



Bijdrage tot de kennis van anaplasmosis bij rund en buffel

<https://hdl.handle.net/1874/277588>

1922

**BIJDRAGE TOT DE KENNIS
VAN ANAPLASMOSIS
BIJ RUND EN BUFFEL**

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT



3627 5059

AG
ss
echt
22
al

45

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN ANAPLASMOSIS BIJ RUND EN BUFFEL

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN
GRAAD VAN DOCTOR IN DE VEEARTSENIJKUNDE
AAN DE VEEARTSENIJKUNDIGE HOOGESCHOOL
TE UTRECHT, NA MACHTIGING VAN DEN RECTOR
MAGNIFICUS DR G. KREDIET, VOLGENS BESLUIT
VAN DEN SENAAT DER VEEARTSENIJKUNDIGE
HOOGESCHOOL TEGEN DE BEDENKINGEN VAN
DEN SENAAT, TE VERDEDIGEN OP VRIJDAG
13 OCTOBER 1922, DES NAMIDDAGS VIER UUR,
DOOR JOHANNES ALEXANDER KALIGIS,
VEEARTS, GEBOREN TE KAKAS (MINAHASSA)



BIBLIOTHEEK
DIERGENEESKUNDE
UTRECHT

P. DEN BOER

SENATUS VETERANORUM TYPOGRAPHUS ET LIBRORUM EDITOR
UTRECHT

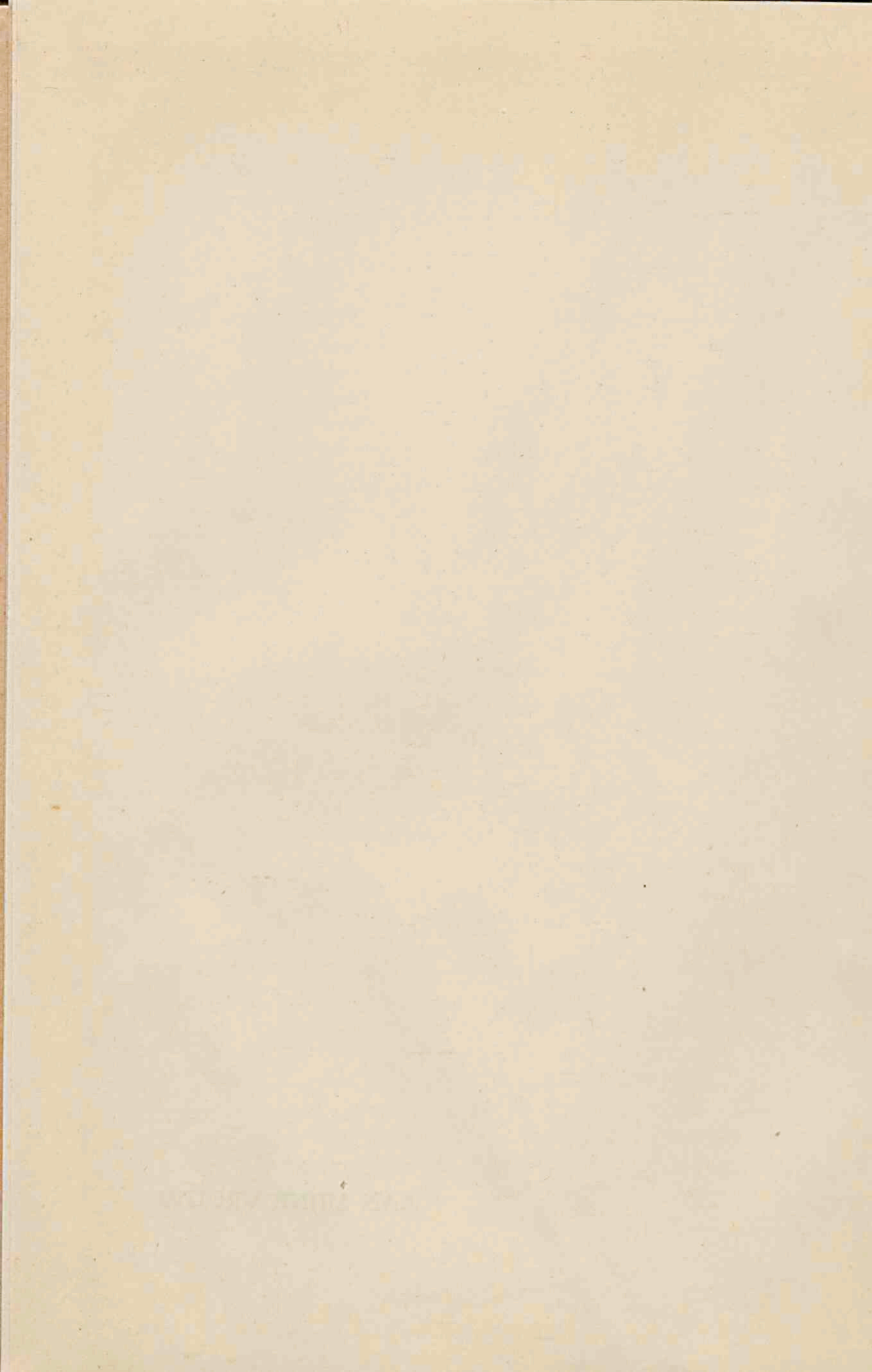
MCMXXII

RIJKSUNIVERSITEIT UTRECHT



1467 3911

AAN MIJNE VROUW



Bij het voltooien van mijn proefschrift, grijp ik gaarne de gelegenheid aan, U Hoogleraren en Lectoren van de Veeartsenijkundige Hoogeschool mijn diepgevoelden dank te betuigen voor het onderwijs dat ik van U mocht ontvangen.

Hooggeleerde De Blieck, Hooggeachte promotor, in het bijzonder ben ik U groote erkentelijkheid verschuldigd voor Uwe welwillendheid mij in de gelegenheid te hebben gesteld onder Uwe eminente leiding dit proefschrift samen te stellen, Uw levendige belangstelling en vriendelijke kritiek stelde ik op hoogen prijs. Dat het mij mogelijk was geworden mijn studie aan de Veeartsenijkundige Hoogeschool te kunnen voltooien, dank ik zeker grootendeels aan U. U toch was de persoon die het veterinair onderwijs te Buitenzorg, waar ik aanvankelijk studeerde, zoodanig opvoerde, dat aansluiting aan de Hooge School mogelijk werd. Reeds te Buitenzorg stelt U mij in de gelegenheid aan het veeartsenijkundig laboratorium wetenschappelijke onderzoeken te verrichten, en dit is zeker het begin geweest dat ik mij steeds meer ging interesseeren voor de veterinaire wetenschap.

Hooggeleerde Krediet, met dankbaarheid denk ik aan de groote welwillendheid, welke mij gedurende mijn studietijd van Uw zijde mocht ten deel vallen. De tijd welke ik na mijn Ind. veearts-examen als Uw assistent te Buitenzorg werkzaam was, bleek mij later van groot nut te zijn

Zeergel. Nieschulz, ook U dank ik voor de belangstelling die U in mijn werk getoond hebt, Uw protozoologische kennis stond mij steeds ten dienste waar het te pas kwam.

Ook U zeergel. Munnik dank ik voor de mij verleende kameraadschappelijke hulp.

Ten slotte betuig ik gaarne mijn erkentelijkheid aan hen die mij met onvermoeide ijver bij mijn dierproeven ter zijde stonden, welke zonder die hulp zeker niet mogelijk zouden zijn geweest.

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN ANAPLASMOSIS BIJ RUND EN BUFFEL.

INHOUD.

HOOFDSTUK I

Blz.

INLEIDING	1
---------------------	---

HOOFDSTUK II

METHODE VAN ONDERZOEK, MORPHOLOGIE EN BIOLOGIE VAN HET ANAPLASMA	5
---	---

HOOFDSTUK III

ANAPLASMOSIS VAN HET RUND	11
-------------------------------------	----

HOOFDSTUK IV

ANAPLASMOSIS BIJ DEN BUFFEL EN ANDERE DIEREN . .	38
--	----

HOOFDSTUK V

KUNSTMATIGE ANAPLASMOSIS	43
------------------------------------	----

HOOFDSTUK VI

IS HET ANAPLASMA EEN PARASIET?	51
--	----

LITERATUUR	57
----------------------	----

STELLINGEN

HOOFDSTUK I.

Inleiding.

In de Annual Report of the Government vet, Bacteriologist Transvaal (1908/1909) publiceerde Theiler, dat de z.g. „galziekte”, een in Transvaal veel voorkomende, onder verschijnselen van koorts en anaemie verloopende runderziekte, veroorzaakt wordt door een specifieke bloedparasiet, een klein rond lichaampje (protozo) ter grootte van 0.1—0.6 mikron.

Deze parasiet ligt gewoonlijk aan den rand van de roode bloedcel en bestaat slechts uit chromatische substantie; het protoplasma is er niet bij aan te wijzen. Theiler gaf aan deze parasiet den naam „anaplasma marginale”, terwijl hij de ziekte „anaplasmosis” noemde.

Vóór dien golden het trypanosoma Theileri en de piroplasma mutans (*Gonderia mutans*) als de veroorzakers van de galziekte. Nadere experimenten en klinische waarnemingen brachten Theiler echter er toe dit inzicht te wijzigen en stelde zich op het standpunt, dat het *Trypanosoma Theileri* en *Gonderia mutans*, die dikwijls in het bloed van aan de z.g. galziekte lijdende runderen werden aangetroffen, niet pathogeen zijn, doch dat het geheele ziekteproces op rekening gesteld moet worden van het parasiteeren in het bloed van het door hem als „anaplasma marginale” aangeduide protozo. Het trypanosoma Theileri is trouwens overal aangetoond bij runderen, ook daar waar geen galziekte voorkomt. Zoo komen *Trypanosoma Theileri* ook in Nederland voor bij volkomen gezonde runderen.

Het *anaplasma marginale* werd reeds veel eerder waargenomen door Smith en Kilborne (1889) tijdens hun ondezoekingen omtrent Texaskoorts in Amerika. S. en K. noemden de door hen waargenomen lichaampjes „peripheral coccus like bodies”

naar hun vorm en voorkomen op den rand van de roode bloedcel. Omtrent den aard en het wezen dezer lichampjes verkeerden beide onderzoekers echter in twijfel, doch waren in ieder geval geneigd ze te beschouwen als een ontwikkelingsstadium van het piroplasma bigeminum, de veroorzaker van de Texaskoorts.

Knuth (1904), die de anaplasmata eveneens waarnam bij zijn onderzoekingen omtrent Texaskoorts in de La Plata Staten, beschouwde ze evenals Smith en Kilborne als een ontwikkelingsstadium van het Piroplasma bigeminum.

Dschunkowsky en Luhs (1904) namen deze puntvormige lichaampjes waar in het bloed van aan de cachectische vorm van piroplasmosis lijdende runderen in Transkaukasie. Zij meenden dat de puntvormige lichaampjes de veroorzakers zijn van de genoemde cachectische vorm van piroplasmosis.

Na de eerstgenoemde publicatie van Theiler, waarbij gewezen werd op den specifiek en parasitair aard van de anaplasmata, trok deze parasiet de belangstelling van verschillende onderzoekers.

Voor al in tropische landen werd nu anaplasmosis veelvuldig waargenomen, niet alleen bij runderen maar ook bij buffels. In Nederlandsch-Indië komt anaplasmosis bij buffels frequent voor.

De Does maakte reeds in zijn publicaties omtrent piroplasmosen in Nederlandsch-Indië 1905/1906 melding van de waarneming van anaplasma in het bloed van rund en buffel.

Penning (1906) meende een zeer acuut verloopende buffel- en runderziekte in Java te moeten toeschrijven aan anaplasmen.

De Blicke (1910—1912) stelde definitief vast dat op Java bij runderen en buffels anaplasmosis voorkomt, geheel identisch met de door Theiler in Zuid-Afrika geconstateerde ziekte.

Ook bij andere diersoorten zou anaplasmosis door verschillende onderzoekers geconstateerd zijn.

Bij het schaap werd anaplasmosis waargenomen door Bevan (1912 in Rhodesie), Schellhase en Trautman (1912, 1913) in Duitsch Afrika, Tibadi (1914) in Frankrijk, Finzi en Campus (1916/17 in Italië).

