van een recordspuit, den inhoud op te zuigen, die door filtreerpapier van haar vaste bestanddeelen werd bevrijd.

De reactie van alle 47 daarop onderzochte cystenvloeistoffen was alcalisch ten opzichte van lakmoes, in 12 gevallen sterk alcalisch, geen enkele maal zuur. De invloed van den dood van den gastheer kan weinig of geen invloed op de reactie hebben uitgeoefend, omdat bijna in alle gevallen zeer versch materiaal werd onderzocht, dat, wat de twee vloeistoffen van den mensch betreft, door punctie was verkregen.

Van deze 47 vloeistoffen vertoonden 36 een min of meer sterke eiwitkookproef (tot 0,03⁰/₀₀ eiwit) de overige 11 gaven een positieve reactie met het zeer gevoelige Spiegler-reagens (tot 0,002⁰/₀₀ eiwit); dus alle onderzochte echinococcusvloeistoffen waren eiwithoudend. Dit wijkt af van de gangbare meening en vindt zijn verklaring in het feit, dat men geen gevoeliger reactie heeft beproefd dan de kookproef.

Bij 31, uit fertiele blazen afkomstige, vloeistoffen was de kookproef 26 maal positief, bij 16 uit steriele cysten 10 maal. Het eiwitgehalte van een dezer laatste (afkomstig van het rund) bepaald door koken, filtreren, drogen en wegen, bedroeg 0,61 gram per liter. Een verband tusschen het eiwitgehalte en het bezit

van broedkapsels bestond dus niet. De steriele vloeistoffen waren zonder uitzondering waterhelder, de fertiele hadden geringe opalescentie tot sterke troebeling. Er bestond geen verband tusschen de helderheid en het eiwitgehalte. In den inhoud uit leverblazen werd herhaaldelijk geelkleuring door galkleurstoffen waargenomen.

Bij 17 vloeistoffen, waarvan 12 van het paard, 4 van het rund en 1 van den mensch afkomstig waren, werd, in navolging van Graetz, met inachtneming der noodige contrôleproeven, getracht door middel van de ringreactie met praecipiteerende sera, eiwitten van den gastheer aan te toonen. (De titer van het antipaardeneiwitserum bedroeg 1:5000, die van het rundereiwit-praecipiteerende serum 1:10000 en die van het antimenschenserum 1:1000.) Het gelukte in alle 4 echinococcusvloeistoffen van het rund gastheereiwitten te vinden, bij de van het paard stammende vloeistoffen slaagde dit 6 maal, bij die van den mensch kon geen menscheiwit worden aangetoond. — Het ligt voor de hand aan te nemen, dat hierbij het verschil in titer der praecipiteerende sera een rol speelt en dat de uitkomsten, bij sterker activiteit daarvan, gunstiger voor de van paard en mensch stammende vochten zou zijn geweest.

Een verband tusschen de aanwezigheid van eiwitten in de echinococcusvloeistof en het voorkomen van microorganismen daarin, liet zich niet vaststellen. Van 24 cysten werden, onder steriele voorzorgen door middel van een Pasteursche pipet, eenige druppels vloeistof gebracht op 2 agarplaten en in buisjes bouillon en druivensuikerbouillon, terwijl ook een deel der vloeistof zelf in een steriele buis daarbij gedurende 48 uur in de broedstoof van 37° werd geplaatst.

Twee vloeistoffen met negatieve kookproef, maar positieve Spieglerische reactie waren vrij van micro-organismen. Van de overige 22 vloeistoffen, alle met positieve kookproef, gaven 19 op geen der cultuurmedia groei te zien, terwijl bij één staphylococcen werden gevonden, bij een andere fijne Gram-positieve diplococcen en bij de derde een grof sporenvormend staafje. Zeer waarschijnlijk was hier met een toevallige verontreiniging te doen.

Uit deze proeven is overtuigend gebleken, dat het eiwitgehalte der echinococcusvloeistoffen niet afhankelijk is van de aanwezigheid van micro-organismen en dat deze daarin slechts zelden kunnen worden aangetroffen, hetgeen, in verband met de impermeabiliteit van de intacte cuticulaire membraan voor micro-organismen (Chauffard en Widal), ook allerm minst waarschijnlijk is te noemen.

Ter onderlinge vergelijking der verschillende echinococcusvloeistoffen, wat hun bruikbaarheid als antigeen voor de complementbindingsreactie betreft, heb ik deze vloeistoffen uitgetitreerd met hetzelfde serum (met complementbindingsindex > 10), afkomstig van een mensch, lijdende aan echinococcose. Daartoe werden gebruikt 0,5 cm³ patientenserum 1:10 verdund, 0,5 cm³ complement in 5 % verdunning en 0,5 cm³ van de te onderzoeken cystenvloeistoffen, onverdund en in verdunningen van 50; 25; 20; 15; 10; 5; 2,5; 1; 0,5 en 0,25 %. Na 1 uur verblijf bij 37° C. werd 0,5 cm³ haemolytisch systeem toegevoegd; 1 uur daarna werd de proef uit de broedstoof verwijderd en beoordeeld, terwijl 20 uur later nogmaals de uitslag werd afgelezen. Een serumcontrole, waarbij het antigeen door physiologische NaCl solutie was vervangen, een complementcontrole, die alleen de in de proef gebruikte hoeveelheid complement en het haemolytisch systeem bevatte en een reeks van antigeencontroles, waarin slechts de antigeenverdunningen, het complement en het haemolytisch systeem aanwezig waren, begeleidden de proef.

De antigeenwaarde van een echinococcusvloeistof is die verdunningsgraad, waarbij deze vloeistof nog volkomen remming der haemolyse vertoonde, terwijl grootere verdunning daartoe niet meer in staat was. Hierbij moet worden bedacht, dat de onderzochte vloeistoffen bijna alle waren geconserveerd, dus verdund met 0,1 van hun volumen phenol 5 %, zoodat de gevonden getallen geenszins geflatteerd zijn.

nr.	Diersoort	Orgaan	Bewaard gedurende	Eiwit			Verduunings- graad der vloeistof. (Antigeen- waarde)
				Kook- proef	Spieg- ler's reactie		
I	paard	lever	2 mnd.	+		fertiel	1 % (100)
II	"	"	9 mnd.	+		"	2,5 % (40)
III	"	"	7 mnd.	+		"	0,5 % (200)
IV	"	"	9 mnd.	—	+	"	1 % (100)
V	"	"	1 mnd.	+		"	2,5 % (40)
VI	"	"	8 mnd.	+		"	1 % (100)
VII	"	"	6 mnd.	+		"	0,5 % (200)
VIII	"	"	18 mnd.	—	+	"	0,5 % (200)
IX	"	"	1 week	+		"	2,5 % (40)
	idem, ged. 1/2 uur verhit op 100° C, daarna gefiltreerd						2,5 % (40)
X	paard	lever	7 mnd.	—	+	steriel	10 % (10)
XI	rund	long	2 mnd.	+		"	75 % (1 1/2)
XII	"	"	6 mnd.	—	+	"	50 % (2)
XIII	"	"	7 mnd.	++		"	100 % (1)
XIV	"	"	3 mnd.	—	+	"	100 % (1)
	idem, na opschudden van het bodemneerslag						100 % (1)
	idem	lever		—	+	"	100 % (1)
XV	rund	long	2 mnd.	+		"	25 % (4)
	idem	"	2 mnd.	+		fertiel	0,5 % (200)
XVI	"	"	6 mnd.	—	+	"	2,5 % (40)
XVII	"	"	10 mnd.	—	+	"	1 % (100)
XVIII	varken	lever	4 mnd.	—	+ zwak	"	0,5 % (200)
XIX	"	"	14 mnd.	+		steriel	15 % (6 2/3)
XX	mensch	"	3 mnd.	+		fertiel	5 % (20)
	idem, inhoud uit de dochterblazen						5 % (20)
XXI	schaap	"	21 mnd.	+		"	2,5 % (40)
	idem, gedurende 1/2 uur verhit op 100° C, daarna gefiltr.						2,5 % (40)
XXII	paard	lever	versch.	+		"	0,5 % (200)
	idem, ged. 1 uur verhit op 100° C, daarna gefiltreerd						0,5 % (200)
XXIII	paard	lever	1 week	+		"	0,5 % (200)
	idem, ged. 1/2 uur afgekoeld op — 17,5° C.						0,5 % (200)
XXIV	paard	lever	3 weken	+		"	0,5 % (200)
	idem		9 mnd.				0,5 % (200)
	idem gefiltreerd door Chamberlandkaars — —						— (0)

Uit dit onderzoek is het volgende gebleken:

De antigeenwaarde is, zooals mij trouwens reeds lang uit de practische onderzoekingen bekend was, (Jaarverslag van het Centr.-Lab. voor de Volksgezondheid, 1920), bij vloeistoffen uit fertiele echinococcusblazen veel grooter (20 — 200) dan bij die

uit steriele (1 — 10). Alle overige omstandigheden, die in de literatuur aangegeven zijn om het verschillend antigeenvermogen der vloeistoffen te verklaren, zijn van geen of zeer ondergeschikt belang. Het orgaan, dat de cyste herbergde is al evenmin van invloed op de antigeenwaarde van de vloeistof, als de gastheer (een fertiele cystevloeistof van rund XV bezat een antigeenwaarde van 200, terwijl een steriele van denzelfden hospes en uit het zelfde orgaan, slechts een antigeenvermogen van 4 bezat). Ook de hoeveelheid eiwitten in de vloeistof heeft geen invloed op haar antigeengehalte. Door de vloeistof gedurende $\frac{1}{2}$ à 1 uur op 100° C. te verhitten en na afkoeling door filtratie op te klaren, ondervond de antigeenwaarde niet de minste verandering (IX, XXI, XXII); het antigeen is dus bestand tegen deze hoge temperatuur. Hetzelfde geldt voor afkoeling van de vloeistof tot $-17,5^{\circ}$ C., hetgeen bereikt werd door een daarmee gevulde reageerbuis te plaatsen in een koudmakend mengsel van gestampt ijs en keukenzout.

Er bestond hetzelfde antigeenvermogen in de heldere gecentrifugeerde vloeistof, als in het troebele vocht, dat zoowel deze vloeistof als het bodembezinksel bevatte (XIV). Het voorschrift van Citron om uitsluitend de heldere bovenstaande vloeistof te gebruiken, is dus niet gerechtvaardigd. Nadeelige invloeden van het bodemneerslag heb ik overigens ook nooit waargenomen.

De proeven van Welsh en Chapman, dat de echinococcusvloeistoffen hun antigeen bij ultrafiltratie inboeten, konden worden bevestigd (XXIV), maar bovendien kon worden vastgesteld, dat door deze bewerking haar eiwitten verloren gingen.

De inhoud uit dochterblazen had hetzelfde complementbindend vermogen met echinococcusantistoffen, als dat uit de bijbehorende moederblaas (XX).

Lang bewaarde vloeistoffen bevatten nog hoge antigeenwaarde; na ruim 8 maanden was geen vermindering te bespeuren (XXIV). Hierbij is gebleken, dat toevoeging van het tiende deel 5 % phenol een zeer goede conserveeringsmethode is.

Waar vaststaat dat verhitting op 100° C. het antigeenvermogen van de echinococcusvloeistof onaangetast laat, kan ik als gemakkelijk uitvoerbare en doelmatige wijze van verduurzaming aanbevelen, de vloeistof gedurende een half uur te plaatsen in een waterbad op 100° C. Eenige maanden na deze behandeling bleken een

tweetal echinoc. vloeistoffen nog hetzelfde antigeenvermogen te bezitten als tevoren. Ook met andere aldus geconserveerde cystenvloeistoffen werd steeds gunstig resultaat verkregen bij de complementbindingsreactie.

Uitgaande van het feit, dat, behalve eiwitten van den gastheer, ook eiwitten van den parasiet zelf in de echinococcusvloeistoffen aanwezig zijn, heb ik getracht de antigeenwerking dezer vloeistoffen te bestudeeren, nadat daaruit de eiwitten van den hospes geëlimineerd waren. Hiertoe werd bij de vloeistof druppelsgewijs het homologe, praecipiteerende konijnenserum gevoegd en telkens, na 1 uur inwerken bij 37° C, filtratie en centrifugeeren, door middel van de ringproef bepaald of nog gastheereiwitten waren aan te toonen. Wanneer de ringproef niet meer gelukte, werden nog enkele druppels serum toegevoegd, en de bewerking ten laatsten male herhaald. Practisch gesproken werden langs dezen weg alleen de eiwitten van den gastheer uit de vloeistof verwijderd, zonder dat de andere eiwitten waren aangetast. Een nadeel bestond hierin, dat een belangrijk deel van het gebruikte konijnenserum in de behandelde cystenvloeistof achterbleef en dat hierdoor bij 2 proeven een zoodanige binding van het complement, door deze vloeistoffen alleen reeds, werd veroorzaakt, dat het resultaat niet afleesbaar was. Met twee sera, afkomstig van paarden met echinococcosis, werd een complementbindingsindex > 10 bereikt, zoowel met de onaangetaste echinococcusvloeistof, als met dezelfde vloeistof, waaruit de eiwitten van den gastheer waren verwijderd. Hieruit mocht met groote kans van waarschijnlijkheid besloten worden, dat de eiwitten van den gastheer van geen belang zijn voor de antigeenwaarde van de vloeistof.

Om nu de waarde te kunnen bestudeeren, die aan de overige eiwitten, welke in de echinococcusvloeistoffen voorkomen, als dragers van het antigeen, moet worden toegekend, heb ik getracht, het gedrag dezer vloeistoffen na te gaan, nadat daaraan, zonder sterk ingrijpende physische of chemische bewerkingen, alle eiwitten waren onttrokken. Wel pleitte de waarneming, dat verhitting op 100° C. het antigeenvermogen der echinococcusvloeistof niet verminderde, ervoor, dat de eiwitten van geen belang voor het antigeen, zijn, maar toch leek het mij nuttig, de vloeistof te bestudeeren, nadat deze op andere, minder ruwe wijze eiwitvrij was gemaakt.

Hiertoe leende zich het uitschudden der vloeistof met fijn verpoederde kaoline (Abderhalden I.). De vloeistof werd, al dan niet tevoren met azijnzuur aangezuurd (en in dat geval, na de bewerking, weer tot den oorspronkelijken alcaliciteitsgraad teruggebracht met NaOH), flink geschud met het poeder, dat in kleine porties werd toegevoegd en daarna door een dubbel papierfilter eenige keeren gefiltreerd. Door deze bewerking werd het vocht volkomen helder en beroofd van alle eiwit (Spieglersche reactie negatief). Het haemolytisch of complementbindend vermogen, dat verschillende soorten kaoline kunnen bezitten (Friedberger en Saalecker, Fr. en Kumagai, Fr. en Putter) kon niet worden aangetoond in contrôleproeven, waarbij physiologische NaCl solutie dezelfde bewerking als de cystenvloeistof had ondergaan. De sporen kaoline, die wellicht nog het filter hadden kunnen passeeren, bleken hierdoor dus zonder invloed te zijn.

Leucine en tyrosine werden niet door de kaoline geadsorbeerd. Deze stoffen waren zoowel in kristalvorm waar te nemen in het ingedampte filtraat der met kaoline geschudde echinococcusvloeistoffen, als in met deze eiwitfragmenten verzadigde keukenzoutoplossing, die op dezelfde wijze was behandeld. Cholesterine daarentegen werd waarschijnlijk tendeele vastgehouden; in de ingedampte geschudde vloeistoffen waren minder kristallen te vinden dan in de niet met kaoline behandelde.

Bij twee echinococcusvloeistoffen, waarvan één een antigeenwaarde van 40, de andere een van 200 bezat, bedroegen deze, nadat de vloeistoffen door middel van kaoline eiwitvrij waren gemaakt, nul.

Van 12 aldus behandelde vloeistoffen werd de complementbindingsindex vergeleken met die der onbewerkte vloeistoffen, ten opzichte van sera van dieren en menschen met echinococcose, contrôlesera en sera van luetici (zooals later blijken zal geeft deze laatste groep een onspecifieke complementbindingsreactie met echinococcusantigeen). Uit dit onderzoek (zie tabel) bleek eveneens duidelijk, dat door de kaoline het antigeen practisch geheel uit de echinococcusvloeistoffen was weggenomen. Het lag voor de hand een verband te zoeken tusschen dit gelijktijdig verdwijnen van het antigeen en het eiwit, zooals dat ook bij de filtratie door de Chamberlandkaars reeds werd waargenomen en daaruit te

besluiten, dat deze nauw aan elkaar verbonden waren, hoewel daartegenover stond, dat de vloeistof, die door verhitting op 100° C. eiwitvrij was gemaakt, hoegenaamd geen antigeenverlies had geleden.

Dier	Ziekte	Complem. bindingsindex met Echinococcus-vloeistof	Index van de compl. b. reactie met de met kaoline bewerkte vloeistof.
paard	echinococcose	7,5	1,5
"	"	2	0
"	"	> 10	1,5
"	"	> 10	1
"	"	7,5	0,5
rund	"	3,5	0
"	"	8,5	0,5
paard	geen	2,5	0
rund	"	0,5	0
schaap	"	2	0
mensch	echinococcose	8,5	0,5
"	"	> 10	1,5
"	"	10	1
"	"	> 10	0
"	"	> 10	0,5
"	"	> 10	2,5
"	"	> 10	0
"	"	> 10	0
"	"	> 10	0
"	waarschijnl. echin.	7,5	1,5
"	?	2	0
"	geen	0	0
"	carcinoma	1	0,5
"	syphilis (WR + 10)	4	0,5
"	" (" + 10)	> 10	2
"	" (" + > 6)	6	1,5
"	" (" + > 6)	1	0 (Het serum had sterke haemolytische eigenschap).
"	" (" + 10)	7,5	3
"	" (" + 6)	10	3,5
"	" (" + 5)	5	2,5
"	" (" + 10)	5	1,5
"	" (" + 6)	4	0,5
"	" (" + 5)	1,5	0

De hier volgende onderzoeken toonden overigens het ontbreken van dit verband aan. Wanneer nl. voor de onteiwitting in plaats van kaoline gebruik werd gemaakt van een suspensie van ijzerhydroxyde of van colloidaal opgelost ijzerhydroxyde (sol), zoodat eveneens de Spiegler'sche reactie negatief uitviel, dan behielden de echinococcusvloeistoffen, evenals na koken, ondanks hun eiwitberooving, volkomen hun antigeeneigenschappen.