Bij het paard zou anaplasmosis geconstateerd zijn door Mack (1911) in Noord-Amerika, Carpano (1913) in Italië, Joest en

Jänichen (1914) in Deutschland, Tibadi (1914) in Frankrijk.

Ook bij den hond, het varken en vooral bij knaagdieren heeft men op anaplasmen gelijkende lichaampjes gezien.

De vraag is echter of alle waargenomen anaplasmen bij de verschillende diersoorten, dezelfde zijn als de door Theiler bedoelde.

Het is in ieder geval zeker, dat de op anaplasmen gelijkende lichaampjes bij knaagdieren niets anders zijn als de z.g. Jolly-lichaampjes, die in het bloed van deze dieren onder normale omstandigheden veel voorkomen. Diaz, Aragau, Schilling-Torgau en vele andere onderzoekers deelen de opvatting van Theiler niet omtrent de protozoïre natuur van het anaplasma. Zij zijn n.l. van meening, dat het anaplasma geen parasiet is, doch een kernrest van de roode bloedcel, identisch met de z.g. Jollysche lichaampjes. De als anaplasmosis bekende dierziekte zou volgens hen een geheel andere aetiologie hebben. De anaplasmen, die er bij optreden, zouden slechts ziekteverschijnsel en niet ziekteoorzaak zijn. Volgens deze opvatting zou de anaplasmosis een ziekte zijn, waarbij door den anaemischen toestand verschillende re- en degeneratieve veranderingen in het bloedbeeld optreden, waaronder het in aantal toenemen van de z.g. randpunten, zijnde kernresten van de erythrocyten.

De aetiologie van een dergelijke ziekte zou gezocht moeten worden in het een of andere bloeddestrueerende of bloedonttrekkende agens, zooals verschillende piroplasmen, ingewandswormen enz.

Diaz en Aragau zouden door aanwending van verschillende bloedgiften als phenylhydrazine, trypaanblauw, pyrogalluszuur, in staat zijn anaplasmosis te verwekken bij verschillende diersoorten.

Door de protozoölogen is aan het anaplasma nog geen plaats toegekend in het protozoölogisch systeem. In het protozoölogisch handboek van Hartmann-Schilling wordt het anaplasma als aanhangsel bij het hoofdstuk over piroplasmata toegevoegd.

Theiler (Zuid-Afrika), De Blicq (Nederlandsch-Indië) en Lignières (Zuid-Afrika) hebben series experimenten verricht met het anaplasma en was het hun gelukt anaplasmosis zonder menginfectie, dus rein van dier op dier over te enten en zijn

daarom overtuigde voorstanders van den specifiek en parasitair aard van het anaplasma.

Sieber, Brumpt, Veglia en anderen steunen deze opvatting.

Hoe het zij, eenstemmigheid in zake het wezen en den aard van het anaplasma bestaat dus niet bij verschillende onderzoekers.

In de volgende hoofdstukken heb ik mijn waarnemingen en experimenten omtrent anaplasmosis, naast die van anderen geplaatst en getracht een standpunt in te nemen aangaande het anaplasmosenvraagstuk.

HOOFDSTUK II.

Methode van onderzoek, morphologie en biologie van het Anaplasma.

Voor de onderkenning en bestudeering van het anaplasma is in de eerste plaats vereischte, kennis zoowel van het normale als van het pathologische bloedbeeld. Bij het vervaardigen en het kleuren van bloedpreparaten dient men de grootste nauwkeurigheid in acht te nemen.

Het anaplasma is een structuurloos, compact puntvormig lichaampje ter grootte van 0.1—0.6 micron, dat als regel aan den rand van de roode bloedcel is gelegen, en zich blauw violet kleurt bij kleuring volgens Giemsa. Het bestaat slechts uit chromatische substantie, protoplasma is niet aan te toonen. In ongekleurde preparaten is het anaplasma zelfs bij de grootste vergrooting nauwelijks waar te nemen. Bij donkerveldbelichting doet het zich als een sterk lichtbrekend kogeltje voor. Sommigen beweren dat het anaplasma in natief preparaten, bij doorvallend licht, zichtbaar is als een sterk lichtbrekend puntje.

Voor de kleuring van het anaplasma komt practisch alleen de kleuring volgens Giemsa in aanmerking.

Het vervaardigen van het bloedpreparaat geschiedt als volgt.

Gewoonlijk verkrijgt men bloedmateriaal door in de oorvena te prikken. Van het uitstroomende bloed neemt men een druppeltje, dat men op de bekende methode zoo dun mogelijk over een absoluut rein, vetvrij, droog objectglas uitstrijkt (het beste is dat men het voorwerpglas in alcohol bewaart en even voor het gebruik goed afdroogt en een paar malen heen en weer haalt door de vlam).

Het aldus uitgestreken preparaat laat men luchtdroog worden en daarna gedurende 10 minuten fixeeren in een van de volgende media:

- a. absolute alkohol,
- b. alkohol aether $\overline{aa}$ of
- c. methylalkohol.

Na het fixeeren droogt men het preparaat tusschen filtreerpapier.

Van de Giemsaoplossing neemt men 10 druppels, die men verdunt met 10 cc gedistilleerd water, dat neutraal of zwak alkalisch gemaakt is. Het preparaat laat men nu $\pm$ 30 minuten in deze vloeistof, afspoelen in water en drogen tusschen filtreerpapier.

Behalve bloedmateriaal kan men voor onderzoek van het anaplasma ook door punctie verkregen miltpulpa gebruiken.

De uitvoering van miltpunctie volgens de door Sieber aangegeven methode en door mij met succes toegepast, geschiedt als volgt.

Men opereert bij het staande dier.

Nadat men de haren in de streek tusschen 11e en 12e rib heeft geschoren en het operatieveld gedesinfecteerd, maakt men iets craniaal van de 12e rib en aan de laterale rand van de M. longissimus dorsi, die duidelijk door de huid is te onderkennen, een kleine snede met de skalpel.

Meer kraniaalwaarts loopt men gevaar de arteria intercostalis te treffen, die aan de caudale rand van de rib verloopt. Nu steekt men met een sterke 8—10 c.M. lange canule door de huid en dan parallel aan de mediaanlijn naar beneden en komt vanzelf aan de caudale rand van de milt. Uitloopen van bloed uit de canule toont aan, dat men de milt getroffen heeft. Nu draait men de punt van de canule iets naar voor ongeveer in de richting van de ellebooghoek en drukt de canule dieper in de milt. Men kan nu met de Prava'zsche spuit wat miltbrij opzuigen en daarvan uitstrijkpreparaten maken. Na deze operatie behandelt men den wond met Jodoformcollodium.

Andere kleurmethoden dan die volgens Giemsa leenen zich niet voor de kleuring van het anaplasma.

Door mij werd verscheidene malen getracht het anaplasma te kleuren met Delafields hematoxylin met navolgende behandeling met eosine, met methyleenblauw, met haematoxylin Hei-

denhcin en Rosenbusch-Hartmann, doch zonder bevredigende resultaten.

De kleuring volgens Heidenhein, die in de protozoölogie voor cytologisch onderzoek bijzonder goede preparaten geeft, is hiervoor vooral niet bruikbaar, daar de heele erythocyt zwart gekleurd wordt.

Ook vitaalkleuring is door mij geprobeerd, echter met negatief resultaat. Met vochtige fixatie sublimaatalcohol en daarna kleuren met zeer verdunde Giemsa oplossing zou Sieber zeer gunstige resultaten verkegen hebben. Volgens deze methode zou het Sieber zelfs gelukt zijn, differentiatie te krijgen in de structuur van het anaplasma, zoodanig, dat hij een centraal lichaam kon onderscheiden met daaromheen een iets lichter gekleurd mantelvormig hulsel. Ook deze methode is door mij nabeproefd, doch ben tot resultaat gekomen, dat het geen enkel voordeel oplevert boven de gewone Giemsa kleuring.

Theiler vat het anaplasma op als een phylogenetisch teruggegaan organisme, dat onder degeneratie van zijn specieele organen, zich als endogene parasiet van haar gastcel meer en meer heeft aangepast en de functie van haar protoplasma in denzelfden graad op de gastcel overdraagt, als het zelf aan protoplasma verliest.

Sieber wil het anaplasma tot de groep van de door Prowazek opgestelde chlamidozoen brengen op grond van de resultaten van morphologische onderzoekingen, waarbij hij aan het anaplasma een centraal lichaam en een mantel meende te kunnen onderscheiden. Het centraal lichaampje kan volgens Sieber behalve in het midden ook aan den rand van het anaplasma voorkomen. Bij de dubbele vormen kon Sieber tusschen de beide centraallichaampjes een verbindingsstrook waarnemen.

Zooals reeds gezegd is het mij niet gelukt, deze bevindingen van Sieber te bevestigen. Ook andere onderzoekers o.a. K. F. Meyer hebben met negatief resultaat de bevindingen van Sieber nabeproefd.

Theiler onderscheidt 2 variëteiten van anaplasmen n.l. anaplasma marginale en anaplasma centrale.

Het anaplasma centrale zou meer naar het centrum van de

erythrocyt gelegen zijn, is kleiner, terwijl de daardoor veroorzaakte ziekte minder virulent zou zijn.

De vermenigvuldiging van het anaplasma zou door deeling plaats hebben. Dikwijls ziet men 2 anaplasmen als diplococci tegen elkaar aan liggen, dit zou er op wijzen, dat deeling plaats heeft gehad.

Het cultiveeren van anaplasmen in kunstmatige voedingsmedia zou door Veglia met positief resultaat verricht zijn. Op 4 voedingsmedia zou hij met succes de anaplasmen gekweekt hebben.

- a. rein gedefibrineerd bloed van een aan anaplasmosis lijdend rund,
- b. keukenzoutoplossing zooals door Nuttal voor cultiveeren van *Piroplasma canis* angewend,
- c. natriumcitraatoplossing, zooals door Carpano voor cultuur van *Nuttallia equi* aanbevolen, en
- d. gewone bouillonoplossing, die Myaimi voor cultuur van *Babesia bovis* gebruikt.

Veglia komt aan de hand van zijn cultuurproeven tot de volgende conclusies:

- 1e. de anaplasmen groeien en vermeerderen zich in de bovengenoemde media.
- 2e. gedefibrineerd bloed en carpano's medium zijn de meest geschikte voedingsmedia.
- 3e. basophile granula en Jolly bodies, die in anaemisch bloed waargenomen worden, verhouden zich anders als de anaplasmen, aangezien ze zich niet vermeerderen en langzamerhand verdwijnen.
- 4e. normaal bloed van runderen en andere dieren, die niet met anaplasma geïnfecteerd zijn, vertoonen bij dezelfde behandeling geen intracellulaire lichaampjes, die met anaplasmen vergeleken kunnen worden.
- 5e. in culturen van bloed, die reine anaplasmen of anaplasmen + piroplasmen bevatten, kunnen geen overgangsvormen tusschen beide ontdekt worden.

- 6e. gedefibrineerd bloed van een voor anaplasmosis vatbaar rund is een gunstig cultuurmedium, terwijl het bloed van dieren, die de ziekte kort te voren doorgemaakt hebben, de ontwikkeling van de anaplasmen schijnt te remmen.
- 7e. de slechts in één geval aangelegde subcultuur gelukt.
- 8e. het schijnt, alsof de anaplasmen zich ook ontwikkelen, indien het bloed tijdens het incubatietijdperk der ziekte genomen wordt.
- 9e. de vermeerdering van de anaplasmen in de cultuur gaat parallel met de vermeerdering in het levende dier.

Ook Lignières zou het gelukt zijn anaplasmen op kunstmatige voedingsbodems te kweken.

Dschunkowsky en Luhs maakten ook melding van door hen verkregen positieve resultaten met cultiveeren van anaplasmen op kunstmatige voedingsmedia. Waarschijnlijk hadden deze onderzoekers echter met door bacteriën verontreinigde culturen te doen gehad.

Ik heb de proeven van Veglia nagedaan, aan de hand van de door mij verkregen resultaten kan ik zijn conclusies niet in alle opzichten onderschrijven.