Dier	Ziekte	Compl. b. index met echin. vl. st. (kookproef +)	Idem, behandeld met kaoline (Spiegler negat.)	Idem, behandeld m. colloidaal $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (Spiegler neg.)	Idem, behandeld met $\text{Fe}(\text{OH})_3$ susp. (Spiegler negatief)
paard	echinoc.	> 10	1,5	> 10	
"	"	7,5	0,5	6,5	6
"	"	> 10	1	> 10	> 10
schaap	geen	2	0	2	1,5
mensch	echinoc.	10	1	6,5	
"	"	> 10	0	10	> 10
"	"	> 10	0	> 10	
"	"	> 10	0,5	> 10	> 10
"	syphilis	10	3,5	8,5	9

(De ietwat lagere indices, die in sommige gevallen werden verkregen, kunnen verklaard worden door de verdunning, die de vloeistoffen tengevolge van de bewerking ondergingen).

Met deze gegevens leek het waarschijnlijk, dat door de kaoline, evenals in de Chamberlandkaars niet alleen het eiwit uit de vloeistoffen werd weggenomen, maar tevens het antigeen, dat van anderen aard is. Deze onderstelling vond steun door de waarneming dat, wanneer ik het schudden der echinococcusvloeistoffen met $\text{Fe}(\text{OH})_3$ suspensie nog eenigen tijd volhield, nadat alle eiwit er reeds aan was onttrokken (Spiegler negatief), de antigeenwaarde dezer vloeistoffen sterk verminderde, dus tenslotte ook antigeen werd weggenomen.

De antigeenwaarde van een echinococcusvloeistof, die vóór de bewerking 200 bedroeg, was na schudden met $\text{Fe}(\text{OH})_3$ suspensie = 100 (verdunning door bijvoeging van de suspensie: 25 %), terwijl de eiwitreactie (Spiegler) negatief uitviel. Door deze eiwitvrije, maar antigeenhoudende vloeistof te schudden met kaoline werd ook het antigeen daaruit totaal onttrokken (antigeenwaarde = 0).

De proef op de som werd gegeven toen inderdaad bleek, dat het antigeen door middel van alcoholextractie was terug te winnen uit het gedroogde kaolineresidu, dat op het filter na de behandeling der cystenvloeistoffen, was achtergebleven. In dit alcoholisch extract was geen sprake van de aanwezigheid van eiwitten. Hiertoe werd gebruikt absolute alcohol in een hoeveelheid, overeenkomende met het vijfde deel der bewerkte vloeistof; voor de complementbindingsproef werd dit alcoholisch extract weer 5 maal verdund met physiologisch water. De uitkomst dezer proeven is vastgelegd in de volgende tabel:

Dier	Ziekte	Compl. b. Index met echin vl. st.	Idem behandeld met kaoline.	Compl. b index m/h alcohol. extr. der gebruikte kaoline.
paard	Echinoc.	> 10	1	> 10
"	"	7,5	0,5	7
mensch	"	> 10	0	> 10
"	"	> 10	0,5	8
"	"	> 10	0	5,5
"	"	3	0	0

De contrôleproeven met alcoholisch extract van ongebruikte kaoline verliepen negatief.

Een echinococcenserum, dat met de cystenvloeistof een complementbindingsindex > 10 , met dezelfde met kaoline behandelde vloeistof een index 0 en met de met $\text{Fe}(\text{OH})_3$ geschudde vloeistof (Spiegler negatief) een index > 10 had gegeven, vertoonde met het alcoholisch extract van de op het filter achtergebleven ijzerhydroxyde een index 1. Toen daarentegen de bewerking met de ijzerhydroxydesuspensie nog langeren tijd werd voortgezet, bereikte de complementbinding van hetzelfde serum met de langeren tijd behandelde vloeistof, slechts een index 4,5, terwijl die van het extract 8 bedroeg.

Uit al deze waarnemingen blijkt, dat de kaoline, evenals de Chamberlandkaars in staat was zoowel eiwit als antigeen gelijktijdig te absorbeeren, terwijl de suspensie van ijzerhydroxyde moeilijker het antigeen dan de eiwitten aan de vloeistof onttrekken kon.

Zooals reeds bekend was, is het aan de echinococcusvloeistof onttrokken antigeen oplosbaar in alcohol en aether.

Het alcoholisch extract verkreeg ik door de vloeistof

door middel van de waterstraalluchtpomp in vacuo (3 cm kwikdruk) bij 40° C. in te dampen en daarna in den exsiccator geheel van vloeistof te bevrijden, waarna aan het aldus verkregen poeder, alcohol absolutus werd toegevoegd in een dosis, gelijk aan $\frac{1}{5}$ deel van het oorspronkelijk volumen der cystenvloeistof. Voor de complementbindingsproef werd dit extract, na minstens 48 uur, weer 5 maal verdund met physiologisch water.

Ter verkrijging van de in aether oplosbare bestanddeelen van de cystenvloeistof, werd deze herhaaldelijk met aether uitgeschud en gecentrifugeerd. De aether werd afgezogen, verdampt bij 37° C. en de tegen de wanden aangeslagen bestanddeelen opgelost in physiologische keukenzoutoplossing.

Twee sera van menschen, lijdende aan echinococcosis hepatis gaven respectievelijk met de oorspronkelijke vloeistof, met het alcoholisch — en met het aetherisch extract daaruit de volgende complementbindingsindices: > 10 ; 6,5; > 6 en > 10 ; 7 en 7,5. Het antigeen was dus, zoo niet geheel, dan toch voor een belangrijk deel overgegaan in den alcohol en den aether.

Leucine, tyrosine en cholesterine, afzonderlijk of gecombineerd, vertoonden niet het minste complementbindend vermogen met drie echinococcensera, die met echinococcusvloeistof een index > 10 bereikten. Deze stoffen bezaten dus niet de eigenschappen van antigeen.

Tenslotte heb ik het gedrag bestudeerd van, door ultrafiltratie en door kaolinebehandeling eiwitvrijgemaakte cystenvloeistoffen, die daarna verzadigd werden met cholesterine, leucine en tyrosine, afzonderlijk of in combinatie. Dertien sera werden onderzocht met het met cholesterine verzadigde vloeistoffenfragment, 4 met de overige stoffen. Met geen dezer vochten werd een complementbindingsindex verkregen, hooger dan die welke bereikt werd met de met kaoline geschudde cystenvloeistof. —

Zooals in een later hoofdstuk nader zal worden besproken, is mij gebleken, dat, in tegenstelling met de geldende opvatting, die deze eigenschap alleen toeschrijft aan de alcoholische extracten van de vloeistof en den wand, sera van menschen, lijdend aan syphilis, in het algemeen ook complementbinding geven met echinococcusvloeistof als zoodanig. Dezelfde verschillen, die bestaan tusschen de vloeistoffen uit fertiele en steriele blazen ten opzichte van het reactievermogen met sera van echinococcendragers, gelden ook

voor de sera van luetici. Bij 10 sterk Wassermannpositieve sera bedroegen de complementbindingsindices met echinococcenvloeistoffen uit fertiele en steriele blazen respectievelijk 4 en 1; 3 en 0,5; 10 en 3,5; 5 en 0,5; 5 en 1; > 10 en 5,5; 6 en 2,5; 7,5 en 3; 3,5 en 1,5; > 10 en 4.

Om te bestudeeren in hoeverre de vloeistof uit fertiele cysten, als antigeen vergelijkbaar is met de gebruikelijke, maar voor lues evenmin specifieke antigenen, welke bij de Wassermannreactie dienst doen, heb ik bij 84 menschersera deze reactie verricht met 3 Wassermannantigenen (alcoholische extracten van menschenhart, van caviahart en van een mengsel van menschenhart, runderhart en runderlever) en daarnaast met de vloeistof uit een fertiele echinococcusblaas uit de lever van een paard (op de helft verdund met physiologisch water).

De resultaten van dit onderzoek zijn in onderstaande tabel opgeteekend:

WR met Wassermannantigeen				WR met echinococcusvloeistof			
I	"	"	+	"	"	+	39 maal
II	"	"	—	"	"	—	36 "
III	}	"	+	"	"	—	3 "
			(Reactie v. Sachs en Georgi +)	"	"	"	
IV	}	"	—	"	"	+	6 "
			(Reactie v. Sachs en Georgi —)	"	"	"	

(Opmerkelijk is, dat 2 sera uit de laatste groep (IV) stamden van patienten, die vroeger een positieve Wassermannreactie hadden bezeten).

Zeër duidelijk spreekt uit deze getallen, dat de echinococcusvloeistof uit fertiele blazen stoffen bevat, die in staat zijn met sera van lijders aan syphilis dezelfde reactie te geven als de gebruikelijke Wassermannantigenen. De onderstelling, dat deze vloeistof stoffen bevat, die met de genoemde Wassermannextracten tot dezelfde physisch-chemische groep behooren, komt mij, in het licht van de moderne opvattingen omtrent het wezen van de Wassermannreactie, niet als gewaagd voor. Hieruit mocht dan besloten worden, dat in de echinococcusvloeistof zich lipoiden

bevinden, die met sera van luetici tot complementbinding in staat zijn. Bedenken wij daarbij, dat er een sterk sprekende overeenkomst bestaat tusschen het verschil in waarde, die vloeistoffen uit fertiele en uit steriele echinococcusblazen bezitten voor de complementbindingsreactie met sera van echinococcendragers en van luetici, dan wordt de waarschijnlijkheid groot, dat het echinococcusantigeen en het bestanddeel der vloeistof, dat de Wassermannreactie met sera van luetici positief doet uitvallen, dezelfde zijn. Wordt bovendien in het oog gehouden dat, zooals hiervoor gebleken is, aan de eiwitten zoomin als aan hun afbraakproducten de rol van antigeen mag worden toegeschreven, dat een verhitting tot 100° C. het antigeen niet vernielt en dat dit oplosbaar is in alcohol en in aether (en volgens Meier ook in chloroform en benzol), dan lijkt mij gegrond hieruit te mogen besluiten, dat het in de echinococcusvloeistof aanwezige complementbindend antigeen, behoort tot de groep der lipoiden.

Onmiddellijk dient hierbij in aanmerking te worden genomen, dat, waar dit lipoide of mengsel van lipoiden niet nader bekend is, de mogelijkheid openblijft, dat niet aan deze stof of stoffen zelf de rol van antigeen toekomt, maar aan een onbekende, daaraan gebonden substantie, die niet de lipoide natuur behoeft te bezitten. Onder inachtneming van dit voorbehoud, wordt in het vervolg toch kortweg van lipoiden gesproken.

Bovenvermelde conclusie vindt tenslotte nog steun in de onderzoekingen welke in het volgend hoofdstuk worden besproken en in de volgende chemische en biologische proeven.

Het alcoholisch extract van de echinococcusvloeistof werd in vacuo (3 cm kwikdruk) bij 40° C. uitgedampt. Het beslag tegen den kolfwand, opgelost in zooveel water als de verwijderde hoeveelheid alcohol bedroeg, gaf met het serum van een echinococcusdrager (mensch) een complementbindingsreactie > 10 . Door centrifugeeren was de waterige emulsie te scheiden in een tamelijk heldere vloeistoflaag en een gering wit bezinksel. Beide deelen, gekookt met loog, ontwikkelden, onder sterk schuimen, een zeepachtigen geur, terwijl, door middel van kopersulfaat, afgesplitste glycerine kon worden aangetoond (Wagenaar).

Hetzelfde kon worden waargenomen met de waterige emulsie van het ingedampte alcoholische extract uit de lamellaire wandlaag der echinococcusblaas. — Zoowel in de vloeistof als in den wand was dus een vetachtige stof aanwezig.

Mocht uit deze onderzoekingen de conclusie worden getrokken, dat, met inachtneming der bovengenoemde overweging, de stof, die bij de complementbindingsreactie de rol van antigeen vervult, het karakter van een lipoide bezit, dat inderdaad dit lipoide als antigeen in staat is antistoffen in het dierlijk organisme op te wekken (Detré, Deutsch), moest nog worden waargemaakt.

Het konijn bleek voor deze proeven niet bruikbaar te zijn, omdat, 6, tevoren onderzochte konijnsera reeds een sterke spontane complementbindingsreactie vertoonden met echinococcusvloeistof. (Waarschijnlijk tengevolge van de aanwezigheid van cysticercus pisiformis. Zie pag. 74.)

Zes beproefde cavia's gaven daarentegen geen spoor van binding. Met drie dezer cavia's werden de volgende immuniteitsproeven verricht.

Cavia 1. (Complementbindingsreactie met de Echinococcusvloeistof negatief.)

Geïnjecteerde vloeistof:

Uitgegaan van 25 cm³ vloeistof uit een fertiele echinococcusblaas van het paard. Ingedampt bij 4 cm kwikdruk en 40° C. en daarna tot poeder uitgedroogd in den exsiccator. Dit poeder opgelost in 10 cm³ alcohol absolutus. De alcohol (bij 40° C. en 2 cm kwikdruk) verdreven. Het aldus verkregen poeder opgenomen in 10 cm³ physiologische NaCl solutie.

Dit product was eiwitvrij en gaf de bovenbeschreven chemische reacties.

Injecties:

1° dag intraperitoneaal 2 cm³ van deze vloeistof.

2° dag intraperitoneaal 2 cm³ van deze vloeistof.

3° dag intraperitoneaal 2 cm³ van deze vloeistof.

Serumonderzoek:

Na 20 dagen gaf het serum van deze cavia met de ingespoten vloeistof en ook met de echinococcusvloeistof als zoodanig een compl. b. index > 10.

Cavia 2. (Complementbindingsreactie met echinococcusvloeistof, met alcoholisch wandextract (1+4 physiol. NaCl sol.) en met de hieruit bereide injectievloeistof negatief.)

Geïnjecteerde vloeistof:

100 cm³ alcoholisch extract van den parasitair wand eener echinococcusblaas, ingedampt bij 10 cm kwikdruk en 40° C. tot poeder. Dit poeder opgelost in 50 cm³ physiologische NaCl-solutie, tot een licht troebele, eiwitvrije emulsie, met bovengenoemde eigenschappen.

Injecties:

- 1^e dag intraperitoneaal 2 cm³ van deze vloeistof.
- 2^e dag intraperitoneaal 2 cm³ van deze vloeistof.
- 3^e dag intraperitoneaal 2 cm³ van deze vloeistof.
- 15^e dag intraperitoneaal 2 cm³ van deze vloeistof.

Serumonderzoekingen:

Het serum van deze cavia gaf na 8 dagen met echinococcusvloeistof, alcoholisch wandextract (1+4 physiologische NaCl-solutie) en met de hieruit bereide injectievloeistof de complementbindingsindex 2.

Na 25 dagen (nogmaals ingespoten 10 dagen tevoren) respectievelijk de indices 8,5; > 10 en 6.

Cavia 3. (Compl. bindingsreactie met dezelfde 3 vloeistoffen als bij cavia 2, negatief).

Geïnjecteerde stof:

De door langdurig centrifugeeren verkregen neerslag uit 10 cm³ injectievloeistof van de vorige proef, opgenomen in 2 cm³ physiol. keukenzoutoplossing.

Injecties: Dezelfde opeenvolgende inspuitingen als bij cavia 2.

Serumonderzoekingen:

Na 8 dagen de indices 1,5; 0,5 en 1,5.

Na 25 dagen de indices 1,5; 2,5 en 3.

(De proef kon met deze cavia niet worden voortgezet, omdat het dier, tengevolge van de hartpunctie, succombeerde.)

Met deze immuniteitsproeven is dus bewezen, dat de door alcoholextractie uit echinococcusvloeistof en uit de parasitaire echinococcusmembraan verkregen lipode stoffen instaat zijn om, parenteraal bij de cavia ingespoten, complementbindende antistoffen op te wekken, niet alleen t. o. v. de geïnjecteerde substanties, maar ook t. o. v. de echinococcusvloeistof als zoodanig.

b) Extracten der blaaswanden en broedkapsels

1. Literatuuroverzicht.

Gold voor de echinococcusvloeistof al een zeer verschillende mate van waardeering als antigeen voor de complementbindingsreactie, nog sterker lopen de beoordeelingen van de extracten der vaste bestanddeelen uiteen.

Waar Braunstein (1910), Rist, Kindberg en Parvu (1910), Graetz (1910) en Israel (1912) gunstig in hun oordeel spreken over de alcoholische of waterige extracten uit de blaaswanden en Chodinski (1916) hen zelfs de voorkeur geeft boven de cystenvloeistof, zijn Ghedini (1906), Rossello (1909), Weinberg (1909), Brauer (1911), Busson (1911), Vas en Thomsen en Magnussen (1912) veel minder gunstig gestemd, terwijl Blumenthal (1921) hen, als geheel onbruikbaar voor antigeen, verwerpt. Hahn (1912) kreeg met membraanextracten uit het varken zeer slechte, met die van mensch en rund zeer gunstige resultaten. Graetz (1910) daarentegen roemt de extracten van blazen uit varkens als zeer goed bruikbaar. Brauer (1911) vond alcoholische extracten van cystenwanden afkomstig van den mensch wel, van die van het rund echter niet geschikt om als antigeen te worden aangewend. Over de waterige wandextracten wordt in het algemeen minder ongunstig gesproken, dan over de alcoholische en aetherische (Jianu, 1909). De door alcohol uitgetrokken bestanddeelen der blaaswanden gaven volgens verschillende onderzoekers soms een zwakke onspecifieke complementbindingsreactie met sera van lijders aan syphilis en lepra (Israel en Busson 1910; Puntóni 1910, Sonntag 1913), die door anderen niet werd waargenomen (Parvu, 1909); dit bezwaar zouden de waterige extracten, zoomin als de echinococcusvloeistof bezitten. (Israel, Vas, Brauer, 1911, Hahn 1912).

Deze waarneming kan weinig verwondering wekken in die gevallen, waar voor de bereiding van het alcoholische extract (volgens Graetz) niet alleen de parasitaire blaaswand, maar ook het orgaanweefsel (lever) waarin de cyste zich bevindt, werden gebruikt (Henius); waterig of alcoholisch leverextract toch zijn bekend als een zeer goed bruikbaar Wassermann-antigeen.

Met extracten uit de scolices (resp. broedkapsels) en van de *Taenia echinococcus* zelf werden geen bevredigende resultaten bij de aanwendig als antigeen verkregen (Jahn, 1920). Wel kon Jahn met deze extracten een konijn immuniseeren, dat daardoor specifieke complementbindende antistoffen vormde, welke na 2 à 3

maanden weer verdwenen waren. Deze uitkomsten moeten echter met groot voorbehoud worden aanvaard, omdat sera van normale konijnen ook soms met alcoholische echinococcusextracten een complementbinding kunnen geven. (Graetz, 1910, Eigen onderzoek).

2. Eigen onderzoek.

Het waterig extract van de echinococcusblaaswanden werd door mij bereid door deze wanden uit het orgaan te pellen, zonder daarvan weefsel mede te nemen en, na hen in fijne stukjes te hebben gesneden, daaraan het viervoudige gewicht aan gedistilleerd water met 0,5 % phenol toe te voegen.

Na 48 uur verblijf in de broedstoof van 37° C. en herhaald omschudden, werd het extract door filtratie van de vaste bestanddeelen gescheiden. Voor onderzoek werd 1 deel van dit extract verdund met 4 deelen physiologisch water. Met 4 waterige membraanextracten, afkomstig van fertiele blazen en een waterig extract van den wand van dochterblazen werden, zooals uit onderstaande tabel blijkt, geen gunstige uitkomsten, bij aanwendig als antigeen, verkregen:

Dier	Ziekte	Compl. bindingsindex met echinococcusvloei-stof	Compl. bindingsindex met waterig membraanextract
Paard	Echinoc.	8	3
"	"	7,5	6,5
"	"	7,5	0
"	geen	0	0
"	"	2	3
"	"	1,5	0
mensch	Echinoc.	>10	3
"	"	>10	3,5
"	"	8,5	1,5
"	geen	0,5	0,5
"	syphilis	8	2,5
			Compl. bindingsindex met waterig extr. v. dochterblazen
paard	Echinoc.	>10	2,5
"	geen	2,5	0,5
mensch	Echinoc.	8,5	3,5

Ter bereiding van het alcoholische extract der echinococcusblaaswanden, werden deze in kleine stukjes verdeeld en uitgetrokken met het 4-voudige gewicht alcohol absolutus. Na minstens 3 dagen werd het heldere extract afgefiltreerd; voor de comple-

mentbindingsproeven moest dit 5 maal verdund worden met physiologische NaCl solutie. Van 9 fertiele cysten en 3 steriele werd aldus het alcoholisch extract bereid van de, gemakkelijk van de bindweefselkapsel loslatende, blaaswanden (cuticula en parenchym-laag).

Van 4 fertiele blazen en één steriele werd de bindweefsel-laag (buitenlaag) met alcohol uitgetrokken. Bovendien werd een spiritueus extract vervaardigd van de dochterblaaswanden van een fertielen echinococcus hydatidosus.

In onderstaande tabel zijn de uitkomsten opgeteekend van de complementbindingsreacties, waarbij genoemde extracten als antigeen werden aangewend.

Dier-soort waar-van de blaas-wand afkomstig was.	Dier-soort waar-van het serum afkomstig was	Ziekte	Compl bindings-index met echinoc. vloeistof.	idem met alcohol. extract v/d wand van fertiele blazen	idem met alcohol. extract v/d wand v. steriele blazen	idem met alcohol. extract v/d buiten laag (kapsel).	idem met alcohol. extract der wanden van dochter blazen	idem met alcohol. extr. v. den echinococ. wand en kapsel
paard	paard	echinoc.	>10	>10			>10	
"	"	"	>10	>10				6
rund	"	"	8,5		3			
paard	"	"	2,5	2				
"	mensch	"	>10	>10		2		
"	"	"	>10	5,5		0		
"	"	"	>10	>10	>10	0,5		
rund	"	"	>10	>10		2	>10	7,5
paard	"	"	>10	1,5		1,5	1,5	
"	"	"	>10	>10				
"	"	geen	2	0,5		0,5		
rund	"	"	1,5		2			
"	rund	echinoc.	>10	8,5	1	0		
"	"	"	8,5	3,5	1			
paard	"	leverdistomatosis	>10	7				
rund	"	echinoc. en distom	5,5		5,5	0		
"	mensch	echinoc.	>10					
"	"	"	>10		8,5	0,5		
paard	cavia	trichinosis	0	0	9	2,5		
"	"	acute t. b. c.	0	0				

Uit deze getallen blijkt, dat verscheiden sera van echinococcendragers een vrij sterke complementbindingsreactie vertoonden met het alcoholisch extract van de parasitaire laag der wanden van fertiele en steriele echinococcuscysten, in het bijzonder met de eerste.

Ook het alcoholisch extract van de dochterblaaswanden had antigene eigenschappen. Geen dezer extracten echter kon de antigeenwaarde der fertiele echinococcusvloeistoffen overtreffen; in sommige gevallen was wel het tegenovergestelde, geringe antigeenwaarde bij de extracten, aanwezig. De herkomst der blaaswanden had geen invloed op de antigeenwaarde hunner alcoholische extracten (binnenlaag).

Een serum van een rund, lijdend aan distomatosis hepatis gaf een vrij sterke complementbindingsreactie met alcoholisch echinococcus-wandextract (binnenlaag).

Het alcoholisch extract van de kapsellagen van fertiele en steriele echinococcen bezat geen antigeeneigenschappen.

Om nauwkeuriger te onderzoeken in hoeverre het bezit van antigeen gebonden is aan de twee lagen (cuticula en parenchym), waaruit de wand der echinococcuscysten is opgebouwd, heb ik van een fertiele en steriele blaas den parasitair wand van de kapsel getrokken, zooals ik dat ter bereiding der extracten had gedaan en van deze deelen, zoowel als van den wand als zoodanig, histologische praeparaten vervaardigd (gelatinemethode volgens Heringa, 1921).

Het microscopisch onderzoek dezer coupes toonde aan, dat van de lagen met spoelvormige cellen, fibrillen, ronde- en reuzencellen en de eosinophilecellenrijke deelen der kapsel niets aan den parasitair wand gehecht bleef en dat, wat hierboven is genoemd „parasitaire wand“ uitsluitend bestond uit de lamellaire parasietenmembraan. De dunne parenchymlaag, die zeer licht loslaat van de cuticula (Brumpt, 1913) kon ik in geen der coupes terugvinden.

Uit dit alles kan besloten worden, dat de lamellaire, kernlooze laag het antigeen bevat.

Van de broedkapsels (hydatidenzand) uit 5 echinococcen van het paard en één van het rund, heb ik 20 % alcoholische en waterige extracten bereid, die, 4 maal verdund met physiol.

NaCl-solutie, als antigeen voor de compl. b. reactie met verschillende sera werden beproefd.

Dier	Ziekte	Compl. b. index met Echinoc. vloeistof.	Idem met waterig extract van broedkapsels.	Idem met alcoholisch extract van broedkapsels
Paard	Echinoc.	8	5	
"	"	> 10	8,5	> 10
"	"	> 10	5,5	
"	"	7,5	2	
"	"	7,5	0,5	
"	parasietenhaardjes in de lever	> 10	5,5	
"	geen echinoc.	0	2,5	0,5
"	" "	0,5	1,5	
"	" "	2	1,5	
"	" "	1,5	0	
"	" "	2,5	1	
Rund	Echinoc.	> 10		1,5
"	"	1	2	
"	geen echinoc.	0,5	1	0
Mensch	Echinoc.	> 10	8,5	0,5
"	"	> 10		> 10
"	"	> 10	2	0,5
"	"	> 10		0
"	"	> 10	7	8,5
"	"	7		2
"	geen	0,5	2	0

De antigeenwaarde dezer waterige en alcoholische extracten van de broedkapsels was geringer dan die der fertiele echinococcusvloeistoffen, in sommige gevallen waren zij zelfs geheel onbruikbaar voor de compl. bindingsreactie. Er mag hier misschien verband worden gezocht tusschen de zeer dunne cuticulaire laag der broedkapsels, die zooals gebleken is, de draagster van het antigeen is, en de niet hoge antigeenwaarde, die de extracten van het hydatidenzand bezitten.

Om een indruk te krijgen van de verhouding van sera van syphilislijders, ten opzichte van de extracten der blaaswanden van echinococcuscysten werd een reeks menselijke sera onderzocht volgens Wassermann (Meth. Wigger-Boelens) en Sachs en Georgi, waarbij deze echinococcusextracten als antigeen dienst deden.

Het waterige extract van dochterblaaswanden, (5× verdund met physiologisch water) gaf bij 95 sera slechts 3 maal een positieve Wassermannreactie, waar met de gebruikelijke Wassermannextracten 20 positieve uitkomsten werden verkregen.

Met het alcoholisch extract (1 + 4 physiolog. NaCl) dierzelfde membranen werden veel gunstiger resultaten bereikt, zoals uit onderstaande tabel is te lezen.:

Wassermannreactie.

met Wassermannextract.	Met alcoh. extr. van dochterblaaswanden.
+	+
+	: 39 maal
(S. G. +)	—
—	: 1 maal
—	+
—	: 4 maal
	—
	: 38 maal

Merkwaardig is, dat van de groep der 4 sera, die positief reageerden met het parasitair product en negatief met het Wassermannantigeen er 2 waren, welke vroeger een positieve WR hadden bezeten.

Hetzelfde extract, half verdund met spiritus fortior, werd, na toevoeging van 2½% cholesterine (1% solutie) en onder inachtneming van de vereischte verdunningswijze, aangewend voor de luesreactie van Sachs en Georgi (bij toevoeging van meer cholesterine trad spontane uitvloeking op). Slechts 31 van 168 sera gaven zoowel met dit extract als met het gebruikelijke runderhartextract een positieve S. G. reactie, terwijl met het laatste totaal 56 positieve uitkomsten werden opgeteekend.

Het 20% alcoholisch extract van den wand der moederblaas, als antigeen voor de WR gaf de volgende uitkomsten:

Wassermannreactie

met Wassermannextract	met alcoholisch extr. van een sterielen echinoc. blaaswand.
+	+
+	: 36 maal
—	—
—	: 5 maal
—	+
—	: 6 maal
	—
	: 32 maal

Wassermannreactie.

met Wassermannextract	met alcoh. extr. v. een fertielen echin. blaaswand.	met alcoh. extr. v. d. buitenlaag (kapsel) v. dien wand
+	+	+
+	+	: 5 maal
+	+	—
—	—	: 10 maal
—	—	: 3 maal
(beide S. G. +)	+	: 2 maal
—	—	: 31 maal

De reactie van Sachs en Georgi werd met verschillende alcoholische echinococcuswandextracten verricht; hiertoe werden deze op de helft verdund met spiritus fortior, waarna bepaald werd de grenswaarde van cholesterinedoseering voor spontane uitvlokking (Van der Hoeden, 1921). Aan de verdunde extracten werd toegevoegd een hoeveelheid 1% alcoholische cholesterinesolutie, even onder deze grenswaarde gelegen (in casu 2 en 2,5%). De gefractioneerde verdunningen met 0,85% keukenzoutoplossing geschiedde volgens het voorschrift van Sachs en Georgi. De resultaten van dit onderzoek waren als volgt:

Reactie van Sachs-Georgi.

met S. G. extract	met extr. van een fertielen echinoc. blaaswand.	
+	+	: 67 maal
+	—	: 27 maal
—	+	: 16 maal
—	—	: 184 maal
met S. G. Extract	met extr. van een sterielen echinococcusblaaswand.	
+	+	: 36 maal
+	—	: 14 maal
—	+	: 5 maal
—	—	: 103 maal
met S. G. extract	met extract v/d buitenlaag (kapsel) eener echinoc. blaas	
+	+	: 0 maal
+	—	: 16 maal
—	—	: 30 maal

Samenvattend blijkt uit deze laatste onderzoeken, dat het alcoholisch extract van de wanden der dochterblazen en de parasitaire wanden van steriele, zoowel als van fertiele echinococcuscysten, stoffen bevatten, die met sera van luetici, evenals ik dat voor de echinococcusvloeistof reeds heb aangetoond, een positieve Wassermannreactie kunnen geven, terwijl deze extracten tevens het gebruikelijke runderhartextract in de reactie van Sachs-Georgi tot zekere hoogte kunnen vervangen.

Genoemde substanties komen zoo goed als niet in de waterige extracten voor en evenmin in de alcoholische extracten der buitenlaag (bindweefselkapsel) van de echinococcuscyste.

C. Alcoholische extracten van voor echinococcose onspecifieken oorsprong

1. Literatuuroverzicht.

Zooals reeds is opgemerkt, zijn lecithine (Weinberg 1913) leucine, tyrosine en cholesterine als antigeen voor de complementbindingsreactie bij echinococcose van geen waarde.

Door verschillende onderzoekers wordt gewezen op een reactievermogen der sera van dragers van *Echinococcus*blazen en *Taenia saginata* en de extracten uit deze parasieten onderling.

De verklaring hiervoor meent K. Meyer (1910) te mogen zoeken in de verwantschap tusschen *T. echinococcus* en *T. Saginata*, zoodat van een verwantschapsreactie sprake zou zijn, in den zin van die, welke bij bacterienagglutinenen en eiwitpraecipitinen meermalen aanwezig is.

Ghedini (1907), Weinberg (1909), Graetz (1910), Sonntag (1913) en Chodinski namen deze groepreactie niet waar. Anderen daarentegen zagen bedoelde reacties wel optreden (K. Meyer 1910, 1911, Hahn 1912, Jerlov 1916), die zich volgens Mll. Keiline (1914) quantitatief sterker voordeden met de homologe substanties, in andere gevallen daarentegen soms juist het tegengestelde vertoonden (K. Meyer, Schoo 1910).

Met extracten uit normale organen (Wassermannantigenen) gaven sera van echinococcenlijders geen complementbinding (Weinberg en Parvu 1908, Israel 1910, Hahn, 1912).

Eigen onderzoek.

Van *Taenia saginata*, vochtig verwreven in een mortier, heb ik twee 20 % alcoholische extracten bereid, die, 10 maal verdund met physiologische NaCl.-solutie, als antigeen voor de complementbindingsreactie werden gebruikt. Van 4 sera van echinococcendragers (mensch) die alle een complementbindingsindex > 10 gaven met fertiele echinococcusvloeistoffen, vertoonden drie een complementbindingsindex > 10 en de vierde 7,5 met deze *Taenia*extracten. Twee menschelijke contrôlesera behaalden slechts de indices 0,5 en 1,5.

Het serum van een mensch die *Taenia saginata* herbergde, gaf met het alcoholisch extract van deze lintwormproglottiden géén complementbindingsreactie en bereikte met echinococcusvloeistof en het alcoholisch extract der echinococcusblaaswanden resp. de indices 5 en $2\frac{1}{2}$.

Servantie (1921) nam waar een positieve complementbindingsreactie van het serum eener vrouw, lijdend aan *Fasciola hepatica*, met het alcoholisch extract uit deze parasiet en ook met echinococcusvloeistof; deze reactie werd eveneens verkregen met een deel der sera van schapen met distomatosis en met het serum van een syphilislijder; met een normaal menschen serum trad zij niet op.

Om het bestaan van een groeppreactie tusschen de extracten van *Echinococcus* en *Fasciola* te onderzoeken, heb ik twee 20 % alcoholische extracten uit leverbotten van het rund bereid, die in een 10-voudige verdunning met physiologisch water werden gebruikt.

Diersoort	Ziekte	Complementbindingsindex.		
		met echinoc. vloeistof	met alcohol. extract der cuticula van echinococcus	met alcoholisch extract van <i>Fas- ciola hepatica</i> .
Rund	Echinoc. en distoma- tosis hepatis	5,5	5,5	0,5
"	Distomatosis hepatis	> 10	7	7
"	geen	1	1	0,5
Mensch	Echinoc.	> 10	9	2
"	"	> 10	> 10	8,5
"	"	> 10	> 10	> 10
"	syphilis (WR + 10)			> 10
"	"			> 10
"	geen (WR —)			0
"	" "			0

Het alcoholisch extract van den parasitair wand der echinococcuscyste gaf met het serum van een rund met distomatosis een even sterke complementbindingsreactie als het extract van *Fasciola*. Het serum van een rund, dat twee kleine echinococcusblazen en vrij uitgebreide distomatosis in de lever had, gaf met het echinococcusextract een matig sterke, met *Fasciola*extract géén complementbinding. Van 3 sera van menschen met echinococcen gaven 2 een sterke complementbindingsreactie met het extract van *Distomum*. Ook sera van syphilislijders reageerden sterk positief met dit extract. Alle contrôlesera gaven geen reactie.

De echinococcusvloeistof gaf met het serum van een aan distomatoze lijdend rund een sterke complementbindingsreactie (> 10).

Met het 20 % alcoholisch extract van *ascaris suillis*

werd in 20-voudige verdunning met physiol. NaCl-solutie (sterkere concentraties gaven zelf reeds complementbinding) de complementbindingsreactie uitgevoerd volgens het schema van het echinococcusonderzoek. Twee menschersera van echinococcendragers, die met echinococcusvloeistof een complementbindingsindex > 10 behaalden, gaven met dit wormextract een index 2 en > 10 ; een serum van een syphilislijder met Wassermannreactie $+ > 6$ gaf met het ascaridenextract een index 2, een Wassermann-negatief serum een index 1.

Met het 20voudig verdunde extract van *cysticercus pisi-formis* uit een konijn, welks serum daarmee een complementbindingsindex 8,5 gaf en met echinococcusvloeistof > 10 , werden met het serum van twee echinococcendragers (mensen) de complementbindingsindices 9,5 en > 10 bereikt.

Het 20 maal verdunde extract van *metastrongylus-filaria* gaf met dit en met een ander menscherserum van een echinococcusdrager de indices 5 en 7,5. Contrôlesera van den mensch behaalden slechts de indices 2,5 en 0,5.

In overeenstemming met de waarnemingen van andere onderzoekers kon met alle onderzochte sera van echinococcendragers nooit, volgens de door mij voor echinococcusonderzoek gebezigde methode een complementbinding worden verkregen met alcoholische extracten uit hart-of leverweefsel (Wassermannantigenen); de Wassermannreactie werd steeds negatief aangetroffen.

Samenvattend is dus gebleken, dat sera van echinococcendragers positieve complementbindingsreactie kunnen geven met alcoholische extracten uit verschillende parasieten (*Taenia saginata*, *Fasciola hepatica*, *Ascaris suillis*, *Strongylus*, *Cysticercus pisi-formis*).

De sera van Echinococcengastheeren reageeren niet met extracten uit normale zoogdierorganen (Wassermann-antigenen).

Reeds meerdere malen is in het voorgaande gebleken, dat sera van luetici, zoowel met de Wassermannextracten als met lipoiden, afkomstig van echinococcus of andere parasitaire wormen complementbinding vertoonen, terwijl daarentegen sera van echinococcendragers slechts het complement vermogen te binden met genoemde stoffen van parasitairen oorsprong, maar niet met de

Wassermannextracten. Deze, bij oppervlakkige beschouwing paradoxaal lijkende ervaring, zou ik aldus willen verklaren:

In Hoofdstuk IV, a. is aangetoond, dat het echinococcus-lipoide het extract van Sachs-Georgi vervangen kan, door met sera van syphilitici uitvlokking te geven. Deze uitvlokking berust op het, door kunstgrepen (cholesterinetoevoeging en verdunningstechniek), versterken van het eerste stadium der W.-R. (extract + serum) (Sachs en Georgi, 1918).