Het beste resultaat had ik met de cultuur in: 1e. gedefibrineerd bloed van een aan anaplasmosis lijdend rund; 2e. voedingsmedium volgens methode Bas Johnes voor het kweken van malariaparasieten. Daartoe nam ik een steriele glascylinder van $2\frac{1}{2}$ c.M. diameter, daarin een door de wattenprop gestoken tot den bodem reikende glasstaaf en $\frac{1}{10}$ cc. 50% dextrose-oplossing in aq. dest. Een hoeveelheid van 10 c.M³. bloed van een aan anaplasmosis lijdend rund met behulp van een Pravaz'sche spuit uit de vena jugularis afgetapt, wordt onder zeer steriele voorzorgen in de schuin gehouden glascylinder gegoten, erbij zorgdragende, dat er geen luchtblazen in komen. Met de glasstaaf wordt het bloed geroerd. De bloedzuil mag niet minder dan $2\frac{1}{2}$ —5 c.M. hoog zijn. Dit mengsel wordt in thermostaat van 40° geplaatst.

Bij mijn culturen had ik geen zichtbare vermeerdering van anaplasmen gezien, wel zag ik dat de 3e, 4e en 5e dag de anaplasmen nog duidelijk te zien zijn in de uit de culturen

gemaakte uitstrijkpreparaten. Na den 5den dag beginnen de roode bloedcellen bleek en wazig te worden, er komen vacuolen in en verdwijnen ook de anaplasmen.

Subculturen zijn mij niet gelukt. Met een 5 dagen oude cultuur had ik een rund geïnfecteerd, doch met negatief resultaat.

De mogelijkheid van cultiveeren van anaplasmen op kunstmatige voedingsbodems acht ik ondanks de resultaten van Veglia dan ook geenszins bewezen. Indien het mogelijk zou zijn met de culturen of nog beter met de subculturen de ziekte experimenteel te verwekken, dan zou dit een krachtige steun zijn voor de meening van Veglia.

Trouwens tot heden is het niet gelukt de anaplasmen in de verschillende cultuurmedia langer in het leven te houden dan zij ook in gewoon steriel bloed blijven leven.

HOOFDSTUK III.

Anaplasmosis van het Rund.

De als „anaplasmosis” bekende ziekte bij het rund werd het eerst waargenomen door Smith en Kilborne tijdens hun eerste studiën omtrent Texaskoorts in Amerika. Zij zagen de anaplasmen in het bloed van dieren, die aan den milden vorm van Texaskoorts leden, vooral in den herfst.

S. en K. noemden de door hen waargenomen organismen „peripheral coccus like bodies” in verband met hun coccenachtig voorkomen en hun zetel aan den rand van de erythrocyten, 5 tot 50 % der erythrocyten van de zieke dieren vonden zij met deze „coccus like bodies” geïnfecteerd gedurende 1 tot 5 weken. Zij vonden de puntvormige lichaampjes vooral bij:

- 1e. runderen geïnfecteerd met Texaskoorts laat in den moesson (October—November).
- 2e. dieren, die in het begin van den zomer ziek geweest waren en in October of November een tweeden aanval van Texaskoorts kregen.
- 3e. bij uitzondering bij dieren met den milden vorm van Texaskoorts.

S. en K. vestigden er reeds de aandacht op, dat de coccus like bodies niet verward mogen worden met basophile granulatie, die het gevolg is van degeneratieve bloedveranderingen bij Texaskoorts.

De „coccus like bodies” verschenen tegelijk of onmiddellijk voor de destructieve veranderingen van de erythrocyten. Gewoonlijk verdwijnen de coccus like bodies reeds als de basophile granulaties nog toenemende zijn. Beide onderzoekers waren geneigd de coccus like bodies te houden voor een ont-

wikkelingsstadium van het *p. bigeminum*. Zij stelden de volgende hypothese op omtrent de cyclus van het *p. bigeminum*.

- 1e. het bewegelijke stadium: de parasieten komen als zwerm-sporen in de bloedcellen. Dit stadium is nooit waargenomen.
- 2e. het stadium der randpunten d.w.z. de z.g. zwerm-sporen van het 1e stadium komen in de bloedcellen tot rust en bevestigen zich aan de peripherie er van. Deze randpunten nu gaan zich deelen en uitgroeien tot de peervormige parasieten.
- 3e. het stadium van de peervormige parasieten, dat den acuten vorm van Texaskoorts representeert.

Deze opvatting van S. en K. omtrent de anaplasmen werd bestreden door verschillende onderzoekers o.a. Nuttall en Graham, die een andere meening hadden omtrent de ontwikkeling van het *p. bigeminum*. Later betoogden S. en K. de mogelijkheid dat de randpunten aparte parasieten zijn, die niets te maken hebben met *p. bigeminum*, doch waar beide parasieten samen in een dier voorkomen, men te doen heeft met toevallige menginfecties. Beide parasieten kunnen ieder afzonderlijk voorkomen.

Knuth (1904) nam deze coccus like bodies waar, tijdens zijn onderzoekingen omtrent Texaskoorts in de La Plata Staten, Zuid-Amerika. Hij zag de coccus like bodies hoofdzakelijk optreden bij dieren na Texaskoortsaanval, zoowel tengevolge van natuurlijke als kunstmatige Texaskoorts-infecties. Hij vermeldde een geval, waarbij hij eerst het *p. bigeminum* waarnam en 41 dagen later de coccus like bodies, vergezeld van verhoogde temperatuur. Bij dit dier waren tot 4 coccus like bodies in een roode bloedcel. Het dier stierf na een complete bloeddissolutie. Het bloed van dit dier entte hij over op een andere, en 46 dagen na de infectie verschenen de coccus like bodies in het bloed van het geïnfekteerde dier.

Voorts experimenteerde hij met coccus like bodies op 6 andere dieren, waarvan 4 immuun en 2 niet immuun waren tegen Texaskoorts.

De 4 immune dieren reageerden niet op de coccus like bodies,

de 2 andere reageerden op den 10den en 18den dag met coccus like bodies.

Knuth besloot uit zijne waarnemingen, dat de coccus like bodies te beschouwen waren als een ontwikkelingsstadium van het *p. bigeminum*.

Dschunkowsky en Luhs hadden de anaplasmen waargenomen in Transkaukasië bij runderen, lijdende aan de door hen als cachectische vorm van tropische piroplasmosis aangeduide ziekte.

Deze onderzoekers onderscheiden n.l. 2 vormen van piroplasmosis n.l. de acute en chronische (cachectische) vorm. De acute piroplasmosis wordt veroorzaakt door staafjes en ringvormige piroplasmen (*p. anulatum*); waarschijnlijk zijn deze piroplasmen identisch met de *Th. parva* van de Oostkustkoorts.

De chronische vorm wordt veroorzaakt door de puntvormige parasieten, die soms den diplococcenvorm aannemen. Ook gemengde infecties met *p. bigeminum* namen D. en L. waar.

De Does (1905) (Nederlandsch-Indië) nam de randpunten waar bij proefdieren voor veepest in Djatibaroe (Java). Ook bij cachectische kalveren te Batavia werden de randpunten door hem dikwijls waargenomen.

De Does had echter de door hem waargenomen randpunten niet aan een nadere studie onderworpen. Welke beteekenis aan de randpunten te hechten is, daaromtrent vermeldt hij in zijn publicatie niets.

Penning (1906), die de randpunten eveneens op Java waarnam bij runderen beschouwde ze als veroorzakers van een zeer accuut verloopende runderziekte van hetzelfde beeld als van de acute Texaskoorts, met dit verschil, dat bij randpunteninfectie de haemoglobinurie ontbrak.

De door Penning waargenomen ziekte verliep binnen 36 tot 48 uren doodelijk, 80 tot 90 % van de roode bloedcellen zijn met puntvormige parasieten geïnfecteerd, die zich in ongekleurde preparaten als glinsterende puntjes voordeden, en die zich met Giemsa karmijnrood kleurden.

Hij vond de parasieten steeds in de bloedcellen. Kort na den dood traden ze echter uit de bloedlichaampjes en kwamen vrij in het serum voor. Het sectiebeeld is van septichaemischen

aard, de milt soms weinig soms sterk vergroot met weke pulpa, lebmaagslijmvlies donkerrood, doch zonder zweren.

Hij zag de ziekte alleen bij geïmporteerde Australische runderen. Het inheemsche vee op Java zou immuun zijn of in latenten infectietoestand verkeeren. Door larven van *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *australis* van het cadaver van een aan de ziekte gestorven Australisch rund over te zetten op een inlandsch schaap, zou Penning de ziekte hebben overgebracht. Het schaap werd na een maand ziek en stierf na 3 dagen. In het bloed van het schaap werden in ongeveer 90 % van de roode bloedcellen de puntvormige parasieten gevonden. 10 cM³. bloed van dit schaap op een 2e schaap ingespoten gaf geen resultaat.

Op een ander schaap werden larven gezet van een teek, die op het zieke dier had geparasiteerd. Dit schaap kreeg na 19 dagen een lichten ziekteaanval met een klein aantal puntvormige parasieten in het bloed. Na 5 maanden stierf het dier door cachexie. Bij de sectie werd alleen anaemie geconstateerd.

Penning bereikte gunstige resultaten door de zieke dieren te behandelen met argenteum colloïdale.

Op grond van een en ander concludeerde hij, dat de door hem waargenomen puntvormige lichaampjes de ziekte veroorzaakten, en dat het parasieten zijn, waarvan alleen de chromatine-kern zich kleurde, terwijl het protoplasma zich niet liet kleuren.

De waarnemingen van Penning verschillen van die van anderen, n.l. de door hem gevonden parasieten kleuren zich karmijnrood bij Giemsa-kleuring, terwijl anderen spreken van violetblauwe kleur.

Het bijzondere acute verloop der ziekte en de mogelijkheid van overbrengen der parasieten op schapen vormen eveneens verschilpunten met de waarnemingen van anderen.

Meer licht werd in het wezen van deze randpunten gebracht door Theiler (Zuid-Afrika), de eerste, die uitvoerige experimenten verrichtte omtrent deze ziekte.

Evenals Smith en Kilborne noemde hij de ziekte oorspronkelijk Texaskoorts zonder haemoglobinurie, de parasieten „marginal points”, identisch met de „periphal coccus like bodies”.

Na jarenlange klinische en experimenteele waarnemingen kwam Theiler tot de overtuiging, dat de marginal points niets te maken hebben met het *p. bigeminum* of welke andere parasiet ook, doch dat het specifieke parasieten zijn. In verband met het ontbreken van protoplasma, stelde hij voor de naam anaplasma aan de parasiet te geven en de daardoor veroorzaakte ziekte anaplasmosis. De onder den naam van „galziekte” bekende runderziekte in Zuid-Afrika oorspronkelijk toegeschreven aan de later niet pathogeen gebleken *Trypanosoma Theileri* en *G. mutans*, zou niets anders zijn als anplasmosis.

Theiler ging zelfs zoover, dat hij nog 2 variëteiten aan het anaplasma onderscheidde, n.l. anaplasma marginale en anaplasma var. centrale. Het anaplasma marginale is gelegen aan den rand van de roode bloedcel en de andere variëteit is meer centraal van de erythrocyt gelegen en is wat kleiner. De tweede variëteit is minder virulent dan de eerste.

Theiler kwam tot de bovenstaande conclusies omtrent het wezen van de randpunten na de ondervolgende waarnemingen.

Eenige Engelsche runderen werden in Engeland ter immunisatie tegen Texaskoorts geënt met Zuid-Afrikaansche *P. bigeminum*. Door deze inspuiting maakten zij een lichten aanval van Texaskoorts door. In Transvaal ingevoerd werden zij aan weide-infectie met Texaskoorts blootgesteld. Alle dieren kregen hooge koorts en ernstige anaemie, bij 3 runderen traden anaplasmen op, 2 ervan stierven.

Oorspronkelijk werd gedacht, dat de natuurlijke infectie te hevig was geweest voor de bestaande immuniteit tegen Texaskoorts, terwijl aan de anaplasmen geen bijzondere beteekenis werd gehecht.

18 Nov. 1908 werden in Londen 6 Sussex-runderen met Zuid-Afrikaansche *bigeminum*parasieten geënt; de dieren reageerden typisch. Eén rund uitgezonderd, werden bij alle de *p. bigemina* gezien. Het rund, dat ze niet vertoonde, bleek, ook na een herhaalde proefneming natuurlijke immuniteit tegen Texaskoorts te bezitten.

Deze runderen bleven in Londen 41 dagen in observatie en kwamen daarna in Transvaal aan op 22 Februari 1909. De

dieren werden toen nogmaals, teneinde de onvatbaarheid te verhoogen, met bloed geënt van tegen Texaskoorts immune runderen (*p. bigeminadragers*) en werden slechts een weinig ziek; in het bloed werd sporadisch *p. bigeminum* gezien.