Het „parasitair lipoide“ heeft dus niets anders gedaan, dan met sera van luetici een uitvlokking te geven, die, evengoed als zoo-veel andere fijngedispergeerde stoffen (talk, kaoline, enz.) in staat is, het complement uit een vloeistof vast te leggen, zoodat het met het Haemolytisch-systeem (indicator) niet meer aan te toonen is. — Wat men gemeenlijk als „Wassermannantigeen“ aanduidt, zijn overigens allerlei stoffen van zeer heterogene en voor lues onspecifieke herkomst, zoodat het niet zoozeer verwonderen kan, dat ook de meergenoemde parasitaire producten daaronder vallen.

Anders is het gesteld met de complementbindingsreactie bij echinococcose. Hier is geen reden om te twijfelen aan het verloop der reactie volgens het principe van Bordet-Gengou.

De waarneming, dat ook extracten uit andere parasitaire wormen min of meer in staat zijn hierbij als antigeen te fungeeren, is verklaarbaar door aan te nemen, dat deze stoffen van verwanten oorsprong, een gemeenschappelijke haptophore groep bezitten.

d) Aard en herkomst van het antigeen.

Hieromtrent is in de literatuur slechts weinig medegedeeld. Graetz (1910) meende de eiwitafbraakproducten, leucine en tyrosine, die in de echinococcusvloeistof voorkomen een zeker aandeel te mogen toeschrijven bij de vorming der antistoffen, omdat het hem gelukte, bij kunstmatig met deze stoffen geïmmuniseerde konijnen, antilichamen op te wekken, die complementbinding gaven met echinococcusvloeistof en de alcoholische extracten uit de parasieten.

Hij besluit hieruit ten onrechte, dat deze substanties waarschijnlijk een deel van het antigeen uitmaken. Het gelukte echter Weinberg en Bromfenbrenner (1910) met geen enkele van 24 sera van echinococcuslijders, een complementbindingsreactie te verkrijgen, wanneer zij leucine of tyrosine als antigeen bezigden.

Uit mijn onderzoek (zie pag. 26) is hetzelfde gebleken; toevoeging van deze stoffen aan, door ultrafiltratie of met kaoline onwerkzaam gemaakte cystenvloeistoffen, gaf evenmin een verbetering dezer producten.

De positieve complementbinding, die Graetz met zijn konijnen-immunsera verkreeg, zijn waarschijnlijk te verklaren wanneer men bedenkt, dat (zie blz. 74) bij het konijn een sterke spontane complementbindingsreactie met echinococcusvloeistof niet tot de zeldzaamheden behoort. Bovendien bewijst dit onderzoek niets, omdat, indien hij inderdaad antilichamen tegenover deze stoffen verkregen heeft de complementbindingsreactie met de echinococcusvloeistof optrad, omdat hierin de voor immunisatie gebruikte stoffen voorkomen, zoodat er slechts een complementbinding tussen deze eiwitafbraakproducten en hun kunstmatig opgewekte antistoffen zou zijn vertoond. Dat inderdaad deze aminozuren in staat zouden zijn de vorming van antistoffen in het organisme te bewerken, is overigens, ondanks de mededeelingen van Much en Schmidt (1921), dat hen zulks met leucine zou zijn gelukt, nog niet zonder meer te aanvaarden.

Uit mijn onderzoekingen heb ik mogen concludeeren, dat het echinococcusantigeen lipoïde-natuur heeft.

Israel (1910 — 1911), die met alcoholisch echinococcusextract wél, met het waterige, géén complementbindingsreactie kreeg t. o. v. sterk Wassermannpositieve sera, neemt aan, dat in het alcoholisch extract 2 antigenen voorkomen, één specifieke en één on-

specifieke, welke laatste van lipoidkarakter zou zijn en de reactie met sera van luetici zou bewerken.

Deze onderstelling komt mij ongemotiveerd voor. Uit mijn onderzoek is toch gebleken, dat niet alleen de alcoholische extracten van den wand, maar ook de echinococcusvloeistof zelf de eigenschap bezitten om met sera van syphilislijders de rol van antigeen in de Wassermannreactie te vervullen, of daarmee een positieve complementbinding te geven, zooals dat met sera van echinococcendragers geschiedt.

Bedenken wij, dat de Wassermannreactie uitvoerbaar is met allerhande onspecifieke lipoiden en andere stoffen (extracten uit velerlei organen, lintwormen (Busson), lecithine (Porges en Meyer), natrium glycocholicum en cholesterine (Hermann en Perutz), palmitine- en stearinezure natron, vaseline, aardappelextract, schellakemulsie, enz.) dan is het niet noodzakelijk een bijzondere lipode stof aansprakelijk te stellen voor de complementbindingsreactie, die hydatidenextracten of hydatidenvloeistof met sera van luetici geven, maar mag aan het lipode echinococcusantigeen zelf deze rol worden toegedacht.

Uit hetgeen hiervoren gebleken is, moge worden geconcludeerd, dat het echinococcusantigeen een specifiek lipode antigeen is, binnen de ruimere grenzen van de met *Taenia echinococcus* verwante parasieten. Dit lipode is, zooals zoovele andere, in staat om complementbindingsreactie en uitvlokking volgens Sachs-Georgi te geven met sera van syphilislijders.

De productie van het antigeen moet worden toegeschreven aan de levende deelen van den parasiet, dus aan den blaaswand. Het is nu de vraag of de antigeenvorming plaatsvindt in de celrijke, uiterst dunne parenchym laag, dan wel in het lamellaire, kernlooze deel.

Bij het onderzoek naar de antigeenwaarde der extracten van den wand van fertiele en steriele blazen is mij gebleken, dat daarin vrij veel antigeen opgehoopt kan zijn. De extracten van dochterblazen, waarin de licht vernielbare dunne parenchym laag, die hier naar de binnenzijde gekeerd is, niet beschadigd kan worden, dus mede wordt geëxtraheerd, bezaten geen sterker antigeenvermogen, dan de extracten uit den parasitair wand der moederblazen, waarvan bij de bereiding gemakkelijk deze cellaag wordt beschadigd. Dus het antigeen moet voornl. in de cuticulaire laag van den wand worden gezocht. Het geringe antigeenvermogen

van de extracten der broedkapsels, bij welke de verhoudingen van cuticula en parenchym juist omgekeerd liggen (de cuticula is hier zoo dun, dat een deel der onderzoekers zelfs aanneemt, dat zij geheel ontbreekt) geeft voor deze opvatting nog meer steun.

Mijn ervaring, dat de antigeenwaarde der vloeistoffen uit fertiele cysten veel sterker is (soms 200 maal), dan van die uit steriele, wil ik toeschrijven aan de oppervlaktevergrooting, die de talloze broedkapsels aan den wand veroorzaken, terwijl de hoeveelheid vloeistof dezelfde blijft.

Nemen wij aan, dat het maximum aantal broedkapsels, met diameter van 400 micra, op een wand eener blaas van 10 cM. doorsnee zijn geplaatst (de losgelaten broedkapsels worden verwaarloosd, om de fout, die bij de berekening gemaakt wordt door aan te nemen, dat de wandstandige blaasjes tegen elkaaraansluiten, min of meer te compenseeren), dan wordt de totale vergrooting van het oppervlak daardoor hoogstens verviervoudigd. Een sterker vergrooting ondergaat de wand nog door de talrijke uitstulpingen der broedkapsels, voor den aanleg der scolices (Devé heeft berekend dat een fertiele cyste meer dan 2 miljoen scolices kan bevatten). De uiterst dunne cuticulaire laag der broedkapsels kan echter een niet zoo sterke meervorming van antigeen in de fertiele cysten veroorzaken (de cuticula der moederblaas is veel dikker). Ik moet daarom aannemen, dat de vorming van het antigeen uitgaat van de parenchymlaag, die bij de broedkapsels dezelfde dikte bezit als bij de moederblaas en bij oppervlakvergrooting dus onmiddellijk een veel grootere productie meebrengt.

Wanneer men de antigeenvorming op rekening van de cuticula zou willen stellen, zou het feit, dat bij steriele blazen de cuticulaire laag veelal dunner is dan bij fertiele (Lichtenheld) een andere verklaring mogen leveren voor de grootere antigeenwaarde van vloeistoffen uit fertiele cysten. Toch is dit m. i. niet juist; de cystenvloeistoffen uit 3 door mij onderzochte fertiele blazen met zeer dunnen wand (2 van het rund en 1 van het paard) hadden toch de hoge antigeenwaarden van 200, 200 en 100, terwijl een dikwandige steriele blaas van paard en varken resp. slechts de geringe antigeenwaarden 10 en $6\frac{2}{3}$ bezaten. Deze gegevens zijn, dunkt mij, voldoende bewijs tegen de onjuiste opvatting, dat de antigeenproductie evenredig zou moeten zijn met de dikte van de blaaswanden, zoodat dit argument voor

het op rekening stellen der antigeenvorming door de cuticula, onhoudbaar wordt. Ik stel mij voor, dat de antigeenvorming plaats vindt in de parenchymlaag van den wand en dat het antigeen daaruit diffundeert naar beide richtingen, naar de vloeistof en naar de cuticula.

Een grootere antigeenproductie (in fertiele blazen) veroorzaakt een grootere antigeenconcentratie in de cystenvloeistof. Het door het broedkapselparenchym gevormde antigeen zal nl. zo goed als geheel in de cystenvloeistof worden opgenomen, omdat het naar buiten geheel onspoeld wordt door die vloeistof en naar binnen een bijna niet waarneembare dunne cuticulabekleding heeft, die niet veel resorptiecapaciteit bezitten kan. Het in de lamellaire laag opgehopte antigeen wordt daaruit geleidelijk aan het weefsel van den gastheer afgegeven (de bindweefselkapsel is arm aan vaten).

Aangezien het door den gastheer opgenomen en tot antistofvorming aanleiding gevende antigeen, afkomstig is uit de cuticula, behoeft er dus geen direct verband te bestaan tusschen het antistofgehalte van het serum en den antigeenrijkdom van de cystenvloeistof. Het is toch denkbaar, dat de lamellaire laag slechts weinig antigeen in depôt heeft, terwijl aan de vloeistof meer is afgegeven. Hiermee zou een verklaring gegeven kunnen worden voor de, ook door mij opgedane ervaring, dat met een hooge antigeenwaarde der vloeistof niet altijd een hoog antistofgehalte in het serum van den gastheer samengaat, zoodat bij dragers van steriele cysten soms een sterke complementbindingsreactie en bij een fertiele, meermalen geen of gering reactievermogen van het serum werd waargenomen. Bovendien wordt het ontbreken van een verband tusschen de wanddikte en het antistofgehalte hierdoor aannemelijk gemaakt (bij een dunnen wand zou men, wanneer het opgenomen antigeen van de vloeistof afkomstig zou zijn, eerder een sterke antigeendoorlating, dus antistofvorming mogen verwachten, dan bij een dikke membraan, terwijl juist het tegengestelde in den regel waar is).

Een steun voor mijn opvatting, dat het tot antistofvorming aanleiding gevende antigeen niet afkomstig is uit de cystenvloeistof, maar uit het depôt in de cuticula, mocht ik nog verkrijgen met een eenvoudig diffusieproefje.

Een smal reageerbuisje, waaraan de bodem was ontnomen, werd omgekeerd geplaatst in een bekersglasje, waarin 10 ccm.

physiologische zoutoplossing + 0,5 % phenol waren gedaan. Het reageerbuisje werd naar onderen afgesloten met een deel van een fertiele echinococcusmembraan (parasitaire wand), dat, met de binnenkant naar boven gekeerd, met zijden koord nauwkeurig om den rand van het buisje gebonden werd. Tevoren was de membraan voorzichtig in physiol. water afgespoeld, om eventueel daaraan hechtend antigeen te verwijderen. In het buisje werd daarna 5 cmm. (met 0,5 % phenol geconserveerde) echinococcusvloei-stof gegoten, zòó, dat het niveau daarvan ongeveer 6 cm. hoger stond dan van de vloeistof in het bekerglaasje. De echinococcus-vloeistof en de membraan waren afkomstig van dezelfde blaas.

Na 5 dagen bleek het vloeistofniveau nog even hoog te staan als bij den aanvang van de proef; er was dus blijkbaar geen vloeistof door de membraan gediffundeerd. Wel was in de buitenvloeistof een spoor eiwit aan te toonen, maar deze mocht op rekening worden gebracht van het in oplossing gaan van eiwitten der membraan; een even groot stukje echinoc. wand gaf in evenveel vloeistof gedompeld daaraan een ongeveer even sterke eiwitreactie (contrôle). Er was echter ook totaal geen antigeen door de echin. membraan naar de vloeistof in het bekglas gepasseerd. Met het serum van een echinococcendrager (mensch), dat met de oorspronkelijke voor de diffusieproef gekozen echinoc. vloeistof een complementbindingsindex > 10 gaf, werd dezelfde waarde bereikt t. o. v. de vloeistof, die na 5 dagen in het buisje boven de gespannen membraan stond en geen spoor van binding (index 0) met de vloeistof in het bekerglaasje. Bij bepaling van de antigeenwaarde, zooals hiervoren beschreven is, bleek deze bij de eerstgenoemde 2 vloeistoffen te zijn 200, bij de laatste 0. Drie weken later bestond nog dezelfde toestand.

Het serum van het paard, waarvan de echinoc. wand en -vloeistof stamden, had echter een complementbindingsindex 7,5 vertoond, ondanks de ondoorlaatbaarheid van den wand voor echin.-antigeen uit de cystenvloeistof. Het alcoholisch extract van denzelfden blaaswand gaf een complementbindingsindex 8,5 met een serum van een echinococcendrager (mensch). De wand bevatte dus wel het antigeen, al was zij blijkbaar niet in staat dit uit de echinococcusvloei-stof te laten passeeren.

Bij herhaling van dit onderzoek met een andere membraan en de daarbij behorende vloeistof werd na 5 dagen en na 3 weken eveneens dezelfde toestand aangetroffen; de vloeistof boven den

wand bezat nog dezelfde antigeenwaarde (200) als de oorspronkelijke; de vloeistof in het bekerglas vertoonde een antigeenwaarde van 4, (te verklaren door het afstaan van antigeen uit de cuticula).

Tenslotte zij hier, als eigen kritiek toegevoegd, dat ik dit experiment allerm minst bewijzend acht voor de opvatting, dat de membraan geen (anti)stoffen doorlaat, omdat geen conclusies zonder meer mogen worden overgebracht op het gedrag van den levenden wand, die ontleend zijn aan onderzoekingen met de afgestorven membraan. Toch meende ik dit proefje te moeten vermelden om, bij de andere opgesomde argumenten gevoegd, aan deze misschien nog eenigen steun te kunnen bijzetten.

V. De echinococcusantilichamen.

Specificiteit en waarde der complementbindingsreactie bij echinococcose.

1. Literatuuroverzicht.

De „Anticorps hydatiques“ zijn oplosbaar in alcohol en passeeren collodiumzakjes (Parvu 1909). Zij bezitten amboceptornatuur (Lippmann, 1910; Jianu, 1909, sprak van antitoxinen).

Na den dood van het individu verdwijnen deze stoffen niet onmiddellijk (Braunstein, 1910).

Gemiddeld vonden Weinberg en Bromfenbrenner (1910) 10 — 25 antilichaam-eenheden in de sera van echinococcendragers. De echin. antistoffen worden door verhitting gedurende 30 minuten op 70° C. totaal vernield; verwarming gedurende dien tijd op 56° verzwakt het reactievermogen der sera 2 à 3 maal. Daarom inactiveren Zapelloni en Ricciuti (1910) bij lager temperatuur (40 min. bij 52°).

De antistoffen komen voor in het bloed; alleen wanneer de zetel van de blaas is gelegen in het centraal zenuwstelsel, zijn antistoffen aan te toonen in de cerebrosпинаalvloeistof (Legry, Parvu en Baumgartner, 1911). In urine (Weinberg en Parvu, 1908) en ascitesvloeistof (Weinberg 1909) zijn zij niet aanwezig. Parvu en Laubry (1909) konden geen antilichamen vinden in menschelijke foeti, waarvan de moeder echinococcen herbergde; aan Sparapani (1917) daarentegen gelukte dit wel bij 10 kalverfoeti van koeien met echinococcen.

Graetz (1910) zocht verband tusschen de grootte en wanddikte der blazen aan den eenen kant en hun vermogen om antistoffen te doen ontstaan anderszijds; ook Blumenthal (1921) wil het gebrek aan antistoffen verklaren met een te groote dikte van den wand, die daardoor ondoorlaatbaar zou zijn. Weinberg (1909) en Jahn (1920) zagen deze evenredigheid echter niet.

De invloed van necrose of verettering der blazen wordt verschillend beoordeeld. Parvu (1912) zegt, dat bij septische, zoowel als bij aseptische necrose veel antistoffen worden gevormd; Apphatie en Lorentz (1909) en Graetz (1910) zagen geen verband tusschen den toestand, waarin de cysten verkeerden en het reactievermogen van het serum hunner gastheeren.

De antilichamen zouden worden opgewekt doordat echinococcusvloeistof (waarin het antigeen) door den blaaswand diffundeert en in het bloed van den gastheer wordt opgenomen (Weinberg). Reeds spoedig merkte Weinberg op, en na hem is deze waarneming herhaaldelijk bevestigd, dat bij verschillende echinococcendragers geen complementbindende antistoffen zijn aan te toonen. De cystenwand zou hier, volgens Weinberg, niet in staat zijn het antigeen te doen passeeren, hoewel in sommige dezer gevallen (Ghedini 1907) wel galkleurstoffen in de cystenvloeistof aanwezig waren; er bestond hier schijnbaar dan een diffusie naar slechts één zijde. Algemeen is ook de waarneming van Weinberg bevestigd, dat in sera van echinococcendragers, waarin geen antistoffen waren aan te toonen, deze na operatie of proefpunctie soms reeds na 6 dagen (Chauffard en Vincent 1910, Schoo 1910, Hertz, Eckenstein 1910, enz.) in groote massa optraden. Weinberg verklaart dit verschijnsel, doordat bij genoemd ingrijpen een groote hoeveelheid echinococcusvloeistof door de weefsels van den gastheer wordt opgenomen, waardoor nieuwe antistoffen worden gevormd.

Deze verklaring vindt steun door de ervaring, dat bij extirpatie in t o t o de antistofvorming uitblijft. Na de operatie worden soms nog langen tijd complementbindende antistoffen aangetroffen. Weinberg (1912) noemt een reeks dezer gevallen, die soms jaren later (één geval van ruim 10 jaar) nog de reactie vertoonden. Hiertegenover staat dat bij totale extirpatie, zonder dat de blaas daarbij geopend werd, de antistoffen snel uit het bloed verdwenen waren. Ter verklaring van het aanwezig blijven der antistoffen voert Putzu (1910) als mogelijkheden aan, dat deze eerst langzamerhand of in het geheel niet zouden worden uitgescheiden, dan wel, dat achtergebleven blazen of stukken van den cystenwand de antistofvorming zouden kunnen onderhouden. Vas (1910) voegt hieraan toe de onderstelling dat na extirpatie, de lichaamscellen nog lang in staat zouden kunnen blijven antistoffen te vormen, ondanks de afwezigheid van den parasiet.

De kwestie van de specificiteit der complementbindingsreactie met de extracten van echinococcusbestanddeelen, is in het vorige hoofdstuk reeds besproken, waarbij vnl. gebleken is, dat alcoholische extracten een onspecifieke reactie geven met sera van luetici en dat er een verwantschap mag worden

aangenomen tusschen het reactievermogen van sera van aan verschillende wormziekten lijdende individuen. Met de echinococcusvloeistof als antigeen werden steeds andere uitkomsten verkregen, wat betreft het reactievermogen van sera van syphilislijders. Bettencourt (1909), Weinberg en Parvu (1909), Israel (1910—1911), Sonntag (1913), Weinberg (1913) en Rubinstein (1921, bij 75 sera met WR. ++++) vonden nooit een positieve complementbindingsreactie met sera van luetici, wanneer zij echinococcusvloeistof als antigeen aanwendden. Hetzelfde geldt volgens Israel (1910) en Weinberg (1913) voor sera van lepra-lijders.

Met sera van dragers van ingewandswormen (Weinberg 1909), trichinen (Ströbel 1911), *Taenia saginata*, *T. solium* en *Bothriocephalus latus* (Thomsen en Magnussen, 1912) werden evenmin onspecifieke reacties bij gebruik van echinococcusvloeistof waargenomen.

Door anderen echter wordt de specificiteit der complementbindingsreactie, óók met echinococcusvloeistof als antigeen, in twijfel getrokken. Lincoln en Balboni (1920) vonden bij 12 positieve reacties slechts 7maal een echinococcus. De positieve uitkomsten bij levercirrhose (Weinberg 1909, Maranon 1910) en niersarcoom (Weil, Mouriquard en Gardere, 1910) wil Weinberg terugvoeren op de kunstfout, dat niet voldoende rekening zou zijn gehouden met de toeneming van anticomplementaire eigenschappen en de afname van complement, die de sera bij deze ziekten vertoonen. Puntoni (1910) zag zwakke complementbinding bij 2 schapen met strongylosis. Een reactievermogen der sera van dragers van *Taenia saginata* met echinococcusvloeistof werd meermalen waargenomen (K. Meyer, 1911) en Servantie (1921) vond eenmaal een positieve reactie van de hydatidenvloeistof met het serum van een vrouw, lijdende aan distomatosis hepatis. Tenslotte zij nog vermeld, dat Chodinski (1916) een onspecifieke reactie noteerde bij longgangreen.

De waarde der complementbindingsreactie voor de diagnostiek van echinococcose is afhankelijk zoowel van haar specificiteit als van de statistiek harer positieve uitkomsten en ook,

indirect, van de waarde die aan de andere diagnostische hulpmiddelen mag worden toegekend.

Bovendien bestaat er verband tusschen de appreciatie der reactie eenerzijds en de methode van onderzoek en het aangewende antigeen anderzijds. Het gevolg hiervan is een groot verschil in waardeering bij verschillende onderzoekers.

Waar Weinberg (1909), Lejars (1909), Rist (1910), Ghedini (1913) en anderen aan de complementbindingsreactie voor de echinococcusdiagnostiek zonder voorbehoud de eerste plaats inruimen, geeft o. a. Berenroth (1912 — '13) die bij 4 gevallen slechts één twijfelloos positieve uitkomst kreeg, haar slechts ondergeschikte betekenis en spreekt Chodinski (1916), die bij 20 echin. dragers 10 negatieve reacties aantrof, van niet meer dan een zekere „ondersteunende waarde“. Ook Thomsen en Magnussen (1912) kregen van 12 echin. lijders slechts bij de helft een positieve Ghedinishche reactie, en Ströbel (1911) vond bij 4 sera van menschen met echinococcose maar één positieve uitkomst.

Met de methode volgens Hecht kreeg Jianu bij 80 % zijner gevallen een positieve reactie.

Van meer belang dan deze op slechts enkele onderzoeken steunende getallen zijn de statistische gegevens van Weinberg. Deze vond met de oude Wassermannmethodiek bij 244 onderzochte sera niet meer dan 38,5 en met de modificatie van Marg. Stern 53,5 % positieve complementbindingsreacties bij echinococcose.

In 1913 stelde Weinberg een statistiek samen van 306 door hem en anderen, met verschillende antigenen onderzochte gevallen van echinococcose en berekende daaruit een overeenstemming met de complementbindingsreactie bij ongeveer 82 % der sera.

Ghedini (1913), die 300 menschelijke sera van echinococcodragers in statistiek vereenigde, kwam zelfs tot een overeenstemming van 92 %.

Bij de huisdieren zijn, wat het aantal positieve complementbindingsreacties bij echinococcose betreft, nog meer uiteenlopende uitkomsten verkregen, dan bij den mensch.

Een groote statistiek is niet beschreven; de literatuur is slechts tot enkele onderzoeken beperkt, waaraan veelal zeer voorbarige

conclusies zijn vastgeknoopt. Weinberg en Parvu (1908) kregen aanvankelijk met alle sera van 13 echinococcendragende schapen een positieve complementbindingsreactie. Later vond Weinberg (1909) bij 11 schapen 9 maal en bij 5 runderen 3 maal de complementbindingsreactie positief; ook het serum van een gems met echinoc. reageerde positief.

Puntoni (1910) noteerde bij 21 runderen met deze parasiet slechts 8 gedeeltelijke, 5 buitengewoon zwakke en 8 negatieve reacties. Braunstein (1910) kreeg maar met één van 3 runder-sera een slechts twijfelachtig positieve, Busson (1911) van 8 sera dezer dieren één complete en één incomplete complement-binding. Falcoiano (1912), die 25 sera van aan echinococcose lijdende runderen onderzocht, kreeg met de versche cystenvloeistof geen enkele volkomen, 2 (= 8 %) incomplete en 3 (= 12 %) twijfelachtige remmingen der haemolyse. Roncaglio (1913) vond ook bij niet echinococcusdragende runderen meermalen een positieve complementbindingsreactie. Bij 4 varkens met echinococ. viel deze reactie alle 4 keer positief uit (Graetz 1910) en tenslotte noteerde Jahn (1920) bij 25 schapen 8, bij 13 runderen 2 en bij 2 varkens met echinococcen géén positieve reacties volgens de methode van Weinberg.

Zeven sera van dromedarissen, die dezen blaasworm herbergden, vertoonden alle, volgens Weinberg en Vieillard (1909), complementbinding met echin. vloeistof.

Het is moeilijk om uit deze mededeelingen een juiste appreciatie voor de complementbindingsreactie bij echinococcose te verkrijgen. Aan den eenen kant nl. zijn tal van methoden toegepast, waaronder meermalen geen onberispelijke, anderzijds is gebruik gemaakt van allerhande en veelal onbruikbare antigenen.

Zeër sprekend komt dit tot uiting in de onderzoeken van Falcoiano (1912), die zonder 'contrôleproeven, met de versche cystenvloeistof van runderen 2 %, met het aetherisch extract daaruit 80 % positieve uitkomsten kreeg.

In het algemeen is het getal der specifieke positieve reacties met menselijke sera groter dan met dierlijke; in het oog springend is vooral, dat met runder-sera zeer weinig gunstig resultaat bereikt werd, hetgeen

wellicht verklaarbaar is, doordat het voor de hand ligt, dat hierbij in het algemeen met de eigen, meestal steriele, cystenvloeistof werd gereageerd, die, zooals ik heb aangetoond, geringe antigeenwaarde bezit.

Weinberg (1913) tracht het geringer aantal positieve reacties bij de huisdieren te verklaren met hun geringeren levensduur en het minder aan insulten blootstaan dan de mensch, waardoor minder kans voor ruime antistofvorming zou bestaan.

Tenslotte zij nog vermeld, dat Weinberg (1909) in de bepaling van den antitryptischen index een methode gevonden heeft om in sommige gevallen uit te maken of de cyste veretterd is.

Dobrotine (1910) kon met het serum van een mensch met echin. alveolaris een positieve complementbindingsreactie waarnemen met echinococcusvloeistof uit een uniloculaire blaas; Daujat gelukte ditzelfde met het alcoholisch extract eener echinoc. unilocularis.

2. Eigen onderzoek.

De hier volgende tabellen geven als complementbindingsindex aan de getallen, die met de door mij steeds toegepaste methode werden verkregen, bij gebruikmaking van den meest gunstigen vorm van antigeen: de onverdunde vloeistof uit fertiele echinococcusblazen.

Tabel A.

Sera van Menschen, bij wie Echinococcose aanwezig is, of geweest is.

a. Serumonderzoek, voordat operatie of punctie hebben plaatsgevonden:

Nr.	Geslacht en leeftijd	Woonplaats	Diagnose van den behandelenden arts.	Compl. b. index.	Nadere bijzonderheden, deels door mededeelingen van den behandelenden arts*, deels uit eigen laboratoriumonderzoek.
1	vr.	Amsterdam	Echinoc. hepatis	> 10	„Bij operatie gevonden multiple uniloculaire echinococcuscysten in de lever.“
2	m. 13j.	Nunspeet (oorspronkelijk uit Friesland)	Echin. of carcinoom v. d. long	> 10	20 % eosinophile bloedcellen. Praecipitatieproef met echinoc. vloeistof positief. In het bloederige sputum eenige echin. haken gevonden.**
3	m.	Harlingen	Leverechinococcose?	> 10	Praecipitatieproef met echinococ. vloeistof zwak pos.; 6 % eosinophile cellen in het bloed. „Bij operatie een echinococcusblaas in de lever gevonden.“
4	m. 32j.	Harlingen	Leverechinococcose	> 10	„Door operatie werd echinococcusblaas uit de lever geëxstirpeerd.“ WR —.
5	m. 25j.	Leeuwarden.	Echinococ. pulmonis	> 10	„Klinisch staat de diagnose longechinococcosis vast; bevestigd door Röntgenonderzoek en punctie“
6	m.	Harlingen	Echinococcosis hepatis	> 10	„Bij operatie zijn echinococcusblazen in de lever aangetroffen“ WR — SG —. Praecipitatiereactie met echinoc. vloeistof negatief.
7	vr. 30j.	Leeuwarden	Tumor in de lever.	7	Bloedeosinophilie 9,5 %. „Bij operatie groote uniloculaire echin. blaas i. d. lever gevonden.“ WR — SG —
8	m. 45j.	Harlingen.	Echinoc. hepatis.	> 10	Praecipitatiereactie met echin. vloeistof pos. Eosinophilie van het bloed 1 %. „Bij operatie 2 groote echinoc. blazen, gevuld met dochterblazen uit de lever verwijderd.“
9	vr. 44j.	Alkmaar	Echinococ. Pulmonis?	> 10	WR — „Punctievloeistof uit de long zeer helder, eiwitvrij, bevat veel NaCl.“ Eosinophilie van het bloed 14 %. „Klinisch wijst alles op echinococcosis pulmonis.“
10	m. 10j.	Sneek.	Tumor hepatis	* 5,5	WR — SG —. „Bij operatie, eenige maanden na de serumproef, is een echin. unilocularis uit de lever verwijderd.“

* tusschen „ . . . “ is opgegeven het nader bericht van den arts.

** Zie Tijdschr. v. Geneesk. 1921 I. Nr. 15 blz. 2010.

Nr.	Geslacht en leeftijd	Woonplaats	Diagnose	Compl. b. index	Bijzonderheden, enz.
11	m. 26 j.	Amsterdam	Tumor in de milt	1,5	„Bij operatie is gevonden een buitengewoon groote echin. blaas met dikke kapsel; van het miltweefsel is weinig meer over. De blaas woog 3 K. G.“*
12	m. 28 j.	Hommerts	Echinoc. pulmonis	> 10	„Klinisch en röntgenologisch staat de aanwezigheid van een echinococcus-blaas in de long vast.“
13	m. 20 j.	Friesland	Echinococ-cose v/d buik.	> 10	„Door operatie is gebleken, dat echinoc. aanwezig was.“ WR — SG —.
14	m. 30 j.	Friesland	Echinoc. hepatis	> 10	„Bij operatie echinoc. hepatis gevonden en verwijderd.“
15	m. 60 j.	Leeuwarden.	Lues of Echinoc. hepatis	9	WR — SG —. Vier maanden later geopereerd. „Multiële echinococci in lever, milt en peritoneum gevonden.“**
16	m. 11 j.	Harlingen	Echinoc. of Lymphoom i/d longen	> 10	WR —. „Longechinococcosis staat vrijwel vast. Sterke bloedeosinophilie. In de hilusstreek op röntgenfoto groote bolvormige schaduw met scherpen rand, die voor een lymphoompakket te regelmatig is.“
17	m.	Groningen	Echinococ-cosis	0,5	„Bij operatie echinococcusblazen gevonden.“
18	m. 25 j.	Friesland	Leverechinococ-cose.	2,5	„Geopereerd, waarbij een groote, aseptische echinococcus uit de lever is geëxtirpeerd.“
19	m.	Friesland	Echinoc. pulmonis.	> 10	„Röntgenologisch een tumor in de long. Bij punctie veel waterheldere echin. vloeistof.“ Praecipitatiereactie met ech. vloeistof sterk positief. Bloedeosinophilie $\pm 20\%$
20	vr. 36 j.	Nd Brabant	Carcinoma ventriculi	> 10	„Patië is bang voor honden; Nooit met honden omgegaan. Altijd in Brabant gewoond. Bloedeosinophilie 4%. WR —. Bij operatie gevonden een uniloculaire echinoc. cyste in de linker leverkwab, inhoud ± 300 cc. heldere vloeistof; geen dochterblazen.“
21	m. 36 j.	Deventer	Longechinoc.	7	„Bij operatie en sectie een echinoc. blaas in de linker long gevonden.“
22	m. 48 j.	den Haag	Miltechinococcus	> 10	„Bij operatie gevonden een blaas i. d. lever en een aantal inoperabele echinoc. blazen i. h. bekkenweefsel.“

* Zie Tijdschr. v. Geneesk. 1922. I. Nr. 5 blz. 460.

** Zie Tijdschr. v. Geneesk. 1922. I. Nr. 5 blz. 471.

b. Serumonderzoek, nadat operatie of punctie hadden plaatsgevonden:

Nr.	Geslacht en leeftijd	Woonplaats	Diagnose	Compl. b. index	Bijzonderheden, enz.
23	vr. 35 j.	Utrecht	Echinoc. in abdomen (recidieve?)	> 10	„Patiënte is vorig jaar geopereerd aan echin. v/h peritoneum. Rectaal is nu weer een tumor voelbaar.“
24	m. 25 j.	Friesland	pat. nr 18	> 10	6 dagen na operatie (zie nr. 18 Tabel A, a).
25	m. 31 j.	Friesland	pat. nr. 14	4,5	„9 maanden na operatie „duidelijke eosinophilie“ (zie nr. 14 Tabel A, a)“
26	idem			> 3,5	„14 maanden na operatie „klinisch geen echinococcosis meer aanwezig.“
27	vr. 33 j.	Amsterdam	tumoren in de buik	> 10	„2 weken geleden zijn bij operatie multiële echinococcuscysten i/h peritoneum en i/d lever aangetroffen en ten-deele daaruit verwijderd.“ Praecipitatie-reactie met echin. vloeistof zwak + (bij loupevergroting).
28	idem			> 10	5 maanden later
29	vr. 34 j.	Amsterdam		2,5	„Een jaar geleden is een echinococcus-blaas uit de lever geëxstirpeerd.“
30	vr. 12 j.	Rotterdam		6	„Nov. 1916: compl. b. r. +. eosinophilie v/h bloed 13 %. Daarna geopereerd: sinaasappelgrootte monoloculaire echin. blaas, veretterd. Rechterleverkwab zeer groot (vicarieerende hypertrophie?) Febr. 1917: eosinophilie 4 %. April 1917: compl. b. reactie sterk +; eosinophilie 7,2 %. Mei 1917: compl. b. r. idem, eosinophilie 19,6 %. Nov. 1917: compl. b. r. idem, eosinophilie 8 %. Mrt 1918: compl. b. r. idem, eosinophilie 18 %. Jan. 1921: compl. b. r. index 6. eosinophilie 10 %. Geen fysieke afwijkingen te vinden“ (verkort ziekteverslag van Dr. C. G. Vervloet)
31	m. 25 j.	Zeist	Fistel uit echinoc. blaas	0	19 maanden geleden compl. b. r. echinoc. sterk positief. Door operatie daarna echin. cyste uit de lever verwijderd. In de operatiewond is een fistel overgebleven.

Aanhangsel

c. Sera van menschen, bij wie zeer waarschijnlijk echinococcose bestond:

Nr.	Geslacht en leeftijd	Woonplaats	Diagnose	Compl. b. index	Nadere bijzonderheden
1	m. 27 j.	Rotterdam	Echin. of dermoid cystev/h mediastinum	7	WR — SG —.
2	vr. 65 j.	Amsterdam	Echin. of. dubbelzijdige cystennier	8,5	„Twee symmetrische zeer groote tumoren, waarvan 1 beweegelijk; links boven de symphysis en rechts naast de uterus (p. vagin.) nog een tumor.“
3	m. 32 j.	Leeuwarden	Echinoc. hep.	> 10	„Groote tumor in de lever“
4	?	Amsterdam	tumor mediastini	> 10	(met 4 verschillende antigenen > 10). praecipitatie reactie +
5	m. 46 j.	Utrecht	gepuncteerde echin. blaas i/d long.	> 10	„Na punctie is de tumor verdwenen. waarna gangreneuse pneumonie optreedt.“ 5 maanden later compl. b. r. echin. nog. + > 10. Aantal eosinophile cellen sterk verhoogd.
6	vr. 43 j.	Harlingen	Echinoc. in Abdomen	> 10	Praecipitatieproef met echinoc. vloeistof positief. 28% eosinophile cellen in het bloed. „Pate heeft urticaria. In de faeces geen wormeieren of proglottiden te vinden. Klinisch pleit alles voor echinoc. Plaats der localisatie is onbekend.“ WR — SG — DM —.

Tabel B.

Sera van Menschen, verdacht van Echinococcosis, bij wie echter geen Echinococcus aanwezig bleek te zijn.