Echter 27—32 dagen na deze enting werden op één na alle runderen ziek, vertoonden hooge temperatuur en direct waren de randpunten in het bloed aanwezig; deze namen de eerste dagen toe en eenige dagen daarna ontstonden oligocytaemie, anisocytosis, poikilocytosis, polychromasie basophilie, normo- en megaloblasten. Het eene rund, dat de randpunten niet vertoonde, werd bloed van één der zieke dieren ingespoten en kreeg toen ook de bekende parasieten in het bloed. Van de 10 runderen stierven er 5. Haemoglobinurie werd niet waargenomen.

Theiler komt op grond van deze waarnemingen tot de conclusie, dat de infectie in Engeland een reine infectie met *p. bigeminum* was; dat echter bij de tweede enting in Transvaal de randpunten zijn ingebracht, die een afzonderlijke parasiet vormen en dat zelfs een zware aanval van Texaskoorts, geen immuniteit voor deze organismen teweeg brengt. Door deze uitspraak weerlegt Theiler dus de opvatting van Smith, Kilborne en anderen, dat de randpunten tot de ontwikkelingscyclus van het *p. bigeminum* zouden behooren. Hij redeneerde ter staving van zijn meening aldus: in de parasitologie is geen voorbeeld bekend dat een zelfde parasiet in het 2e stadium van zijn ontwikkelingscyclus een ernstiger ziekte veroorzaakt dan in het eerste stadium. Bovendien zijn de randpunten niet waargenomen bij reine infecties van *p. bigeminum* in Europa (Kossel, Schutz, Weber, Miessner en anderen). Smith, Kilborne en Knuth zouden bij de door hen bestudeerde ziekten in Amerika te doen hebben gehad met gemengde infectie van Texaskoorts en anaplasmosis. Met zulke gemengde infecties had Theiler ook in Zuid-Afrika te maken. Dat hij bij inspuiting van bloed, afkomstig van runderen met gemengd lijden, Texaskoorts en anaplasmosis, op gevoelige dieren, eerst de *p. bigemina* en daarna pas de anaplasmen optreden, ligt in het feit, dat het *p. bigeminum* een veel korter incubatietijdperk heeft als het anaplasma.

De ziekte komt uitsluitend bij het rund voor en is op andere dieren (paarden, schapen) niet over te brengen.

De parasieten dringen in de roode bloedcellen, waarvan anaemie het gevolg is. De temperatuur wordt hoog en de parenchymateuze organen gaan degeneeren. Herstel van de ziekte veroorzaakt immuniteit, het immune dier blijft echter parasietendrager. De parasiet wordt overgebracht door de *Boôphilus decoloratus* en is voorts door bloedenting van het eene op het andere over te brengen. De anaplasmosis door bloedinjectie veroorzaakt, heeft een korter incubatietijdperk dan wanneer zij door teken wordt teweeggebracht.

Voorts zou het Theiler gelukt zijn van een gemengde infectie het *p. bigeminum* rein te krijgen, d.w.z. te scheiden van het anaplasma en wel op de volgende manier. Bij een dier, ingepoten met *p. bigeminum* en anaplasmenhoudend bloed, werd bloed genomen bij het begin van de haemoglobinurie, dus lang voordat de anaplasmen in het bloed verschenen, en dit overgeënt bij een geïmporteerd gevoelig dier. Later werd dat dier ingespoten met bloed, dat randpunten bevatte; het kreeg na den typischen incubatietijd (27—32 dagen) deze parasieten in het bloed.

Deze methode van het scheiden van het *p. bigeminum* van het anaplasma is ook door mij beproefd, doch met negatief resultaat, zooals uit de volgende proeven moge blijken.

Rund (Kalf) 116.

Op 22 October 1920 intraveneus ingespoten met 2 c.M³. gedefibrimeerd bloed van rund 169. Het bloed werd genomen dadelijk nadat het *p. bigeminum* in de circulatie verscheen, n.l. den 7en dag nadat het dier met *p. bigemina* en anaplasmenhoudend bloed werd ingespoten, en 16 dagen voordat de anaplasmen in het bloed konden worden aangetoond.

De hoeveelheid overgeënte bloed werd opzettelijk tot 2 c.M³. beperkt om de kans van overbrengen van anaplasmen zooveel mogelijk te voorkomen.

Op 5 November 1920, 13 dagen na de inspuiting, verschenen de *p. bigemina* in de circulatie, de temperatuur kwam tot 39.8. Het bloedbeeld was nog normaal.

De temperatuur bleef 2 dagen hoog, werd weer normaal, terwijl de *p. bigemina* langzamerhand uit de circulatie verdwenen, slechts na lang zoeken werd soms nog een enkele *p. bigeminum* in het preparaat gezien.

Op 15 November 1920 verschenen anaplasmen in het bloed. Het aantal anaplasmen nam in de 3 volgende dagen toe; tot 25% van het aantal erythrocyten, zijn met een of twee anaplasmen geïnficeerd. Tegelijk traden ook bloedveranderingen in het bloed, anisocytose, poikilocytose, basophile granulatie en polychromasie. De temperatuur kwam tot 39.6 C. Daarna verdwenen de anaplasmen uit het bloed, het bloedbeeld werd langzamerhand normaal, eveneens de temperatuur; het dier herstelde zich volkomen.

Rund (Kalf) 137.

Op 29 September 1921 subcutaan ingespoten met 2 c.M³. gedefibrineerd bloed van Rund 135. Het bloed werd afgenomen direct na verschijnen van het *p. bigemina* in het bloed, n.l. 3 dagen na de infectie. De anaplasmen werden pas den 25 October 1921 bij rund 135 aangetoond; het bloed was dus genomen 26 dagen vóór het optreden van anaplasmen in de circulatie.

Op 4 October 1921 verschenen *p. bigemina* in de circulatie, temperatuur kwam tot 39.6° C. Gedurende 3 dagen schommelde de temperatuur tusschen 39° en 40° C., de bigeminumparasieten namen toe, terwijl haemoglobininurie niet werd waargenomen. De toestand van het dier verbeterde daarna, temperatuur werd weer normaal.

Op 7 November steeg de temperatuur weer tot 39.7° C., terwijl de anaplasmen in de circulatie verschenen. De volgende 3 dagen nam het aantal anaplasmen toe, terwijl ook bloedveranderingen intraden, n.l. anisocytose, poikilocytose, polychromasie, basophile granulatie. Daarna gingen de anaplasmen weer terug, het bloedbeeld werd allengs beter en het dier herstelde zich geheel.

Het resultaat van bovenstaande proefnemingen is dus in tegenspraak met de ervaring van Theiler.

Nadere onderzoekingen van Theiler omtrent anaplasmosis

konden hem slechts versterken in zijn overtuiging, dat het anaplasma van specifieke en parasitaire natuur is.

Het gelukte hem n.l. een kalf uit een der boerderijen van Karoo te betrekken, dat bij onderzoek drager bleek te zijn van uitsluitend anaplasmen. Dit kalf was afkomstig van een streek, waar de runderen zeer gevoelig zijn voor *p. bigeminum* en steeds in geringe mate gevoelig voor anaplasmosis. De mogelijkheid bestond dus dat er geen *p. bigeminum* voorkwam, doch wel anaplasmen. Dat bedoeld kalf werkelijk alleen anaplasmen in zijn bloed herbergde, bleek onder andere uit het feit, dat het bloed daarvan overgebracht op een in de stallen van het laboratorium geboren kalf (absoluut vrij gehouden van eventuele infectie) slechts met anaplasmosis reageerde. Bovendien bleek deze zuivere anaplasma drager gevoelig te zijn voor *bigeminum*-infectie.

Dit kalf nu, de zuivere anaplasma drager, werd als uitgangspunt van een reeks experimenten. Het gelukte Theiler om tot in de entingen 4e generatie het anaplasma zuiver van dier op dier over te enten.

I. Entingen 1e generatie.

Van het bovenbedoelde Karookalf werden de Sussex-runderen Nos. 928 en 940 geënt.

Beide dieren reageerden positief met zuivere anaplasmosis. Met verschijnen van de anaplasmen kregen de dieren verhoogde temperatuur en anaemisch bloedbeeld. Beide dieren herstelden.

II. Entingen 2e generatie.

Met bloed van runderen Nos. 928 en 940 werden 3 andere Sussex-runderen Nos. 933, 938 en 932 geënt. Alle 3 runderen reageerden typisch met zuivere anaplasmosis.

III. Entingen 3e generatie.

Sussex-runderen Nos. 935, 937, 1212, 1220, 1221 werden geënt met bloed van runderen Nos. 933, 938 en 932. Alle 5 runderen reageerden positief.

IV. Entingen 4e generatie.

Sussex-runderen 1223 en 1222 werden geënt met bloed van rund No. 1212. Beide entingen vielen weer positief uit.

Bij bovengenoemde entingen heeft het anaplasma dus gedurende 4 generaties zich zuiver voortgeplant.

Theiler ging nog verder met zijn experimenten om de specificiteit van het anaplasma aan te toonen, n.l. door na te gaan of het doorstaan van anaplasmosis wellicht immuniteit geeft tegen Texaskoorts.

Daartoe nam hij de runderen Nos. 906, 881, 928, 940, 933, 938, 932, 937 en 1212 alle met zuivere anaplasmosis, en entte ze met *p. bigeminum*. Alle 9 dieren reageerden typisch met *p. bigemina*.

Hij kwam daardoor tot de conclusie, dat het doorstaan van anaplasmosis geen immuniteit tegen Texaskoorts geeft.

De entingen verricht met als uitgangsmateriaal het Karookalf, dat zuivere anaplasma drager was, had hem nog een andere ervaring geleerd. Het viel n.l. op, dat in tegenstelling met vroeger door hem waargenomen gevallen, deze anaplasmosis niet zoo virulent was. Zonder thermometer en microscoop zou men de gevallen niet geconstateerd hebben vanwege het milde verloop.

Eveneens viel het Theiler op, dat het anaplasma van het Karookalf in tegenstelling met het anaplasma marginale, dat gewoonlijk aan den rand van den erythrocyt gelegen is, thans meer naar het midden van de bloedschijf is. Deze waarneming gaf hem aanleiding het laatste te beschouwen als een andere variëteit, n.l. *Anaplasma marginale* (variëteit centrale).

Het komt mij echter voor, dat er geen voldoende reden is onderscheid te maken tusschen anaplasma marginale en anaplasma marginale (var. centrale). Gewoonlijk toch ziet met de anaplasmen zoowel aan den rand als in het midden van de roode bloedcel. De meer exentrische of centrale ligging van het anaplasma hangt m.i. af van de toevallige ligging waarin de parasiet komt ten opzichte van de erythrocyt, bij het uitslijken van het preparaat.

Voorts beproefde Theiler of het anaplasma variëteit centrale, dat een goedaardiger anaplasmosis teweeg brengt, immuniteit gaf tegen het meer virulente anaplasma marginale. De 6 runderen, die hij eerst een infectie met anaplasma centrale liet doorstaan, bleken bij een volgende infectie met anaplasma marginale

nog maar weinig te reageeren. Absolute immuniteit ontstond dus niet.

De Blicck (1910), die de anaplasmosis in Nederlandsch-Indië uitvoerig bestudeerde, kwam tot gelijklopende conclusie als Theiler omtrent de specifieke en parasitaire natuur van het anaplasma.

Het allereerst nam De Blicck de anaplasmen waar te Lawang in menginfectie met *G. mutans* en *p. bigeminum* bij geïmporteerde Australische melkrunderen. Bij de bestudeering van deze gemengde infectie viel het hem natuurlijk moeilijk omtrent de anaplasmen een standpunt in te nemen.

Aan welke parasiten de waargenomen ziekteverschijnselen toe te schrijven viel niet uit te maken.

Aangemoedigd door de vroeger door De Does verkregen resultaten omtrent het onderzoek naar bloedparasieten bij magere en anaemische kalveren in het Bataviasche, zette De Blicck het onderzoek in deze richting voort. Ik was ook in de gelegenheid aan deze onderzoekingen deel te nemen. De Blicck kwam evenals De Does tot de bevinding, dat de Bataviasche runderen, vooral de magere cachectische klaveren, dragers zijn van diverse bloedparasieten, n.l. *p. bigemina*, *p. mutans* en anaplasmen.

Wij verrichtten een reeks van entingsproeven en konden evenals Theiler ten slotte het anaplasma isoleeren.

De volgende experimenten van ons steunen de bevindingen van Theiler omtrent de specificiteit van het anaplasma.

Rund No. 16 op Java. Geïmporteerde Australische koe. 5 jaar.

Op 22 April 1912. Intraveneus ingespoten met 5 c.M³. gedefibrineerd bloed van Rund 4 (Geïmporteerde Austr. koe, die geïnfecteerd was met Javasche *p. bigeminum*).

Op 29 April 1912, dus 7 dagen na de infectie, reageerde het dier positief op het *p. bigeminum*. Verhoogde temperatuur, vele *p. bigemina*, 4 op een gezichtsveld. De pols 60 in de minuut, ademhaling 26, diarrhee.

Op 30 April 1912. Toestand als gisteren.

Op 1 Mei 1912. Temperatuur 39.9 C., geen parasieten meer in het bloed.

Op 2 Mei. Geworpen dood kalf. De toestand van het dier verbeterde steeds.

Op 8 Mei kwam de temperatuur nog tot 40.5° C., doch parasieten werden niet meer gevonden. Daarna werd de toestand van het dier steeds beter en herstelde zich geheel.

Op 26 Juni werd ditzelfde dier subcutaan ingespoten met 30 cc. gedefibrimeerd bloed van kalf 2, afkomstig van Batavia (drager van *p. bigeminum*, *p. mutans* en anaplasmen).

Na deze enting reageerde het dier niet op het *p. bigeminum* (immunitet verkregen door de 1e enting).

Op 14 Juli 1912 werden *p. mutans* in het bloed aangetoond.

Op 17 Juli 1912. Temperatuursverhooging, toont zich ziek, veel anaplasmen in het bloed.

Op 18 Juli 1912. Zeer ziek, weigert voedsel. Zeer veel anaplasmen in het bloed.

Op 19 Juli 1912. Erythrocyten bijna voor 100 % geïnfecteerd met anaplasmen, bloedveranderingen basophilie, anisocytose, poikilocytose, megalo- en normablasten. Denzelfden dag stierf het dier.

Uit deze proef trokken wij de conclusie, dat Rund 4 een zuivere *p. bigeminum*drager was en dat kalf 22 drager was van virulente anaplasmen, die den dood van proefdier Rund 16 veroorzaakten.

Proefdier Rund No. 18. Op Java geïmporteerde Austr. koe.

Op 10 Juni 1912 ingespoten met 10 c.M³. bloed Rund 4 (drager *p. bigeminum*). Positieve reactie op *p. big.* trad op op 18 Juni 1912.

Op 22 Juni 1912. Subcutaan ingespoten met 30 c.M³. bloed rund 6 (drager *p. bigeminum*). Positieve reactie trad op op 28 Juni 1912.

Op 17 Juli 1912 subcutaan ingespoten met bloed Rund 17 (anaplasmandrager).

Op 9 Augustus 1912. Positieve reactie met typische anaplasmosis.

Uit deze proefneming viel alweder te concludeeren, dat men te doen had met tweeërlei soorten parasieten, n.l. *p. bigeminum* en anaplasmen.

Voorts deed De Blieck nog infectieproeven met teken en gelukte het hem positieve resultaten te krijgen door het zetten van geïnfecteerde niet volgezogen imago's van *Boôphilus australis* op niet immune runderen.

De Blieck onderzocht de runderen behalve van verschillende streken van Java, ook van Sumatra en kleine Soenda eilanden en bevond, dat de Indische runderen meer of minder ongevoelig zijn tegen anaplasmosis door in de jeugd verkregen immuniteit. Jonge dieren zijn in het algemeen niet zeer gevoelig voor piroplasmosis, zoodat in de jeugd opgedane infectie actief immuniseerend werkt. Het is ook bekend, dat de Indische vee-stapel een zekere mate van immuniteit bezit tegen piroplasmosis.

Geïmporteerde gevoelige runderen echter loopten op Java groote kans van besmet te worden en kan de ziekte een alarmeerend karakter aannemen. De bevinding van De Blieck komt overeen met die van De Does, Penning en anderen.

De Blieck kon verder door entingsproeven aantoonen, dat Javasche runderen, afkomstig van bergstreken waar geen of weinig teken voorkomen, gevoelig zijn voor anaplasmosis van de laaglanden.

Voorts was hij in staat aan te toonen, dat Java runderen gevoelig zijn voor infectie met *p. bigeminum* en anaplasmen afkomstig van Delische (Sumatraansche) runderen. Ook bij op Java geïmporteerde Bengaalsche runderen kon hij anaplasmen aantoonen.

Uit de verkregen reine anaplasmaïnfectie verrichtte De Blieck op Java nog tal van experimenten en kon hij evenals Theiler het anaplasma gedurende eenige generaties voortkweken van dier op dier.

Op grond van al zijn onderzoekingen op Java komt De Blieck tot de eindconclusie, dat anaplasmosis in Indië voorkomt gelijk aan de door Theiler in Afrika geconstateerde ziekte, terwijl hij wat betreft aard en wezen van het anaplasma, volkomen het inzicht van Theiler deelt.

Ik zelf was in de gelegenheid om in West- en Oost-Java het bloed van een groot aantal anaemische en cachectische kalveren op de aanwezigheid van piroplasmen te onderzoeken. Immers volgens De Blicck en De Does zijn het de dragers van piroplasmen en anaplasmen. Inderdaad vond ik meermalen *G. mutans* en anaplasmen in het bloed van deze dieren. Ik moet evenwel in het midden laten of de gevonden zeer sporadische anaplasmen als parasieten te beschouwen zijn. Immers zijn ze niet te onderscheiden van randpunten, die als gevolg van de anaemische toestand in het bloed optreden. Behalve aan chronische piroplasmosis hebben de cachectische kalveren in de laaglanden van Java ook te lijden aan distomatosis en ingewandswormen, welke eveneens anaemie veroorzaken. De veelvuldig bij deze kalveren aangetroffen *G. mutans* wordt gewoonlijk gehouden voor onschuldig, d.w.z. niet pathogeen. Het is wellicht niet overbodig deze kwestie in verband met het anaplasma nader te beschouwen.

Ik kan mij moeilijk voorstellen, dat deze parasiet, die evenals andere piroplasmen in de erythrocyten dringt, geen destructieve werking uitoefent op de bloedcel. Trouwens De Does en Penning hadden het *G. mutans* in Indië aangezien voor het *Theileria parva*, de veroorzaker van de Oostkustkoorts; ook zij meenden er pathogeniteit aan te moeten toeschrijven. Latere onderzoekingen van De Blicck en mij (1912) hebben aangetoond, dat De Does en Penning te maken hadden met *G. mutans* en niet *Th. parva*, Morphologisch zijn beide piroplasmen in het periphere bloed, n.l. moeilijk van elkander te onderscheiden, biologisch echter loopen zij ver uit elkander. De typische Kochsche bollen bij Oostkustkoorts ziet men bij het *G. mutans* niet.

Vrijburg nam in Deli enkele malen acute ziektegevallen tengevolge van *G. mutans* infectie bij pas geïmporteerde Bengaalsche runderen waar.

De Blicck (1910) zelf zag eens bij een runderpiroplasmosis in Lawang overheerschend *G. mutans* en minder *p. bigeminum* en anaplasmen.

Springefeldt maakt ook gewag van acuut verloopende *G. mutans* infectie in Kamerun (Afrika).

In Celebes zag ik het *G. mutans* en de anaplasmatische lichaampjes dikwijls bij magere kalveren van de laaglanden; als regel zitten zulke kalveren stampvol teken, dat het niet uit te maken is of de vermagering en anaemie nog veroorzaakt wordt door de piroplasmen dan wel door groote bloedonttrekking door teken.

In Argentinië werd anaplasmosis uitvoerig door Lignières bestudeerd. De verschijnselen zijn volgens hem achterblijven bij de kudde, slechte voedingstoestand, overeindstaande dorre haren, onzekere gang, zware anaemie, gestoorde eetlust, constipatie (in enkele gevallen diarrhee), koorts tot boven 40° , kleine frequente pols, versnelde ademhaling. Icterus treedt zelden op. De urine heeft bijna altijd een normale kleur.

Hij zag soms bij anaplasmosose patiënten haemoglobinurie, echter steeds gedurende korten tijd, daarna werd de kleur der urine weer normaal, ook al stierven de dieren aan de ziekte.

L. zag soms gedurende de laatste 2 dagen voor den dood het aantal roode bloedcellen met 4 miljoen per c.M^3 . verminderen, zonder dat haemoglobinurie optrad.

Nerveuze verschijnselen kunnen voorkomen, coma, soms ook verhoogde prikkelbaarheid. De parasieten liggen meestal aan de peripherie van de roode bloedlichaampjes (meer dan 45 % kunnen parasietenhoudend zijn).

De verschijnselen duren eenige dagen. Voor het optreden der klinische symptomen bestaat reeds koorts, die echter meestal over het hoofd wordt gezien. De reconvalescentie is van langen duur. Het bloed van herstelde dieren blijft maandenlang virulent.

Sectieverschijnselen zijn: vergroote milt ($2 \times$ het normale volume), lever-hyperaemie, gevulde galblaas, meestal ontbreekt icterus.

De parasieten zijn in alle inwendige organen te vinden, maar minder talrijk dan in het circuleerende bloed kort voor den dood. Nieuw ingevoerde dieren krijgen in besmette streken in Argentinië eerst piroplasmosis (Texaskoorts) (2 à 3 weken nadat ze in de weide zijn); die welke herstellen krijgen na of tijdens hun herstel anaplasmosose, die dan veelal voor een recidieve der Texaskoorts wordt aangezien. Dergelijke recidieven komen ook voor, maar zijn veel goedaardiger dan anaplasmosose-

aanval. Bij de natuurlijke infectie komt volgens Lignières het anaplasma bijna altijd voor in gemengde infectie met *p. bigeminum* of *p. argentina* of met beide. Slechts eenmaal zag hij zuivere anaplasmosiseïnfectie.

Door passage enting door tegen Texaskoorts immune runderen gelukte het Lignières reine anaplasmosise infectie te krijgen. Na 3 jaar door bloedenting van rund op rund te zijn overgebracht, was deze stam nog volstrekt niet in virulentie achteruitgegaan. Het anaplasma was virulenter dan de ter plaatse voorkomende *p. bigeminum* parasieten.

L. zag dikwijls 2 à 3 anaplasmata in een bloedlichaampje, zelden meer; gewoonlijk liggen ze geïsoleerd, eenmaal zag hij ze als een kleine ketting; de vorm is regelmatig rond, door Giemsa worden ze gelijkmatig donkerviolet gekleurd. De grootte is 0.5—1 micron.

Lignières dacht dat in Argentinië de anaplasmosis werd overgebracht door dezelfde teek, *boophilus annulatus*, die ook de Texaskoorts overbrengt, omdat hij die teek aantrof op runderen met anaplasmosis. Het gelukte hem echter niet om met larven van deze teken de ziekte van het eene dier op het andere over te brengen. Later achtte hij het waarschijnlijk dat *Amblyoma* de anaplasmosis overbrengt.

Het doorstaan van anaplasmosis geeft volgens Lignières immuniteit. Het virus gaat niet door de placenta.

Hij spoot bloed van een 5 maanden oude foetus, waarvan de moeder aan anaplasmosis was gestorven bij een rund in; dit dier bleef gezond en bleek later bij enting met anaplasma-bloed niet immuun te zijn.

Deze waarneming stemt met een door De Bleeck en mij waargenomen geval. Een in hevige mate aan anaplasmosis lijdend rund wierp een dood kalf. De organen van dit kalf, lever, milt, nieren en hart werden op anaplasmen microscopisch onderzocht met negatief resultaat. Een emulsie van de milt subcutaan ingespoten bij een gevoelig rund leverde eveneens niets op.

Het anaplasma van Argentinië was virulenter dan het Afrikaansche. In Argentinië is de mortaliteit 40—70 %, bij volwassen dieren bijna 100 %. Lignières was ook in staat reine anaplasma infectie te verkrijgen.

Morphologisch komt het anaplasma van Argentinië overeen met het anaplasma marginale van Theiler. Lignières is overtuigd van den parasitair aard van het anaplasma.

Later publiceerde Lignières nog een zeer belangwekkend artikel omtrent zijn studiën van het anaplasma, om nog meer bewijs te leveren dat het anaplasma werkelijk een specifieke en parasitaire natuur heeft.