Nr.	Geslacht en Leeftijd	Diagnose	Compl. bind. index	Nadere bijzonderheden
1	vr. 59 j.	Leverechinococcus	0	WR—SG—DM— „Sectie: geen echinococcus gevonden.“
2	m. 40 j.	„	1	MR—SG— „operatie: geen echin. gevonden“
3	m. 44 j.	Echinoc. i. abdomen.	0	WR—SG— „operatie: carcinoma duodeni“
4	m. 33 j.	buiktumor	0	WR—SG— „operatie: geen echin.; wel maligne tumor.
5	vr. 49 j.	Echinocc. v/d milt	1	WR—SG— „operatie: geen echin. gevonden“.
6	vr. 58 j.	Echinococcose	0	WR—SG— „ „ „ „
7	vr. 16 j.	Echinoc. v/d nier	3	WR— „operatie: hydronephrose“.
8	vr. 41 j.	Gumma? echinococ. cyste? dermoidcyste? v/d recht. long.	2	WR vroeger + 4, geen eosinophilie v/h bloed WR thans —; „operatie: dermoidcyste gevonden“.
9	vr. 52 j.	?	0	WR—SG—; verdere klinische waarneming pleit tegen echinococcose.
10	vr. 57 j.	?	0	WR—SG—; „ „ „ „
11	m. 50 j.	Echinoc. v/d long.	0	WR—; „ „ „ „
12	m. 28 j.	Echinoc. v/d lever	0	WR—SG— „tropisch leverabsces.“
13	vr. 52 j.	„ „ „	0	RW— „verdere klin. waarneming pleit tegen echinococcose
14	m. 69 j.	„ „ „	0	WR—SG— „sectie: carcinoma hepatis.“
15	vr. 6 j.	?	1,5	geringe eosinophilie; „verdere klin. waarneming pleit tegen echinococcose.“
16	m. 8 j.	Echinoc. hepatis	3	„operatie: geen echinococ. gevonden.“
17	m. 18 j.	Echinoc. pulm.	0,5	WR—SG— „verdere klin. waarneming pleit tegen echinococcose.“
18	m. 39 j.	Echinoc. hepatis	0	WR—SG— „ „ „ „
19	m. 60 j.	Lues of echinoc.	3	WR+ > 6, SG ++; „syphilis“

Nr.	Geslacht en Leeftijd	Diagnose	Compl. bind. index	Nadere Bijzonderheden
20	vr. 24 j.	Echinoc. of Banti	2	WR + 2 „verdere klin. waarneming pleit tegen echinococcose.“
21	m. 27 j.	Leverlijden	2	„geen echinoc. dysenterieamoeben en cysten gevonden.“
22	m. 26 j.	Urticaria door echinoc.	0	WR— SG— „verdere klin. waarneming pleit tegen echinococcose.“
23	m. 40 j.	Lues of echin. hepatitis	1	WR— SG— „operatie: carcinoma hepatitis.“
24	vr.	Zeer groote lever.	2	WR + 2, SG— „sectie: geen echinoc. gevonden.“
25	?	Levertumor	1,5	WR— „operatie: geen echinococ. gevonden.“
26	m. 66 j.	Lues of echinococ. hepatitis	0	WR— SG— „verdere klin. waarneming pleit tegen echinococcose.“
27	m. 38 j.	„	0	WR— SG— „ „ „ „
28	m. 20 j.	„	0	WR— SG— „operatie: geen echinoc. gevonden.“
29	vr. 66 j.	Echinococ. hepatitis	0	WR— „ „ „ „
30	vr. 12 j.	Lues of echinococ.	0	WR— SG— „verdere klin. waarneming pleit tegen echinococcose.“
31	m. 17 j.	Echinococ. pulmon.	0	WR— „verdere klin. waarneming: t. b. c. pulmonum.“
32	m. 39 j.	Echinococ. hepatitis	2	WR + 1 SG— „verdere klin. waarneming pleit tegen echinococcose.“
33	vr. 59 j.	„	0	WR— SG— „operatie: carcinoma hepatitis.“
34	m. 40 j.	Echinoc. hepatitis	2	WR— SG— „operatie: geen echinococcus-blaas gevonden.“
35	vr. 32 j.	Lues of echinoc. hepatitis	0	WR— SG— „ „
36	m. 15 j.	Echinoc. hepatitis	0	WR + >6, SG ++ „syphilis congenitalis; verdere klin. waarnem. pleit tegen echinococ.“
37	m. 19 j.	Echinoc. pulmonis	0	WR— SG— „verdere klinische waarneming: bronchiectasien, emphysema pulmonum.“
38	m. 18 j.	Echinoc. of lues	4	WR + 1, SG— „verdere klinische waarneming pleit tegen echinococcose.“ Het Serum bevat veel galkleurstoffen

Nr.	Geslacht of Leeftijd	Diagnose	Compl. bind index	Nadere bijzonderheden
39	m. 23j.	Echinoc. of lues	0	WR— SG— „verdere klinische waarneming pleit tegen echinococcus.“
40	m. 6j.	„ pulm.?	2	WR + 1, SG— „verdere klin. waarneming pleit voor tbc. pulmonum.“
41	m. 40j.	„ renis?	0	WR— SG— „door sectie gebleken, dat geen echinoc. bestond.“
42	m. 37j.	„ hepatis	0	WR— SG— „ „
43	vr. 6j.	„ pulm.?	4,5	„waarschijnlijk geen echinoc. Patientje heeft zeer veel ascariden.“
44	m. 32j.	Taeniasis	5	in de faeces proglottiden van Taenia saginata gevonden.
45	m. 35j.	„	4,5	„ „
46	m. 50j.	Longechinococcus	0	WR + 1, SG — Bij verdere klinische waarneming blijkt geen echinococcose te bestaan. Longabsces en bronchiaalcavernen.

Tabel C.
123 Menschelijke Contrôlesera:

Aantal	sera	Luesreacties		Compl. b. index met echinoc. vloeistof.
		WR	SGR	
62	sera	—	—	0
8	"	—	—	0,5
6	"	—	—	1
2	"	—	—	1,5
1	serum	—	—	3
3	sera	+ 1	—	0
2	"	+ 1	+	0
1	serum	+ 1	+	0,5
2	sera	+ 1	+	2
3	"	+ 2	+	0
1	serum	+ 2	+	1
1	"	+ 2	+	2,5
1	"	+ 2	+	3
1	"	+ 3	+	2,5
1	"	+ 3	+	3
2	sera	+ 4	+	2
1	serum	+ 4	+	3,5
2	sera	+ 5	+	2,5
2	"	+ 5	+	5
1	serum	+ 5	+	6,5
1	"	+ 6	+	2,5
1	"	+ 6	+	4
1	"	+ 6	+	6,5
2	sera	+ 6	+	10
1	serum	+ > 6	+	0
1	"	+ > 6	+	0,5
1	"	+ > 6	+	1
1	"	+ > 6	+	2
2	sera	+ > 6	+	6
2	"	+ > 6	+	8
2	"	+ > 6	+	> 10
1	serum	+ 8	+	3
1	"	+ 10	+	5
1	"	+ 10	+	7,5
2	sera	+ 10	+	> 10

Tabel D.

Sera van Dieren, bij wie Echinococcose (E. unilocularis) aanwezig was:

Nr.	Diersoort	Compl. b. index	Sectiebevindingen:
1	rund	> 10	i/d long 1 dunwandige blaas, $\pm$ 12 cm doorsnede, fertiel.
2	"	10	i/d long 1 dunwandige blaas, $\pm$ 100 cm ³ inhoud, steriel.
3	"	8,5	i/d long 1 dunwandige blaas, $\pm$ 40 cm ³ inhoud, steriel.
4	"	8,5	i/d long 2 kleine dunwandige blazen, een fertiel en een steriel.
5	"	7	i/d long 6 dunwandige blazen, $\pm$ 5 cm doorsnede, steriel.
6	"	6	i/d long 1 veretterde en een kleine dunwandige steriele blaas.
7	"	5,5	i/d long 5 dunwandige blazen, tendeele necrotisch, steriel.
8	"	5,5	i/d lever 2 kleine dunwandige blazen, steriel; matig sterke leverdistomatosis.
9	"	5	i/d long 5 dunwandige blazen, steriel.
10	"	5	i/d long 1 groote en 7 kleine dunwandige cysten, steriel.
11	"	5	i/d long zeer veel erwt—tot eendeneigroote, dunwandige steriele blazen, sommige in verval.
12	"	4,5	i/d long 1 kleine dunwandige blaas, steriel.
13	"	4,5	i/d long en i/d lever, veel kleine dunwandige cysten, steriel.
14	"	4	i/d long 2 dunwandige blazen, $\pm$ 8 cm doorsnede, steriel.
15	"	2,5	i/d long 6 erwt—tot kastanjegroote dunwandige steriele blazen en een groote cyste met kazige etter.
16	"	1,5	i/d long 3 dunwandige blazen, $\pm$ 8 cm doorsnede, fertiel.
17	"	0	i/d long 1 dunwandige blaas, $\pm$ 10 cm doorsnede, steriel.

Nr.	Diersoort	Compl. b. index	Sectiebevindingen:
18	paard	> 10	i/d lever 3 dikwandige blazen, fertiel.
19	"	> 10	i/d lever 2 dunwandige blazen, $\pm$ 10 cm doorsnede, fertiel.
20	"	> 10	i/d lever 4 blazen, matig dikke wand, $\pm$ 200 cm ³ inhoud, fertiel,
21	"	> 10	i/d lever 3 blazen, matig dikke wand, $\pm$ 12 cm doorsnee, fertiel.
22	"	> 10	i/d lever 1 blaas, matig dikke wand, fertiel. 150 cm ³ inhoud en 1 blaas met purulenten inhoud en ten-deele verkalkte kapsel.
23	"	> 10	Genezen van Dourine met „205 Bayer.“ In lever, milt en nieren talrijke fertiele echinococcusblazen.
24	"	10	i/d lever 4 dikwandige en 4 dunwandige blazen, totaalinhoud 650 cm ³ , fertiel.
25	"	10	i/d lever 5 blazen, matig dikke wand, $\pm$ 8 cm doorsnede, fertiel.
26	"	9	i/d lever 3 blazen, matig dikke wand, $\pm$ 300 cm ³ inhoud, fertiel.
27	"	8,5	i/d lever 2 groote blazen met gedegenerende wanden, (met exogene dochterblazen) totaalinhoud 950 cm ³ , fertiel.
28	"	8,5	i/d lever 2 fertiele blazen, matig dunne wand.
29	"	8,5	i/d lever 4 blazen, dikke wand, $\pm$ 8 cm doorsnede, fertiel.
30	"	8	i/d lever 12 aardappelgroote dikwandige cysten, steriel.
31	"	8	i/d lever 5 dikwandige blazen $\pm$ 6 cm doorsnede, fertiel.
32	"	7,5	i/d lever 4 dunwandige blazen $\pm$ 8 cm doorsnede, fertiel.
33	"	7,5	i/d lever 3 blazen, matig dikke wand, $\pm$ 6 cm doorsnede, fertiel.
34	"	7,5	i/d lever 2 blazen, dikke, tendeele verkalkte wanden, $\pm$ 250 cm ³ inhoud, fertiel.
35	"	7	i/d lever 1 blaas met dikke wand en 1 blaas met verkalkte kapsel, inhoud $\pm$ 200 cm ³ , fertiel.

Nr.	Diersoort	Compl. b. index	Sectiebevindingen:
36	paard	6,5	i/d lever 3 blazen, matig dikke wand, ± 8 cm doorsnede, fertiel.
37	„	6,5	i/d lever 4 blazen, matig dikke wand, fertiel, totaal-inhoud ± 150 cm ³
38	„	6,5	i/d lever 3 blazen, matig dikke wand, ± 10 cm doorsnede, fertiel.
39	„	4,5	i/d lever 6 blazen, matig dikke wand, fertiel.
40	„	4	i/d lever 1 sinaasappelgroote en 1 erwtgroote dunwandige cyste, steriel.
41	„	4	i/d lever 2 dikwandige blazen, ± 8 cm doorsnede, fertiel.
42	„	3*	i/d lever multipele blazen, dikke kapsel, fertiel.
43	„	2,5	i/d lever 1 dikwandige menschenhoofdgroote blaas en een kinderhoofdgroote blaas, gevuld met dochterblazen, fertiel.
44	schaap	6	i/d lever 1 blaas, nootgroot, met gedegenereerden inhoud, leverdistomatosis en enkele strongylusknobbeltjes i/d longen.
45	varken	0	i/d lever 1 kleine afgestorven blaas. (het serum werkte sterk haemolytisch).

* praecipitatiereactie +

Tabel E.

Sera van Dieren, Niet lijdende aan Echinococose.

Nr.	Diersoort	Compl. b. index	Nadere bijzonderheden.
1	stier	2	
2	koe	0	
3	"	0	
4	"	0	
5	"	0	
6	"	0	
7	"	0	vrucht in de uterus.
8	"	2	" "
9	"	3	" "
10	"	3	" „ uitgebreide leverdistomatosis.
11	"	1	" „ leverdistomatosis.
12	"	> 10	uitgebreide leverdistomatosis (oude en jonge processen).
13	"	0,5	
14	"	2	
15	"	4,5	
16	"	2	afgekapseld absces in de longen
17	"	0,5	
18	"	3	
19	"	0,5	
20	"	1	uitgebreide tbc van longen en lymphklieren.
21	"	0	longtbc; afgestorven cysticercus inermis in de kauwspieren.
22	"	0	vrij sterke leverdistomatosis
23	"	0	algemeene tbc.

Nr.	Diersoort	Compl. b. index	Nadere bijzonderheden.
24	koe	0	tbc van longen, pleura en lymphklieren.
25	"	0	algemeene tbc.
26	"	0	vrij uitgebreide leverdistomatosis.
27	paard	0,5	
28	"	0,5	groot wormaneurysma in de buikaorta.
29	"	0	" " " " "
30	"	0	
31	"	1,5	
32	"	0,5	
33	"	2	
34	"	1,5	
35	"	3,5	malleus; compl. b. reactie met malleusantigeen sterk +.
36	"	> 10	verschillende kleine verkalkte parasitaire haardjes in de lever.
37	"	4	
38	"	2,5	
39	"	0	
40	"	0	
41	"	0,5	
42	"	2	
43	"	1,5	
44	"	0	
45	"	0	
46	"	3,5	veel ascariden in den darm.
47	"	0,5	
48	"	2,5	

Nr.	Diersoort	Compl. b. index	Nadere bijzonderheden.
49	paard	> 10	Nagana, met „205 Bayer“ genezen (geen sectie verricht) WR—, SG—, DM—.
50	schaap	> 10	Uit de proefstallen v/h Inst. v. Par. en Inf. ziekten der V. H. S.
51	„	> 10	„
52	„	> 10	„
53	„	> 10??	(sterk eigen remmend vermogen v/h serum), weidedier.
54	„	> 10??	„
55	„	3,5	beiderzijdsche lobaire pneumonie door strongylus-larven.
56	„	2	enkele verspreide strongylusknobbeltjes in de longen
57	„	1,5	slechts enkele „
58	„	6,5	enkele strongylusknobbeltjes in de longen, uitgebreide leverdistomatosis.
59	„	1,5	enkele strongylusknobbeltjes in de longen, geringe leverdistomatosis.
60	„	10	enkele strongylusknobbeltjes in de longen, vrij sterke leverdistomatosis.
61	„	4,5	talrijke strongylusknobbeltjes in de longen, geringe leverdistomatosis.
62	„	10	geen strongylusknobbeltjes in de longen, vrij sterke leverdistomatosis.
63	„	7,5	veel strongylusknobbeltjes in de longen, uitgebreide leverdistomatosis.
64	„	3	zeer veel strongylusknobbeltjes in de longen, enkele distomen in de lever.
65	„	8,5	enkele strongylus knobbeltjes in de longen, vrij sterke leverdistomatosis.
66	„	7,5	enkele strongylusknobbeltjes in de longen; geringe leverdistomatosis.
67	„	9	zeer veel strongylusknobbeltjes in de longen; geringe leverdistomatosis en cysticercosis.

Nr.	Diersoort	Compl. b. index	Nadere bijzonderheden.
68	schaap	8,5	enkele strongylusknobbeltjes in de longen; geen fasciola in de lever; cysticercosis.
69	"	8	verschillende strongylusknobbeltjes in de longen, uitgebreide leverdistomatosis.
70	"	8	enkele strongylusknobbeltjes in de longen; uitgebreide leverdistomatosis.
71	"	5,5	verscheidene strongylusknobbeltjes in de longen; uitgebreide leverdistomatosis.
72	"	5,5	geen strongylusknobbeltjes in de longen; geen leverdistom., wel cysticercosis.
73	"	4,5	geen strongylusknobbeltjes in de longen; geringe leverdistomatosis.
74	"	7	enkele strongylusknobbeltjes in de longen; geringe leverdistom.; cysticercosis.
75	"	6	geen strongylusknobbeltjes in de longen, geen distomatosis, wel levercysticercosis.
76	"	7	veel strongylusknobbeltjes in de longen, geringe leverdistomatosis, en cysticercosis.
77	"	8,5	enkele strongylusknobbeltjes in de longen, geringe leverdistomatosis.
78	"	3	parasieten vrij opgefokt a/h Inst. voor Paras. en Inf. Ziekten der V. H. S.
79	geit	1,5	"
80	"	6	"
81	"	3	"
82	"	5	"
83	"	1,5	"
84	"	1	"
85	"	1	"
86	veulen	2	"
87	"	7	14 dagen geleden subcutaan geïnfecteerd met larven van Strongylus edentatus.

Nr.	Diersoort	Compl. b. Index	Nadere bijzonderheden.
88 t/m 101, 14 varkens		0	alle 14 varkens hadden ascariden.
101 t/m 104, 4 cavia's		0	
105	cavia	0	tbc van longen, milt, lever (6 weken oud proces).
106	"	0	trichinosis (4 weken oud proces).
107	konijn	> 10	WR + 4, cysticercus pisiformis in het omentum.
108	"	> 10	WR + 2, "
109	"	> 10	WR + 4, "
110	"	> 10	WR + 4, "
111	"	> 10	WR + 3, geen sectie verricht.
112	"	9	WR + 2, "
113	"	> 10	WR + 2, "
114	"	> 10	WR + 5, konijnenspirochaetose (lues cuniculi).
115	"	8	WR + 2, "
116	"	> 10	WR + 3, "

Uit deze gegevens blijkt, dat bij sera van menschen met echinococcose, vóór het chirurgisch ingrijpen, werden gevonden (tabel A):

15 maal index	> 10
1 maal index	9
2 maal index	7
1 maal index	5,5
1 maal index	2,5
1 maal index	1,5
1 maal index	0,5

De complementbindingsindex met 121 andere sera, afkomstig van niet aan echinococcose of lues lijdende menschen, bedroeg slechts 1 maal 4,5, éénmaal 4 (dit serum bevatte veel galkleurstoffen), 4 keer was zij = 3 en in alle overige gevallen nog geringer (Tabel B en C). — (Het eerst genoemde serum was afkomstig van een meisje, verdacht van echinoc. pulmonis. Het pleuravocht van pat. gaf een complementbindingsindex 5. De diagnose bleek later minder waarschijnlijk. Van belang is, dat het kind zeer veel ascariden herbergde).