Hij spoot anaplasmenhoudend bloed in bij konijnen, cavia's, varkens en paarden, bij alle met negatief resultaat. In het bloed van de geënte dieren werden geen anaplasmen aangetoond, terwijl dit bloed, overgeënt op gevoelige runderen, ook geen anaplasmosis verwekte. Wel zag hij, dat wanneer hij anaplasmenhoudend bloed bij het schaap of de geit inspoot, dan reageerden deze dieren wel is waar niet met ziekteverschijnselen, doch indien men het bloed van het geënte schaap of geit later overënt op gevoelige runderen, dan werd anaplasmosis bij het rund verwekt. Het virus laat zich van schaap op schaap overenten en zelfs na de 15e passage enting in 5 jaar tijd veroorzaakte het nog anaplasmosis bij gevoelige runderen.

De passageschapen waren steeds gezond, terwijl de anaplasmen niet in het bloed waargenomen konden worden.

Lignières meent, dat de anaplasmen in het schape lichaam waarschijnlijk zoo klein zijn, dat zij aan de waarneming ontsnappen. Hij ziet hierin een middel om het anaplasma te mittegeeren en om het af te scheiden van andere piroplasmen zooals het *p. bigeminum*.

Wat betreft de bevinding van Lignières omtrent de onvatbaarheid van het paard, hond, konijn en cavia tegenover anaplasmosis, kan ik bevestigen. Ik heb n.l. paarden, cavia's, konijnen en honden ingespoten met groote hoeveelheden anaplasmenhoudend bloed, genomen van runderen, verkeerende in het acute stadium van anaplasmosis, bij alle was het resultaat negatief. Het bloed van de ingespoten dieren later overgebracht op gevoelige runderen leverde ook geen resultaat.

Wat betreft de andere bevinding van Lignières omtrent de passage van het anaplasma door schaap en geit en later weer overenten op het gevoelige rund, kan ik echter door de nega-

tieve uitkomst van mijn proefnemingen daaromtrent niet bevestigen.

Ik nam de volgende proeven:

1e Rund 139, (het dier is lijdende aan tuberculose).

Op 23 Maart 1921 intraveneus ingespoten met 30 c.M³. gedefibrmeerd bloed van schaap 40 (op 14 October 1920 ingespoten met 20 c.M³. bloed van een aan acute anaplasmosis lijdend rund). Bij dit dier trad absoluut geen reactie op.

Op 4 Mei 1921 is het dier aan tuberculose gestorven.

2e Rund 126.

Op 14 November 1921 subcutaan ingespoten met 40 cc. bloed van schaap 41 (voorbehandeld met bloed van een aan acute anaplasmosis lijdend rund). Tot 3 maanden na de inspuiting werd het bloed microscopisch onderzocht en de temperatuur gecontroleerd. Reactie trad niet op.

3e Rund (Kalf) 136.

Op 13 Juni 1921 subcutaan ingespoten met 20 c.M³. bloed van geit No. 47 (voorbehandeld met bloed, afkomstig van een aan acute anaplasmosis lijdend rund).

Resultaat negatief.

De schapen en de geit, die voor het doel aangewend werden, hadden ook niet het minst op de anaplasmosis gereageerd.

Op grond van bovenstaande proefnemingen kan ik de resultaten van Lignieres niet onderschrijven.

Waar het schaap en de geit ongevoelig zijn voor runder anaplasmosis, lijkt het mij trouwens zeer onwaarschijnlijk, dat de anaplasmen zoolang in het lichaam van die dieren kunnen blijven leven om bij latere overbrenging op gevoelige runderen nog anaplasmosis te kunnen verwekken.

Lignieres oppert de hypothese, dat het anaplasma virus in het bloed van schaap of geit latent en onzichtbaar wordt. Dit lijkt mij te ver gezocht, want op een bodem, waar de parasiet niet aarden kan, moet zij ook ten gronde gaan.

Springefeldt nam in Kamerun bij runderen anaplasmosis waar

met of zonder *G. mutans*. Hij zag peracute, acute en chronische gevallen. De peracute gevallen zouden dan overeenkomen met de door Penning beschreven anaplasmosis.

Carpano maakte in 1913 melding van een ziekte bij runderen in de Campagna (Italië). Verschijnselen waren koorts, slijmerige faeces, anaemie, lichte icterus, bij melkkoeien opgehouden melksecretie, zwangere dieren aborteren; de dood volgt na 12—15 dagen. Soms eenige dagen voor den dood haemoglobinurie, dan bestaat gewoonlijk gemengde infectie met begemina. Bij genezing is na 2 à 3 dagen de temperatuur weer normaal; anaemie blijft eenigen tijd bestaan. Carpano houdt de ziekte voor anaplasmosis.

Klinische verschijnselen. Zooals uit het voorgaande blijkt loopen de door verschillende onderzoekers waargenomen klinische verschijnselen nogal uiteen. Men maakt melding van peracut, acuut en chronisch verloop van de ziekte. Een en ander wordt nog bemoeilijkt door de zeer weinige gevallen van zuivere anaplasmosis zonder eenige menginfectie met de een of andere parasiet, die waargenomen zijn. Het vinden van veel anaplasmen in het bloed is het eenige goede criterium, dat men met een geval van anaplasmosis te doen heeft.

De waargenomen klinische verschijnselen laten zich in het kort samenvatten als volgt: verhoogde temperatuur, versnelde pols en ademhaling, geïnjecteerde slijmvliezen, soms icterische, obstipatie later diarrhee, zwakte. In enkele gevallen coma of excitatieverschijnselen. De urine is geel, nooit rood.

De sectieverschijnselen zijn over het algemeen: icterus, dun waterig bloed, vermeerderde pleuraalvloeistof, longoedeem; bronchiale en mediastinale lymphklieren een weinig gezwollen, bloedloos een enkele maal haemorrhagien bevattend; bloedingen op het epicardium en het endocardium. De lever vergroot, geel gekleurd. De milt vergroot, de kapsel bevat bloedingen en de pulpa is week en zwart-rood van kleur.

Teneinde het verloop van anaplasmosis na te gaan en ter bestudeering van de bloedveranderingen, die erbij optreden, heb ik de volgende entingsproeven verricht. Het is echter te betreuren dat niet beschikt kon worden over materiaal met

zuivere anaplasmen zonder menginfectie met *p. bigeminum*. Pogingen door mij aangewend om het anaplasma te scheiden van het *p. bigeminum* volgens de door Theiler aanbevolen methode, zijn zooals reeds eerder vermeld, niet gelukt.

1e Rund (Kalf) 112.

Op 28 Augustus 1920 subcutaan ingespoten met 10 cM³. gedefibrineerd bloed van koe 344 Londen (Amerikaansche anaplasma).

Op 5 September 1920, dus 3 dagen na de inspuiting werden de piroplasma bigemina waargenomen in het bloed. De temperatuur was reeds sinds den 2 September verhoogd tot 40.5 C. Het aantal bigeminaparasieten nam de 6 volgende dagen toe tot 3 à 4 parasieten in een gezichtsveld, terwijl de temperatuur bleef schommelen tusschen 39.5 en 41.5 C. Behalve anisocytose toont het bloedbeeld geen andere veranderingen. Bloedurineeren werd niet waargenomen. Eetlust was wat verminderd.

Op 13 September 1920 daalde de temperatuur weer tot normaal en verdwenen de bigeminaparasieten uit de circulatie. Af en toe werd nog een *p. bigeminum* parasiet in de dagelijks onderzochte bloedparasieten gezien, doch slechts na lang zoeken.

Op 18 October 1920 steeg de temperatuur weer tot boven 40° C. en werden nu anaplasmen in het bloed waargenomen. Den volgenden dag nam het aantal anaplasmen toe, tot 20 % van het aantal erythrocyten zijn geïnfecteerd met 1 of 2 anaplasmen. De anaplasmen liggen soms tegen elkaar aan alsof een deeling pas is voorafgegaan. Nu treden in het bloedbeeld belangrijke bloedveranderingen in, anisocytose, polikilocytose, polychromasie, basophile grunulatie. De eetlust van het dier is gestoord. Deze toestand bleef 4 dagen, daarna verdwenen de anaplasmen uit de circulatie, het bloedbeeld werd gaandeweg beter en het dier herstelde zich geheel.

Den 26 November 1920 werd het dier voor de slachtbank verkocht.

2e Rund (Kalf) No. 110. 1 jaar.

Op 11 October 1920 ingespoten met 10 c.M³. bloed van rund (kalf) No. 112.

Op 16 October 1920 steeg de temperatuur tot 40.8° C. en tegelijk verschenen de piroplasma bigemina in het bloed. Gedurende 4 dagen bleef de temperatuur hoog, de p. bigemina werden nu ook dagelijks waargenomen.

Het bloedbeeld bleef goed. Bloedurineeren trad niet op. Daarna zakte de temperatuur weer en de parasieten verdwenen uit de circulatie.

Op 26 October 1921 kwam de temperatuur weer tot 40.6° C., de anaplasmen worden nu in het bloed waargenomen.

Het aantal anaplasmen nam de volgende dagen toe, terwijl bloedveranderingen, anisocytose, poikilocytose, basophile granulatie intraden.

Tot en met 2 November 1920 bleef de temperatuur hoog tot zelfs 40.9° C. 's avonds; de anaplasmen werden ook dagelijks in het bloed aangetoond. Daarna daalde de temperatuur tot normaal, de anaplasmen verdwenen uit de circulatie, terwijl het bloedbeeld zich geheel herstelde. Dit dier bleef verder gezond, groeide tot een goed volwassen rund en bleef tot April 1922 in de stallen van het instituut voor infectieziekten. Het diende geruimen tijd als virusreservoir, want hoewel uiterlijk volkomen gezond en in goeden voedingstoestand verkeerend, was zijn bloed toch steeds infectieus gebleken voor andere gevoelige dieren.

Het dier zelf was volkomen immuun, reageerde niet meer op andere inspuitingen, zelfs met groote doses.

3e Rund 39.

Op 8 September 1920 intraveneus ingespoten met 40 c.M³. gedefibrineerd bloed van Rund 112.

Op 13 September 1920 dus 5 dagen na de infectie steeg de temperatuur tot 39.5° C. en verschenen de p. bigemina in het bloed.

Op 14 September 1920. Het aantal parasieten nam toe, de temperatuur steeg tot 40°. Eetlust van het dier gestoord.

Op 15 September 1920. Het aantal parasieten nog vermeerderd tot 6 in een gezichtsveld, de temperatuur komt tot 41.5° C. Haemoglobinurie trad op. Het dier toont zich erg ziek, weigert alle voedsel.

Vanwege het alarmeerende verloop werd intraveneus 300 c.M³. 1% oplossing trypaanblauw toegediend.

Den volgende dag verbeterde de toestand reeds, de temperatuur daalde, terwijl het aantal parasieten veel verminderde.

Op 23 September was de temperatuur weer volkomen normaal, parasieten werden sinds enkele dagen niet in het bloed waargenomen.

Op 13 October 1920 steeg de temperatuur weer tot 39.6° C. en werden nu anaplasmen in het bloed aangetoond.

De volgende dagen vermeerderden de anaplasmen tot $\pm 30\%$ van het aantal erythrocyten, terwijl de bloedveranderingen anisocytose, poikilocytose, polichromasie en basophile granulatie werden waargenomen.

Miltpunctie werd bij dit dier verricht teneinde miltpulpa te verkrijgen ter onderzoek op anaplasmen. In het van de miltpulpa verkregen preparaat waren zoowel in als buiten de erythrocyten anaplasmen te zien. Daarna verbeterde de toestand van het dier, het bloedbeeld werd allengs beter en was ten slotte normaal.

Nog geruimen tijd bleef dit dier in uitstekende conditie. Af en toe werden nog bloedpreparaten onderzocht op p. bigeminum en anaplasmen, doch steeds met negatief resultaat.

In September 1921 begon het dier verschijnselen van paratuberculose te vertoonen, die zoodanig in hevigheid toenamen, dat het begin November d.a.v. aan deze ziekte succombeerde.

In October 1918 was dit dier n.l. met paratuberculosebacteriën gevoederd geworden. Gedurende 3 jaar is de paratuberculose dus latent gebleven, kwam zelfs niet tot uitbraak toen het dier door de piroplasmosisaanval verzwakte. Toen het dier door de paratuberculose zoo zeer vermagerd en anaemisch was, werd het bloed een paar malen op piroplasmen en eventuele verandering van het bloedbeeld onderzocht, doch geen enkele parasiet kon worden aangetoond, terwijl het bloedbeeld slechts anisocytose vertoonde. De paratuberculoseaanval was

dus niet in staat om bij dit dier de latente piroplasmosis op te wekken.

4e Rund. Oude Koe.

Op 28 Augustus 1920 subcutaan ingespoten met 10 cM³. gedefibrineerd bloed van koe Londen 345 (Amerikaansche anaplasmen).

Op 10 September 1920 steeg de temperatuur tot 40.5° C., doch werden nog geen parasieten in het bloed aangetoond. Eerst

op 16 September 1920 werden p. bigemina in het bloed aangetoond, de temperatuur kwam tot 40.7° C.

De temperatuur bleef hoog tot 28 September 1920, dagelijks werden p. bigemina in het bloed aangetoond. Haemoglobinurie trad niet op.

Na 28 September 1920 daalde de temperatuur tot normaal, parasieten werden nu niet meer gevonden in de dagelijks onderzochte preparaten.

Op 8 October 1920 steeg de temperatuur weer plotseling tot 39.8°, het bloed vertoonde nu veel anaplasmen. Bloedveranderingen anisocytose, poikilocytose, polichromasie, basophile granulatie, megal- en erythroblasten werden nu ook aangetoond. Het dier erg ziek en stierf den volgenden dag reeds, terwijl het bloed vol anaplasmen zat.

Bij de sectie werd een septichaemisch beeld geconstateerd, parenchymateuze degeneratie van hart, lever en nieren. De milt was zeer vergroot.

5e Rund 133. (Oude Koe, lijdende aan tuberculose).

Op 18 Mei 1921 intraveneus ingespoten met 50 cM³. bloed van rund 30 (p. bigemnum en anaplasmen).

Op 22 Mei 1921 dus 4 dagen na de inspuiting reeds werden anaplasmen in het bloed aangetoond, die in den loop van den dag sterk vermeerderden. De temperatuur was 40.5° C., het dier was erg ziek, bleef liggen en weigerde alle voedsel.

Op 23 Mei 1921. De erythrocyten waren bijna voor 100 % geïnfecteerd met anaplasmen. Enkele p. bigemina werden nu ook aangetoond. Het bloedbeeld was zeer slecht,

anisocytose, poikilocytose, basophile granulatie, veel bloedplaatjes, megal- en erythroblasten. In den middag stierf het dier.

Bij de sectie bleken uitgebreide tuberculosehaarden in de longen, lever, retropharyngeale, mediastinale, bronchiale en mesenteriale lymphklieren. Hart en nieren parenchymateus gedegeneerd. Milt erg gezwollen.

Teneinde te controleeren of de gevonden puntvormige lichaampjes in het bloed soms bacteriën waren, werden uit bloed van het nog levende dier en later uit de organen culturen aangelegd, op verschillende voedingsbodems, alles bleef echter steriel. In uitstrijkpreparaten van milt, hart en nieren waren heel veel anaplasmen.

Bij dit proefdier waren de anaplasmen al bijzonder gauw opgetreden, 4 dagen na injectie verschenen ze reeds in grooten getale in de circulatie. Waarschijnlijk staat dit in verband met de groote hoeveelheid materiaal, dat ingespoten werd bij een gevoelig zeer verzwakt dier.

Een dergelijk geval werd ook door Theiler waargenomen, toen hij een gevoelig rund inspoot met 100 c.M³. anaplasmenhoudend bloed; 4 dagen na de inspuiting reageerde het dier reeds met koorts en verschijnselen van de anaplasmen in de circulatie, gevolgd door de bekende bloedveranderingen.

6e Rund 135. (Oude Koe).

Op 21 September 1921 subcutaan ingespoten met 10 cc. bloed van rund 125 (p. bigeminum en anaplasmen).

Op 28 September 1921 trad verhoogde temperatuur op, 40.2° C., tegelijk werden p. bigeminum in het bloed aangetoond.

Tot 1 October 1921 werden geregeld p. bigemina in het bloed gezien, bloedwateren werd niet waargenomen.

Op 25 October 1921 werden de anaplasmen voor het eerst gezien, die de volgende dagen in aantal toenamen, terwijl ook bloedveranderingen, poikilocytose, polychromasie, basophile granulatie optraden.

Het dier ging zeer achteruit, werd cachectisch en moest ten

slotte afgemaakt worden. Door omstandigheden werd geen sectie verricht.

7e Rund 219, (oude koe, voedingstoestand vrij goed, lijdende aan tuberculose).

Op 16 Januari 1922 subcutaan ingespoten met 50 c.M³. bloed van rund 125 (p. bigeminum en anaplasmen).

Op 22 Januari 1922 verschenen p. bigemina, vergezeld van verhoogde temperatuur.

De volgende 2 dagen bleef de temperatuur hoog, om daarna weer normaal te worden. P. bigemina verdwenen nu ook uit de circulatie.

Op 18 Februari trad de reactie met anaplasmosen op.

De volgende dagen namen de anaplasmen in aantal toe, het bloedbeeld werd zeer slecht. Het dier weigert alle voedsel, was erg ziek en stierf op 24 October 1921.

Bij de sectie werd een zeer vergrootte milt geconstateerd, hart, lever en nieren troebel gezwollen. Tevens werd tuberculose van longen en klieren waargenomen.

Bovenstaande proefnemingen bevestigen in hoofdzaak de uitkomsten van Theiler, De Blicke, Lignieres en anderen bij hun experimenten met gemengd entmateriaal p. bigeminum en anaplasmen.

Het incubatietijdperk van p. bigeminum is veel korter dan dat van het anaplasma. Het p. bigeminum verschijnt 4—11 dagen na intraveneuze of subcutane inspuiting in de circulatie, het anaplasma na 18 tot 45 dagen. Het incubatietijdperk is korter of langer al naar de hoeveelheid ingespoten materiaal, meerdere of mindere virulentie van de parasieten en gevoeligheid van het individu.

Bij rund 133 heeft men een typisch geval, waarbij de anaplasmen reeds 4 dagen na de inspuiting in de circulatie verschenen, zelfs één dag voordat de p. bigemina voor den dag kwamen. Dit moet toegeschreven worden aan de groote hoeveelheid ingespoten materiaal en de groote gevoeligheid van het ingespoten dier, dat zeer verzwakt was door de tuberculose. Theiler had ook een dergelijk geval gehad, toen hij inspoot met 100 cM³. anaplasmenhoudend bloed bij een gevoelig rund. Bij

alle behandelde dieren werden eerst de anaplasmen gezien en daarna pas volgden de degeneratieve bloedveranderingen. De ziekte verloopt mild bij jonge dieren, oude dieren daarentegen zijn zeer gevoelig. Bij oude dieren schijnt het bloed weinig kracht te hebben tot regeneratie, met het toenemen van de anaplasmen wordt het bloedbeeld slechter en slechter en de dieren gaan ten slotte aan bloedissolutie ten gronde. Jonge dieren daarentegen herstellen zich gauw, worden weer volkomen gezond, doch blijven parasietendrager. Zulke dieren verkrijgen immuniteit tegen de ziekte.

Differentieel diagnose. De anaplasmosis kan in de eerste plaats verward worden met Texaskoorts. Bij anaplasmosis ontbreekt echter de haemoglobinurie. Aangezien beide ziekten frequent gemengd voorkomen, wordt de differentieel diagnose moeilijk zonder microscopisch onderzoek.

In Indië kan men de ziekte bovendien verwarren met surra, miltvuur en septichaemia haemorrhagica. Microscopisch onderzoek dient daarom steeds te geschieden.

Behandeling. Met medicamenteuze behandeling heeft men tot nog toe weinig resultaat bereikt. Salvarsan en trypaanblauw heeft men geprobeerd, doch zonder resultaat.

Penning zou succes gehad hebben met intraveneuze inspuiting van argentum colloïdale.

Chambers en Smith hadden resultaten verkregen met waterige oplossing van chlor-hydrarg. en hydrochlor. chinin.

Het nieuwe middel Bayer 205, 2 Gr., opgelost in 20 c.M³. aq. dest. heb ik geprobeerd, doch zonder resultaat.

Brumpt en La Vie hebben ook negatief resultaat gehad met 205 in 2 gevallen. De beste bestrijding is de prophylactische n.l. de dieren tekenvrij te houden, en zodoende van de infectie te vrijwaren.

Het is bekend, dat de dieren op plaatsen, waar de ziekte inheemsch is, een zekere mate van immuniteit bezitten. Worden echter op zulke plaatsen gevoelige dieren uit andere streken ingevoerd, dan zijn het deze dieren die aangetast worden. In Indië is het b.v. bekend, dat geïmporteerde Australische en

Europeesche runderen dikwijls ten gronde gaan door piroplasmosis. Het zijn dus zulke geïmporteerde dieren, die men aan de prophylactische therapie moet onderwerpen. Theiler beveelt aan, vóór den invoer de dieren te immuniseeren door injectie met 5 cM³. bloed, dat anaplasma centrale bevat. Alleen jonge dieren echter kunnen zulke entingen goed verdragen.

De Blicck heeft op Java ook getracht runderen te immuniseeren door enting met anaplasma-bloed. Zijn resultaten waren echter niet schitterend, de geënte dieren werden ondanks goede voeding en rust mager, en bleven lang reconvalescent, oude dieren stierven soms aan de entziekte.

De stam, waarmede geëxperimenteerd, was zeker te virulent voor immunisatiedoeleinden. Indien op Java beschikt kon worden over minder virulent materiaal, zooals één der door mij gebruikte stammen, welke door de jarenlange overenting van dier op dier in virulentie is achteruitgegaan, dan zou immunisatie tegen anaplasmosis op Java nog te probeeren zijn.

X Zooals reeds betoogd heb ik bij jonge kalveren steeds een mild verloop van anaplamosis verwekt met opvolgende immuniteit, terwijl bij oude dieren de ziekte bijna altijd doodelijk verliep. Het is dus zaak om alleen jonge dieren aan dergelijke immunisatie te onderwerpen.

HOOFDSTUK IV.

Anaplasmosis bij den Buffel en andere dieren.

Bij den buffel werd anaplasmosis beschreven slechts door Nederlandsche veeartsen uit Nederlandsch-Indië. Penning (1904) nam acute gevallen van anaplasmosis bij buffels op Java waar. Volgens Penning zou de ziekte zelfs enzoëtisch optreden.

De Does maakte in het Geneeskundig tijdschrift voor Ned.-Indië, 1905, ook melding van de waarneming van puntvormige lichaampjes peripheer in de roode bloedlichaampjes bij buffels, die gewoonlijk in gemengde infectie met *Gonderia mutans* voorkwamen. De Does nam deze lichaampjes in het bloed van chronisch zieke dieren waar, terwijl hij de optredende ziekteverschijnselen meer aan de *Gonderia mutans* toeschreef.

In 1912 zijn door De Blicck en mij tegelijk met studiën over runder-anaplasmosis en *Gonderia mutans* meerdere gegevens verschaft omtrent anaplasmosis bij buffels op Java. Wij namen acute en chronische gevallen van anaplasmosis bij buffels waar. Bij acute gevallen werden de dieren plotseling ziek, soms vallen ze ziek neer bij den arbeid, blijven liggen, weigeren alle voedsel en sterven reeds na 2 of 3 dagen. De roode bloedcellen zijn bij dergelijke patiënten soms tot 100 % geïnfecteerd met anaplasmen. Bij chronische gevallen werd waargenomen sterke vermagering, anaemische toestand, oedemateus gezwollen conjunctivae. Kort voor den dood namen de anaplasmen in aantal toe, bijna alle roode bloedcellen raken geïnfecteerd, het bloed wordt zeer dun en waterig, de temperatuur komt tot 40°, frequente pols en ademhaling. Bij een van de patiënten werd het volgende sectieverslag gegeven: Uit den anus vloeide een weinig sereus bloederig vocht, necrose en infiltratie van de huid en het onderhuidsche bindweefsel ter plaatse waar het dier gedurende een paar dagen gelegen had, n.l. aan de ledematen, borst en buik.