Onder deze negatief reageerende sera waren er, afkomstig van lijders aan carcinoma, dermoidcyste, tropisch leverabsces, amoebendysenterie, hydronephrose, tuberculose en emphysema pulmonum. Bij lues (tabel C) daarentegen werd herhaaldelijk een hogere index behaald.

Hoewel niet alle volgens Wassermann en Sachs-Georgi positief reageerende sera een sterke complementbindingsreactie met echinococcusvloeistof gaven, zoo is er toch een duidelijk toenevend reactievermogen met dit antigeen merkbaar bij stijging van den Wassermannindex. Van 41 van syphilislijders stammende sera gaven 16 met de complementbindingsreactie voor echinococcose een index van 5 of > 5 .

Uit het voorgaande moge worden besloten, dat menschelijke sera, die een complementbindingsindex met echinococcusvloeistof van 5 of > 5 vertoonen naast een negatieve WR. en SGR., afkomstig zijn van lijders aan echinococcosis.

Omdat rekening moet worden gehouden met de mogelijkheid van een verwantschapsreactie bij aanwezigheid van Taeniae (de sera nr. 44 en 45 Tab. B., van lintwormdragers gaven met echinoc. vloeistof een complementbindingsindex 5 en 4,5) of Fasciola,

moet, indien zulks mogelijk en wenschelijk is, steeds onderzoek naar proglottiden of eieren in de faeces plaats vinden naast de serumreactie. Ook bij aanwezigheid van ascariden moet de uitslag der reactie slechts onder zeker voorbehoud worden aanvaard.

Van 22 sera van menschen, die echinococcen herbergden, (Tabel A, a), reageerden 19 positief, voordat operatie of punctie was verricht (Opmerkelijk is, dat 15 dezer 22 echinococcendragers in Friesland woonden, de overige in Groningen, N. en Z.-Holland, N. Brabant en Gelderland.) Bovendien werd met nog 5 sera van op echinoc. verdachte menschen een sterk positieve uitkomst verkregen; een nadere bevestiging van den behandelenden arts mocht ik omtrent deze gevallen echter nog niet ontvangen (Tabel A, c).

De complementbindingsreacties met sera van echinoc.-draggers bij wie een chirurgisch ingrijpen reeds had plaatsgevonden waren als volgt (Tabel A, b): Eén serum, dat vóór de operatie niet onderzocht werd, bezat zoowel 2 weken, als 5 maanden daarna een complementbindingsindex > 10 ; een ander 1 jaar na operatie 2,5; een derde na 4 jaar en 2 maanden een index van 6; en nog een ander serum reageerde na 19 maanden in het geheel niet meer. Een serum, dat voor de operatie een index > 10 had, kreeg na 9 maanden 4,5 en na 14 maanden 3,5. Ook is nog van belang een serum, dat vóór de operatie slechts 2,5 en reeds 6 dagen daarna > 10 als complementbindingsindex kreeg met dezelfde antigenen. — Tenslotte is nog te vermelden een reactie met index > 10 van een patiente, bij wie een jaar geleden echinococcusblazen uit het peritoneum waren verwijderd en bij wie nu weer een tumor rectaal voelbaar was. Of deze positieve reactie te danken was aan een nieuwontwikkelde of achtergebleven blaas, danwel of zij nog bestond, dank zij de vroegere aanwezigheid der cysten is niet uit te maken.

Hiermede worden dus de waarnemingen bevestigd, dat niet alle sera van echinoc.-draggers positief reageeren, dat de reactie in dergelijke sera snel kan optreden na operatie en dat de antistoffen soms min of meer snel uit het bloed kunnen verdwijnen, andere malen lang daarin aanwezig kunnen blijven (zie o. a. Tabel A, geval 30).

Het totaal afwezig zijn van antistoffen in geval 11 tabel A, waar een enorme echin.-blaas van 3 kg bij operatie gevonden werd, is wellicht in verband te brengen met het feit, dat van het

miltweefsel zoo goed als niets meer aanwezig was. De milt zal, volgens verschillende onderzoekers nl. (o. a. Hektoen en Curtis, 1915) een belangrijk aandeel hebben bij de antistofvorming; milttextirpatie doet de vorming dezer stoffen sterk afnemen.

Een verband tusschen grootte en aantal der echinoc.-cysten en het reactievermogen van het serum viel niet waar te nemen, zoomin bij den mensch als bij de huisdieren.

Bij runderen, niet lijdende aan echinococcosis, werd één keer een complementbindingsindex van 4,5 aangetroffen, de overige sera behaalden een kleineren index. Een rund met uitgebreide distomatosis hepatis gaf zeer sterke complementbinding (> 10) met echinococcusvloestof, hetgeen in overeenstemming is met de bevinding van Servantie (1921) bij den mensch.

Echinococcendragende runderen reageerden met echinococcusvloestof als volgt:

Index 0 tot en met 4,5 bij 6 runderen

Index 5 tot en met 10 bij 9 runderen

Index > 10 bij 1 rund.

Hierbij is buiten beschouwing gelaten het serum van een rund, dat behalve echinoc. ook distomatosis hepatis had en waarmee een complementbindingsindex 5,5 werd bereikt.

Stellen wij als grensgetal voor de specifieke complementbindingsreactie bij het rund 5, dan hebben 10 der 15 sera van runderen met echinococcosis positief gereageerd.

Van de 23 paarden- en 2 veulensera, afkomstig van niet echinococcusdragende dieren, behaalden slechts drie een complementbindingsindex, hooger dan 4. Een dezer sera stamde van een paard, waarbij in de lever talrijke erwtgrootte verkalkte parasitaire haardjes gevonden werden (gallicosis nodosum); het andere kwam van een veulen, dat 14 dagen tevoren experimenteel subcutaan was geïnfecteerd met sclerostomum-larven, dus waar ruimschoots gelegenheid had bestaan antistoffen tegen parasitaire substanties te vormen. Bovendien gaven 2 sera van paarden met genezen trypanosomiasis (Dourine en Nagana) een sterke complementbindingsreactie (> 10) met echinococcusvloestof, terwijl de luesreacties (Wassermann, Sachs-Georgi en Meinicke) negatief uitvielen. Bij sectie van het aan Dourine lijdende paard

werd echter later een uitgebreide echinococcosis aangetroffen; op het Nagana-paard werd geen obductie verricht.

De sera van echinococcusdragende paarden behaalden de volgende indices voor complementbinding:

Index 0 tot en met 4,5: 5 maal

Index 5 tot en met 10: 15 maal

Index > 10 : 6 maal.

Houden wij ook hier vast aan de grenswaarde voor de op echinococcosis wijzende complementbindingsindex van 4,5, dan gaven 21 der 26 paardensera een positieve reactie.

Het serum van een schaap, dat behalve echinococcus ook distomen en strongyliden herbergde, gaf een complementbindingsindex met echinococcusvloeistof van 6.

Contrôlesera van schapen, die vrij waren van echinococcose behaalden de volgende indices:

Index 0 tot en met 4,5 bij 8 schapen

Index 4,5 tot en met 10 bij 15 schapen

Index > 10 bij 5 schapen.

Deze hoge waarden der onspecifieke complementbindingsreactie met echinococcusvloeistof, moeten m. i. worden toegeschreven aan de talrijke parasitaire aandoeningen waaraan schapen in den regel lijden. Zooals uit tabel E blijkt, komt deze complementbinding voornamelijk voor bij sera van dieren, die Fasciola of Cysticercus herbergen, hoewel blijkbaar ook aan Strongylus een invloed op de bindingsreactie toekomt.

Van 6 sera van parasietenvrij opgefokte geiten gaven 2 sera een complementbindingsindex $> 4,5$ (nl. 5 en 6); de oorzaak van deze binding kan ik niet bepalen. Sectie werd bij deze dieren niet verricht.

Vijftien varkenssera, waarvan één afkomstig was van een dier met een kleine afgestorven echinococcus in de lever, vertoonden alle geen spoor van complementbinding met echinococcusvloeistof. Opmerkelijk was, dat al deze varkenssera (soms vrij sterk) haemolyseerend vermogen bezaten, t. o. v. schapenroode bloedcellen.

Zes caviaseren waarvan er één stamde van een dier met trichinosis, gaven geen complementbinding met echinococcusvloeistof.

Alle 10 onderzochte konijnensera, waaronder 3 afkomstig van dieren met konijnenspirochaetose (lues cuniculi), gaven met echinococcusvloeistof een zeer hoogen complementbindingsindex; bij vier dezer dieren werd sectie verricht, waarbij veel *Cysticerci pisiformes* in het omentum werden aangetroffen. Het veelvuldig voorkomen van dezen blaasworm bij het konijn, waarop deze onspecifieke reacties waarschijnlijk terug te voeren zijn, maakt dit dier als proefobject voor het experimenteele echinococcusonderzoek ongeschikt. De coccidien, die, hoewel dit in den laatsten tijd bestreden is (Marcuse, 1921), herhaaldelijk voor de positieve Wassermannreactie bij konijnensera aansprakelijk gesteld zijn (Blumenthal 1908, Calcaterra 1911, Kuszinski 1921), kunnen wellicht ook nog hun invloed op het reactievermogen van deze sera met echinococcusvloeistof doen gelden.

Noem ik de reacties met index $> 4,5$: pos. en $< 4,5$ neg., dan waren deze als volgt verdeeld:

Complementbindingsreactie:

Echinoc. blaas met dikken wand: pos. met 6 sera v. h. Paard			
"	"	"	neg. " 2 "
"	"	matig dikk. w.	pos. " 10 "
"	"	"	neg. " 2 "
"	"	dunnen wand	pos. " 3 " en 10 sera v. h. Rund
"	"	"	neg. " 1 " " 6 "
"	"	gedegeneerde wand	pos. " 1 "
Fertiele echinoc. blaas			
"	"	"	pos. " 20 " " 2 "
"	"	"	neg. " 4 " " 1 "
Steriele " "			
"	"	"	pos. " 1 " " 9 "
"	"	"	neg. " 1 " " 5 "

Hoewel aan de uitkomsten van dit betrekkelijk gering aantal onderzoekingen geen absolute waarden kunnen worden gehecht, zoo is toch uit bovenstaande tabel wel af te lezen, dat, zoowel bij dikken als bij dunnen wand, bij fertiele en steriele blazen het aantal positieve reacties der bij deze blazen behorende sera van paard en rund het getal der negatieve overtreft. (Verder bedenke men, dat bij steriele cysten meestal dunne, bij fertiele dikke of matig dikke wanden werden aangetroffen).

Uit deze vergelijkende onderzoekingen is dus gebleken, dat bij den mensch een groot aantal sera van echinococcendragers een sterke complementbindingsreactie met echinococcusvloeistof

vertoont. Enkele sera gaven een negatieve complementbindingsreactie, die na punctie of extirpatie der cysten sterk positief werd.

Bij huisdieren met echinococcosis en voornl. bij het rund, werden in het algemeen minder sterke complementbindingsreacties aangetroffen dan bij den mensch; ook het aantal der positieve uitkomsten was bij de sera dezer dieren geringer. De verklaring, die Weinberg hiervoor geeft (blz. 53), is m. i. onaannemelijk. De insulten, waaraan onze huisdieren blootstaan, zullen niet minder veelvuldig of hevig zijn dan die, welke den mensch kunnen treffen. Ook het verschil in leeftijd is niet ter verklaring te aanvaarden. Bij 2 zeer oude slachtpaarden (ruim 20 jaar) met uitgebreide echinococcose vond ik een negatieve complementbindingsreactie, terwijl, in de gevallen 2, 10, 16 en 30 van tabel A, positieve reacties werden aangetroffen bij kinderen van resp. 13, 10, 11 en 7 jaar.

De Bruin (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1920, II, 9) vermeldt een geval van longechinococcose bij een meisje van 5½ jaar, van wie het serum herhaaldelijk een sterk positieve complementbindingsreactie had vertoond (Wolff).

Wanneer andere parasieten niet aanwezig zijn, dan mag de reactie positief worden genoemd, indien, met de door mij toegepaste techniek de complementbindingsindex minstens 5 bedraagt.

Bij aanwezigheid van *Fasciola*, *Cysticercus*, *Strongylus* en andere parasieten bij de huisdieren en *Taenia*, *Distomum* (en *Ascaris*?) bij den mensch, is een hogere index mogelijk en moet de uitkomst der reactie onder voldoende voorbehoud worden geaccepteerd.

Zeer in het bijzonder geldt dit ook voor sera van luetici. Voor elk op echinococcosis te onderzoeken menschen serum diene daarom als eisch te worden gesteld, dat steeds daarnaast Wassermann- en Sachs-Georgireactie worden verricht.

Voor de diagnostiek van Echinococcosis bij den mensch is de complementbindingsreactie, onder inachtneming van de zoeven genoemde voorzorgen, een zeer waardevol en betrouwbaar hulpmiddel.

Bij de huisdieren, waar deze reactie veelal minder sterk is en minder vaak positief wordt aangetroffen en waar velerlei andere parasieten, die niet steeds bij het levende dier aan te toonen zijn, de reactie in positieven zin kunnen beïnvloeden, komt haar niet meer dan een ondersteunende waarde toe voor de diagnostiek der echinococcosis.

VI. Samenvatting der eigen onderzoeken en conclusies.

De echinococcusvloeistof reageert alcalisch t. o. v. lakmoes; zij bevat steeds eiwitten, waarvan een deel afkomstig kan zijn van den gastheer. Er bestaat geen verband tusschen het voorkomen van eiwitten en van microorganismen in de echinococcusvloeistof; de echinococcusvloeistof is bijna altijd kiemvrij.

De antigeenwaarde van vloeistoffen uit fertiele echinococcusblazen is veel grooter dan die uit steriele. De oorzaak hiervan is te zoeken in de oppervlaktevermeerdering der parenchymlaag van den blaaswand, tengevolge van de aanwezigheid der broedkapsels. De antigeenvorming heeft plaats in deze parenchymlaag; het antigeen wordt afgegeven aan de vloeistof en aan de cuticula, uit welke wandlaag het weefsel van den gastheer het opneemt, in aansluiting waaraan de antistoffen worden gevormd. De inhoud uit de dochterblazen heeft dezelfde antigeenwaarde als de vloeistof uit de moederblaas.

Zoomin leucine, tyrosine en cholesterine, als de eiwitten van den parasiet zelf en van den gastheer, zijn van belang voor de antigeenwaarde der echinococcusvloeistof. Ook de diersoort en het orgaan, die de blaas herbergden, zijn van geen of zeer geringen invloed op de antigeenwaarde der vloeistof. Door schudden met kaoline wordt, evenals zulks geschiedt bij filtratie door de Chamberlandkaars, de echinococcusvloeistof beroofd van eiwit en antigeen; door niet te langdurige bewerking met colloidaal opgelost of gesuspenderd ijzerhydroxyde wordt alleen het eiwit onttrokken, maar blijft het antigeen aanwezig; bij langduriger behandeling met deze laatste stoffen wordt ook het antigeen vastgehouden. Het antigeen is oplosbaar in alcohol en aether, wordt minder goed in water opgenomen en is bestand tegen een verhitting van minstens 100° C. en afkoeling tot minstens — 17,5° C. Een doelmatige conserveeringsmethode voor de echinococcusvloeistof bestaat in het verhitten daarvan gedurende 1/2 uur in een waterbad op 100° C. Overigens is de echinococcusvloeistof met 0,5% phenol ook langen tijd houdbaar.

Het echinococcusantigeen is een lipode stof of een mengsel van lipoiden; de mogelijkheid, dat een in deze lipoiden opgeloste onbekende substantie een zekere rol speelt, kan niet worden buitengesloten.

Behalve in de echinococcusvloeistof is het antigeen ook aan-

wezig in den parasitairen wand en, in geringe mate, in de broedkapsels, doch niet in de bindweefselkapsel, die de blaas omgeeft. Door voorbehandeling van cavia's met de in alcohol oplosbare deelen van de echinococcusvloeistof en den echinococcuswand, konden antistoffen worden opgewekt, die sterke complementbindingsreactie gaven met de echinococcusvloeistof.

Het echinococcusantigeen is, evenals lipoiden uit andere parasitaire wormen, in staat complementbinding te geven met sera van syphilislijders; deze sera geven zoowel met de echinococcusvloeistof als met de extracten uit den wand een positieve complementbindingsreactie volgens de methode voor het echinococcusonderzoek; de alcoholische echinococcusextracten kunnen de gebruikelijke extracten bij de luesreacties van Wassermann en Sachs-Georgi grootendeels vervangen; ook met de echinococcusvloeistof uit fertiele blazen verloopt de WR. met sera van luetici veelal positief.

Sera van echinococcendragers, niet lijdende aan syphilis, daarentegen hebben steeds negatieve Wassermann- en Sachs-Georgireactie.

Sera van echinococcendragers kunnen, behalve met het homologe antigeen, ook complementbindingsreactie geven met alcoholische extracten uit verschillende parasitaire wormen (*Cysticercus*, *Taenia*, *Fasciola*, *Strongylus*, *Ascaris*), maar niet met extracten uit weefsels van zoogdieren (Wassermannextracten). Draggers van *Taenia*, *Fasciola*, *Strongylus* of *Cysticercus* kunnen ook omgekeerd een positieve complementbindingsreactie vertoonen met echinococcusvloeistof en met het alcoholisch extract uit den blaaswand.

Het serum van een paard met Trypanosomiasis (Nagana) gaf een sterke complementbindingsreactie met echinococcusantigeen.

Er bestaat geen verband tusschen de grootte en het aantal der cysten en de dikte der blaaswanden eenerzijds en het reactievermogen van het serum van den gastheer aan den anderen kant. Het aantal positieve reacties overtreft het aantal negatieve, zoowel bij aanwezigheid van steriele, fertiele, dikwandige of dunwandige blazen.

Voor de diagnostiek van echinococcosis bij den mensch is de complementbindingsreactie een zeer waardevol en betrouwbaar hulpmiddel; bij de huisdieren, waar zij veelal zwakker is en minder vaak positief wordt aangetroffen, komt haar slechts een

ondersteunende waarde daarbij toe. De oorzaak hiervoor is, ten-deele althans, te zoeken in de onspecifieke invloeden, die andere parasieten (voornl. *Fasciola*, *Cysticercus* en *Strongylus*) op de reactie kunnen uitoefenen. — Bij den mensch verrichte men steeds WR. en SGR. naast de echinococcuscomplementbindings-reactie en trachte men eventueel door faecesonderzoek de aanwezigheid van lintwormen uit te sluiten.

Het konijn is als proefdier voor echinococcusonderzoek onbruikbaar, omdat het serum van dit dier spontaan reeds in veel gevallen een sterke complementbindingsreactie vertoont, die waarschijnlijk aan het veelvuldig voorkomen van parasieten (*Cysticercus*, e. a.) bij dit dier is toe te schrijven.

Met gunstig gevolg werd bij al deze onderzoeken gebruik gemaakt van een quantitatieve methode van complementbindings-reactie, waarbij het complement in rekenkundige reeks toenam en waarbij de complementtitreering (voorproef) tegelijk met de hoofdproef werd ingesteld en afgelezen. Aldus was de mate van complementbindend vermogen in indices uit te drukken.

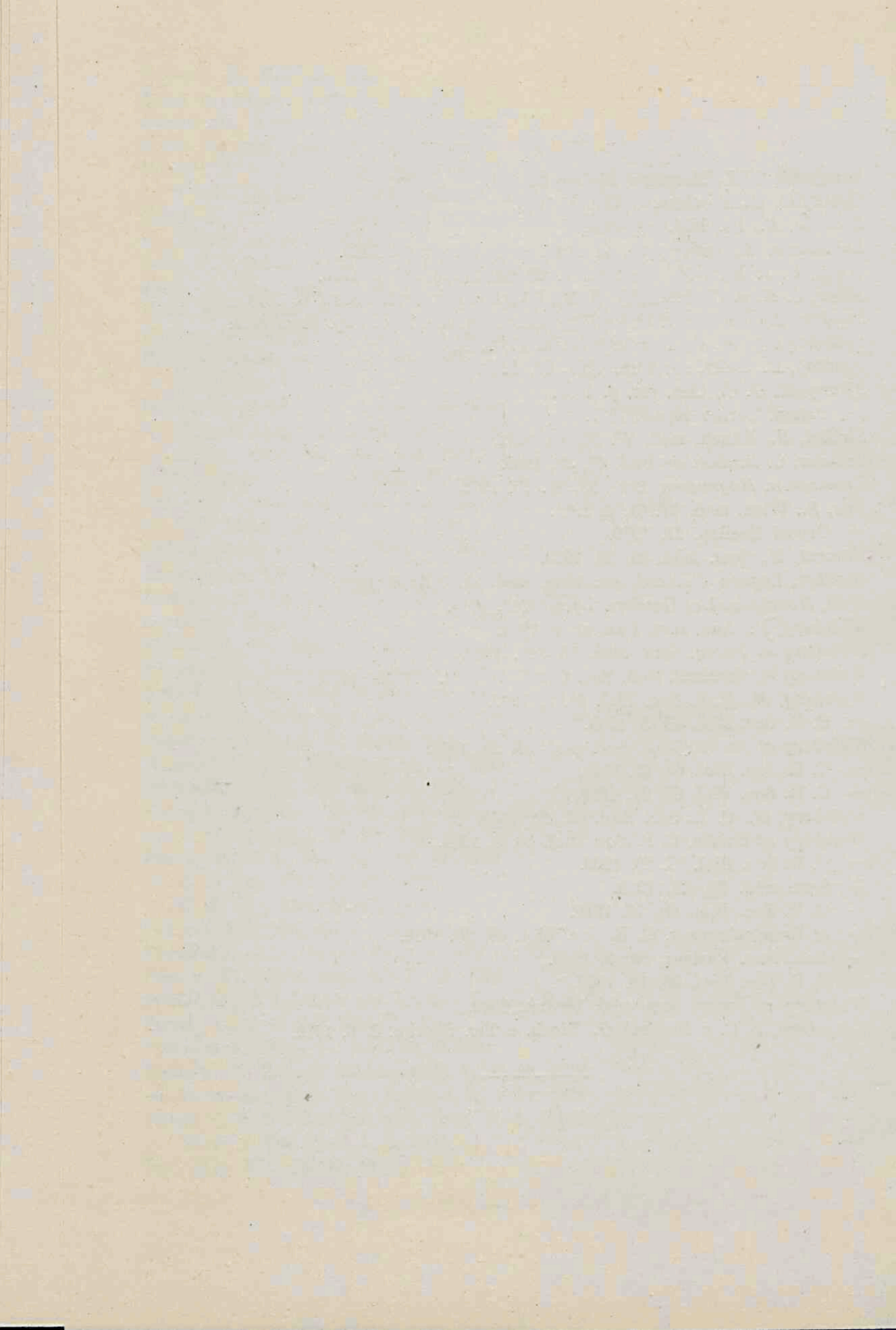
De complementbindingsreactie, die uitsluitend worde uitgevoerd met de versche, op 100° C. verhitte of met 0,5 % phenol geconserveerde vloeistof uit fertiele echinococcusblazen, is eerst positief te noemen boven een bepaalden complementbindingsindex (in de hier toegepaste doseeringen: boven 4,5), onder inachtneming van de zoojuist genoemde voorzorgen.

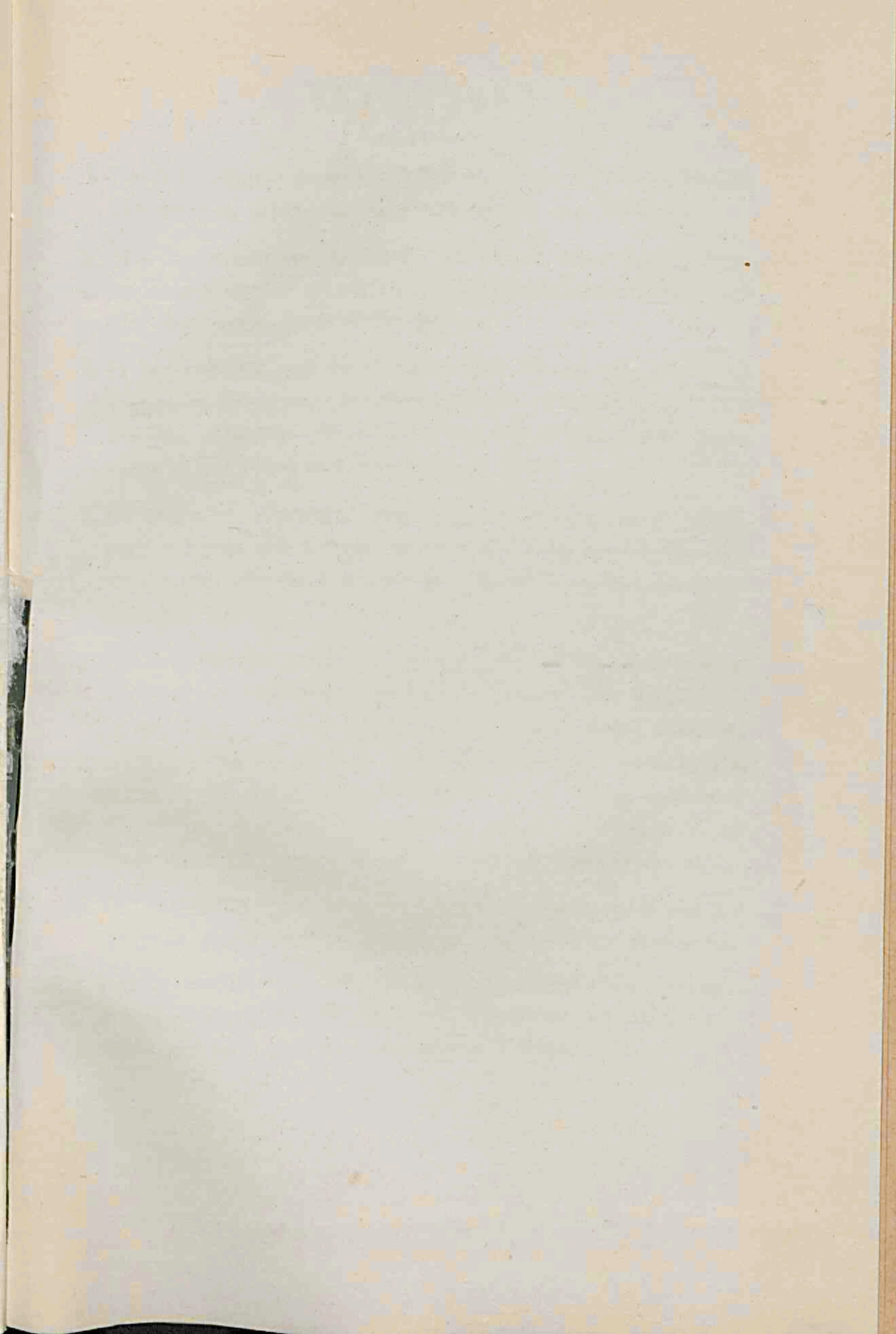
VII. Literatuur omtrent de complementbindingsreactie bij echinococcose.

- Apphatie et Lorentz*, Tribune Méd. 15, 1909.
- Ascoli, A.*, Grundr. d. Serologie, 1921.
- Barsony, Th. u. Egan, Ernst*, Zeitschr. f. klin. Med. 76, 1912.
- Bettencourt, N.*, Soc. scienc. Méd. Lisbonne 27 Avr. 1908.
- Arch. do real Inst. bact. Cam. Pest., 2. 3. 1909.
- C. R. Soc. Biol. 68, 22, 1910
- Arch. Inst. bact. Camara Pestana, 3, 2, 1911.
- Blumenthal, G.*, Berl. klin. W. 58, 36, 1921.
- Brauer, A.*, Münch. Med. W. 58, 20, 1911.
- Deutsch. Med. W. 37, 31, 1911.
- Braunstein, G.*, Wien. klin. W. 23, 31, 1910.
- Orvosi hetilap nr. 1.
- Broca*, Bull. et Mém. Soc. méd. des hôp. 1911.
- Busson, B.*, Zeitschr. f. Bakter. usw. I, Orig. 60, 5, 1911.
- Chauffard, A.*, Semaine méd. 30, 17, 1910.
- Chauffard et Boidin*, Bull. soc. méd. hôp. 6, 1907.
- Chauffard et Vincent, Cl.*, Gaz. des hôp. 1910.
- Bull. et Mém. soc. méd. d. hôp. 1910.
- Chodinsky*, Beitr. zur klin. Chir. 99, 1916.
- Daujat*, Thèse, Lyon, 1912.
- Dobrotine, N. A.*, Berl. klin. W. 47, 28, 1910.
- Russky Wratsch, 9, 28, 1910.
- Duhot, E.*, C. R. Soc. Biol. 82, 1919.
- Durand, L.*, Thèse, Paris, 1909.
- Eckenstein, K.*, The Lancet 88, 2, 1910.
- Falcoini*, Arch. Vét. 9, 1, 1912.
- Flashman, J. F. and Butler, A. G.*, Austral. med. Gaz. 1910.
- Gaetano, L. de*, Il Policlin. 1909.
- Riform. med. Anno, 26, 89.
- Ghedini, G.*, Riform. med. 28, Marzo 1910.
- Annal. Inst. Maragl. 7, 1913.
- Annal. Inst. Maragl. 3, 3, 1909.
- Gaz. degli osped. e. d. clin. 153, 23, 1906.
- Gaz. degli osped. e. d. clin. 6, 13, 1907.
- Graetz, Fr.*, Centralbl. f. Bakt. Paras. usw. Orig. 55, 3, 1910.

- Guinard*, Pr. Méd. 55, 1909.
- Hahn*, B., Münch. med. W. Juli 1912.
- Henius*, K., Deut. med. W. 37, 26, 1911.
- Hertz*, R., Deut. med. W. Juli 1912.
- Hoeden*, J. v. d., Verslag Centr. Lab. v. d. Volksgez. h., 1920 en 1921.
(Versl. en Mededeel. betr. Volksgez. h., nr. 8, 1921.)
- Israel*, A., Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskr., 66, 1910.
— Münch. m. W. Juli 1911.
- Jahn*, E., Zeitschr. f. Fleisch und Milchhyg. 30, 13, 1920.
- Jianu*, A., Wien. klin. W. 22, 42, 1909.
- Joest*, E., Zeitschr. f. Inf. par. Kr. und Hyg. d. Haustiere, 2, 1, 1907.
- Keilne*, M. M., Thèse, Fac. Méd. Paris, 1914.
- Kreuter*, Münch. m. W. 56, 36, 1909.
— Münch. m. W. 1911.
- Laubry et Parvu*, Bull. et mém. soc. méd. des hôp. Paris, 26. Déc. 1908.
— Bull. et mém. soc. méd. des hôp. Nov. 1910.
— Compt. rend. soc. Biol. Jul. 1911.
- Legry, Parvu et Baumgartner*, Pr. Méd. Nov. 1911.
- Lejars et Parvu*, Bull. mém. soc. chir. Paris 24. Mars 1909.
— Bull. mém. soc. chir., Jul. 1909.
- Lejars, Delbet etc.*, Sem. Méd. 31, Mars 1909.
- Lesser*, Berl. klin. W. 46, 21, 1909.
- Lincoln and Balboni*, Boston, M. S. J. 176, 1920.
- Lippmann*, H., Berl. Klin. W. 47, 1, 1910.
- Magnussen*, Fr., Inaug.-Diss. Sonderburg 1909.
- Maranon*, G., Revist. clin. Madrid, 1910.
- Matsch*, W., Praktitch. Wratsch, nr. 38—39, 1911.
- Mehlhose*, R., Zeitschr. f. Bakt. par. usw. Orig. 52, 1, 1909.
- Meyer*, K., Berl. kl. W. 47, 28, 1910
- Moussu*, G., C. R. Soc. Biol. 68, 14, 1910.
- Mutermilch*, C. R. Soc. Biol. 67, 1909.
- Parvu et Laubry*, C. R. Soc. Biol. 66, 11, 1909.
— C. R. Soc. Biol. 66, 15, 1909.
- Parvu*, M., C. R. Soc. Biol. 66, 17, 1909.
— C. R. Soc. Biol. 67, 35, 1909.
— C. R. Soc. Biol. 68, 17, 1910.
- Patrone*, Fol. clin. chim. e microsc. Mai 1910.
- Pevnitzky*, A. A., Journ. de méd. milit. 6, 1910.
- Pewny*, W., Wien. klin. Woch. 33, 1921.
- Pfeiler*, W., Z. f. Inf.kr. par. kr. und Hyg. d. Haustiere, 11, 1, 2 und 3, 1912.
- Picado*, C., C. R. Soc. Biol. 77, 1914.
- Paisseau et Tixier*, Pr. méd. 80, 6, 1909.
- Puntoni*, V., Bull. d. Scienze méd. 81, 8, 10, 1910.
— Rend. Soc. med. chir. Bologna 17. Febr. 1910.
- Putzu*, J., Z. f. Bakt. Par. usw. Orig. 54, 1, 1910.
— Bioch. e Ter. Sper. 1, 9, 1909.
- Rist*, Sem. Méd. 30, 16, 1910.

- Romanelli, G. H.*, Morgagni Riviste 63, 1912.
Roncaglio, G., Biochem. e Ter. 3, 1913.
Rossello, H., Pr. Méd. 63, 1909.
Rubinstein, M., Traité prat. de sérol. et de sérodiagn. 1921.
Schoo, H. J. M., Ned. Tijdschr. v. Geneeskunde, 20, 1, 1910.
Silber, S. M. u. Chmelnitzky, B. M., Charkowsky, Med. Journ. 6, 1913.
Siredey, A., Lemaire, H et Vuillet, Bull. mém. soc. méd. hôp. Mars 1911.
Skatchewsky, W. P., Russki Wratch, 17, 1911.
Sonntag, E., Beitr. zur klin. Chir. 82, 1913.
Sparapani, G. C., Clin. vet. p. 1005.
— *Pathol. Torino* 10, 93, 1917.
Ströbel, H., Münch. med. W. 58, 13, 1911.
Troisier, C. R., Soc. de Biol. 67, 22, 1909.
Thomsen u. Magnussen, Berl. kl. W. 25, 1912.
Vas, B., Wien. med. W. 61, 4, 1911.
— *Orvosi Hetilap*, 21, 1910.
Vincent, M., Sem. méd. 30, 26, 1910.
Walther, Legueu, Guinard, etc., Sem. méd. 31, 7 Avril 1909.
Weil, Mouriguand et Gardere, Lyon, Méd. 1911.
Weinberg, M., Ann. Inst. Pasteur, 6, 1912.
Weinberg et Parvu, Sem. méd. 13 Jan. 1909.
Weinberg et Vieillard, Bull. Soc. Centr. de méd. vét. 63, 1909.
Weinberg, M., C. R. Soc. Biol. 66, 3, 1909.
— C. R. Soc. Biol. 65, 5, 1909.
Weinberg et Parvu, C. R. Soc. Biol. 65, 28, 1908.
— C. R. Soc. Biol. 65, 35, 1908.
— C. R. Soc. Biol. 65, 37, 1908.
Weinberg, M., C. R. Soc. Biol. 66, 12, 1909.
Weinberg et Boidin, C. R. Soc. Biol. 66, 3, 1909.
— C. R. Soc. Biol. 67, 29, 1909.
— Sem. méd. 30, 12, 1910.
— C. R. Soc. Biol. 68, 10, 1910.
— *et Bronfenbrenner*, C. R. Soc. Biol. 69, 28, 1910.
— Ann. Inst. Pasteur, 23, 6, 1909.
— C. R. Soc. Biol. 66, 18, 1909.
Weinberg et Parvu, Sem. méd. 13 Jan. 1909.
Zappelloni, L. C. e Ricciuti, G., Bioch. e Ter. Sperim. 2, 6, 1910.
-





STELLINGEN

1. Dat het bacteriolytische agens van het phenomeen van d'Herelle een op zich zelfstaand virus zou zijn, is niet bewezen.
 2. Men beoordeelde de resultaten van het experimenteel syphilis-onderzoek met de grootste voorzichtigheid, wanneer als proefdier het konijn heeft dienst gedaan.
 3. In tegenstelling met de waarnemingen bij den mensch, is, althans wat onze groote huisdieren betreft, bij aandoeningen door dierlijke parasieten veroorzaakt, het aantal eosinophile leucocyten in het bloed niet verhoogd.
 4. De diagnose „Cornage, tengevolge van hemiplegia laryngis“, mag, wil men zich daartoe van chirurgisch ingrijpen onthouden, slechts met zekerheid worden gesteld, na laryngoscopisch onderzoek.
 5. Het is in directen strijd met het belang van de Volksgezondheid, wanneer huisslachtingen worden vrijgelaten van keuring en de daarmede verband houdende bepalingen, welke voor alle overigens binnen het Rijk verrichte slachtingen verplicht zijn gesteld. Dit geldt onverminderd ook dan, indien voldoende waarborgen aanwezig zijn, dat geen vervoer van vleesch plaatsvindt en noodslachtingen kunnen worden buitengesloten.
 6. Ter verbetering van de runderteelt in Palestina moet een belangrijke plaats worden ingeruimd aan het Damascener ras.
 7. Het is wenschelijk, dat aan de Veeartsenijkundige Hoogeschool onderwijs worde gegeven in die ziekten van den mensch, welke met ziekten der dieren verband houden.
-



BIBLIOTHEEK
DIERGENEESKUNDE
UTRECHT