De hartspier was troebel gezwollen, het endocardium was bezet met bloedingen. De lever en de nieren waren eveneens parenchymateus gedegenereerd; de nierkapsel was moeilijk los te pellen. De milt was slechts weinig gezwollen, de miltpulpa brijachtig van consistentie. Het dunne darmslijmvlies verkeerde in acute ontsteking. De lichaamslymphklieren waren sterk gezwollen. Van lever, milt en nier werden uitstrijkpreparaten microscopisch onderzocht met positief resultaat wat betreft de anaplasmen.

De klinische verschijnselen, alsmede de pathologisch-anatomische veranderingen, in verband met het vinden van de anaplasmen, wettigden de diagnose anaplasmosis.

Entingsproeven van buffel op buffel gelukte niet, omdat het niet mogelijk was gevoelige buffels te krijgen. Er werd op buffels, afkomstig uit bergsteken van Java, alsook uit eilanden buiten Java, n.l. Sumatra en Kleine Soenda eilanden, geëxperimenteerd, doch met negatief resultaat. Gewoonlijk bezit de inheemsche buffelstapel een zekere mate van immuniteit en worden slechts vatbaar indien ze door andere factoren verzwakt worden als chronische surra, zwaren arbeid bij ondervoeding, enz.

Ook is beproefd de buffelanaplasmosis op rund en andere huisdieren over te brengen, doch met negatief resultaat.

In de laaglanden van Noord- en Midden-Celebes had ik gelegenheid waarnemingen omtrent buffelanaplasmosis te doen.

Medio Juni 1916 ontving de Resident van Menado telegrafisch bericht van den assistent-Resident van Gorontalo, dat in het district Kabila waarschijnlijk veepest uitgebroken was bij een pas kort uit Kwandang (een havenplaats aan de Noordkust van Celebes) aangebrachte koppel buffels, bestaande uit 44 stuks. Van de 44 buffels stierven n.l. in een week tijd 12 dieren, terwijl in de omgeving ook al eenige sterfgevallen bij buffels gerapporteerd werden.

Onmiddellijk na ontvangst van dit bericht, vertrok ik na bekomen opdracht van den Resident naar Gorontalo, teneinde de ziekte te onderzoeken. Bij mijn komst te Gorontalo den 22 Juni d.a.v. waren nog 28 dieren van de 44 in leven, waarvan 4 dieren ziek. Van de reeds gestorven dieren werd als verschijnsel

opgegeven, dat ze erg mager waren, bleven liggen alsof ze verlamd waren en zeer dunne ontlasting hadden. Ook werd waargenomen, dat er patiënten waren, die met het hoofd op het lichaam geleund bleven liggen, totdat ze stierven.

De 4 patiënten, die ik aantrof, waren eveneens zeer mager, de conjunctivae zeer anaemisch temperatuur boven 39.5°C. , de pols frequent, bijna niet voelbaar, diarrhee, zij weigerden alle voedsel. Bij microscopisch onderzoek van het bloed bleken alle dieren anaplasmen te hebben. In een roode bloedcel waren soms tot 3 à 4 anaplasmen aanwezig. 3 van deze dieren stierven reeds den daarop volgenden dag, terwijl de laatste nog 2 dagen langer in het leven bleef. Bij deze laatste had ik het bloed tot kort vóór den dood dagelijks onderzocht, uit de aangestoken oorvena vloeide het bloed bijna als water uit, was zeer dun, de gemaakte uitstrijkpreparaten droogden zeer slecht. Op den laatsten dag waren alle roode bloedcellen bezet met anaplasmen, terwijl het bloedbeeld zeer anaemisch was, poikilocytose, basophile granulatie, polychromasie, megaloblasten.

Bij de verrichte secties werd parenchymateuze degeneratie van hart, lever en nieren geconstateerd, de milt was vergroot, met brijachtige miltpulpa. Bloedingen op het epi- en endocardium. Catarrhale ontsteking van het dunne darmslijmvlies. De urine was niet bloederig. Met het oog op septichaemia haemorrhagica en surra werden cavia's en duiven geënt met bloed van deze patiënten, met negatief resultaat. De diagnose „anaplasmosis” werd gesteld op grond van het voorkomen van anaplasmen in de roode bloedcellen.

De 28 andere dieren, die intusschen reeds in 3 verschillende kralen werden geïsoleerd, bleven verder gezond.

Van de oorspronkelijk vermoede veepest was geen sprake. Het alarmeerende verloop van de ziekte deed aanvankelijk veepest vermoeden. De klinische verschijnselen, de pathologisch-anatomische bevinding, alsmede de epizoötiologie pleitten alle tegen veepest. In Kwandang, waar de dieren vandaan kwamen, was geen buffelsterfte van eenige beteekenis bekend. Een en ander moet ik echter toeschrijven aan de zeer vermoeiende reis, die de dieren gemaakt hadden van Kwandang naar Gorontale over een afstand van 70 K.M., zeer zwaar

bergterrein langs een bijna onbegaanbaar bergpad en bij aankomst te Gorontale werden de dieren, zonder nog uitgerust te zijn van de reis, direct voor den sawaharbeid gebruikt; daarbij kwam nog ondervoeding. De waarschijnlijk latente infectie kwam dus tot uitbraak door de buitengewone verzwakking van de dieren.

Tijdens hetzelfde verblijf te Gorontale was ik nog in de gelegenheid een ander geval van buffelanaplasmosis waar te nemen. Bij den ter plaatse aanwezige Inlandsche arts, aan wien de keuring van het slachtvee door het plaatselijk bestuur was opgedragen, werd een buffel ter keuring aangeboden. Aangezien de Inl. arts twijfelde aan den gezondheidstoestand van het dier, werd ik daarbij geraadpleegd. Ik vond een in vrij goeden voedingstoestand verkeerenden buffel, suffice starende blik, frequente ademhaling, 40 per minuut, onregelmatige frequente pols 90 per minuut, anaemische slijmvliezen, temperatuur 39.8° C., het dier had een waggelenden gang.

Van het bloed werd een uitstrijkpreparaat gemaakt, gekleurd volgens Giemsa en het bleek dat meer dan 50 % van de roode bloedcellen geïnfecteerd was met anaplasmen en enkele met *Gonderia mutans*. Het uit de aangestoken oorvena vloeiende bloed was dun waterig. Het dier werd aangehouden en stierf reeds den nacht daarop.

In Midden-Celebes, in de afdeeling Posso, was ik in Juli 1917 ook in de gelegenheid anaplasmosis bij buffels te constateeren, doch hier betrof het patiënten, die naast anaplasmosis ook aan surra lijdende waren.

Bruggeman meende ook anaplasmosis bij buffels in het Rembangsche (Java) te hebben waargenomen (Veeartsenijk. bladen N. I. 24). Uit de gegeven beschrijving blijkt echter, dat hij de diagnose baseerde op het vinden van donkere puntjes in de volgens Giemsa gekleurde bloedpreparaten. Dergelijke puntjes krijgt men gewoonlijk in minder goed gemaakte en ondoelmatig gekleurde preparaten. Hij zag absoluut geen degeneratieve veranderingen van de bloedcellen, wat al zeer afwijkt van het beeld van anaplasmosis. Voorts blijkt uit het artikel, dat B. niet bekend was met de omtrent anaplasmosis bestaande literatuur. Zijn diagnose anaplasmosis lijkt mij dan ook al te licht-

vaardig gesteld, en ook de klinische verschijnselen wijzen daar niet op.

Verschillende veeartsen in Nederlandsch-Indië hebben volgens mondelinge mededeeling, ook dikwijls gevallen van anaplasmosis bij buffels waargenomen.

Bij het schaap werd anaplasmosis door Schellhase (1921) in Duitsch Oost-Afrika geconstateerd. Hij zag bij schapen een ziekte met een meer of minder ernstig verloop, waarvan de eerste verschijnselen zijn katarrh van oog en neusslijmvlies. Slijmig etterige neusuitvloeiing, diarree, onregelmatige koorts, haaruitval, vermagering. Bij de sectie anaemische verschijnselen, zonder karakteristieke veranderingen. In het bloed van deze dieren zag Schellhase op anaplasmen gelijkende lichaampjes terwijl er ook bloedveranderingen optraden, polychromasie en basophile granulatie. Aangezien hij geen andere oorzaak kon aanwijzen, hield Schellhase de ziekte voor anaplasmosis.

Trautman (1913) deed dezelfde waarnemingen als Schellhase in Duitsch Oost-Afrika en bevestigt de diagnose anaplasmosis.

Bevan constateerde op anaplasmen gelijkende lichaampjes in Rhodesia bij magere anaemische schapen.

Balfour (1911) zag in het bloed bij ezels in Egypte op anaplasmen gelijkende lichaampjes, doch laat zich niet beslist uit over den aard van de door hem gevonden lichaampjes.

Bij varkens, honden, konijnen, muizen, ratten werden ook door verschillende onderzoekers op anaplasmen gelijkende lichaampjes gevonden. Het is echter zeker, dat hier bedoeld worden de z.g. Jollysche lichaampjes, die vooral in het bloed van knaagdieren gemakkelijk zijn aan te toonen.

HOOFDSTUK V.

Kunstmatige anaplasmosis.

Sommige onderzoekers, die zich met het anaplasma-vraagstuk hebben beziggehouden, zijn niet overtuigd van den parasitair aard van het anaplasma, zooals het voorgestaan wordt vooral door Theiler, De Blieck, Lignieres, Sieber en anderen. De tegenstanders van den parasitair aard van de anaplasmen nemen aan, dat het geen protozoen zijn, doch slechts pathologische veranderingen van de roode bloedcellen, die in het bijzonder bij anaemische toestanden optreden. In het bloed komen normaal Jollysche lichaampjes of z.g. randpunten voor, die beschouwd worden als kernresten van de roode bloedcellen. Deze lichaampjes gelijken veel op anaplasmen en nu neemt men aan, dat anaplasmosis een ziekte is, waarbij deze lichaampjes in groot aantal in het bloed optreden.

Schilling-Torgau was de eerste, die erop wees, dat men anaplasma-achtige lichaampjes kunstmatig in het bloed te voorschijn kan roepen. Het in aantal toenemen van de kernresten in de roode bloedcellen wordt hierdoor verklaard, dat er een verhoogde regeneratie van roode bloedcellen plaats heeft, zoodat in de circulatie nog niet geheel ontkernde roode bloedcellen verschijnen. Dit verschijnsel ziet men bij pathologische processen in het bloed.

Deze opvatting wordt krachtig gesteund door de onderzoekingen van Dias en Aragao (1914). Beide onderzoekers zouden bij verschillende diersoorten, marmotten, konijnen, honden, runderen, kunstmatige anaplasmosis verwekt hebben door insputtingen met phenylhydrazine, nitrobenzol, pyrogalluszuur, trypaanblauw, saponine, phosphorus. Door inwerking van genoemde stoffen zouden in de roode bloedcellen op anaplasmen gelijkende lichaampjes optreden. Bij konijnen, marmotten, hon-

den en ratten traden reeds 48 uren na inspuiting van de haemolytisch werkende stoffen, zichtbare teekenen van anaemie, degeneratie van de erythrocyten hoofdzakelijk basophile granulatie, polychromasie, anisocytosis en in de roode bloedcellen anaplasmen. Volgens Dias en Aragao zijn deze anaplasmen precies gelijk aan de anaplasmen van Theiler.

De mooiste resultaten werden gezien bij konijnen en marmotten bij inspuiting met nitrobenzol, pyrogalluszuur en phenylhydrazine. Bovendien vonden D. en A. de anaplasmen ook normaal in bloed van runderen, paarden, honden, schapen, konijnen, katten, boschkatten, marmotten en bij pas geboren dieren. Dias en Aragao komen dan ook na hun waarnemingen tot de volgende conclusies:

- 1e. het anaplasma is geen parasiet.
- 2e. het anaplasma is een degeneratieproduct veroorzaakt door giften van verschillenden aard.
- 3e. het anaplasma is een product van degeneratie van de roode bloedcellen.
- 4e. anaplasmosis van zoogdieren is aan verschillende oorzaken toe te schrijven.

Ik nam de volgende proeven ter opwekking van kunstmatige anaplasmosis.

1e. Kalf No. 137.

14 Juni 1921. Intraveneus ingespoten met 1 Gr. trypaanblauw opgelost in 100 c.M³. gedestilleerd water.

Voor de inspuiting is het bloed onderzocht en normaal bevonden.

15 Juni 1921. Intraveneus 1 Gr. trypaanblauw opgelost in 100 c.M³. gedestilleerd water. Het bloed normaal.

16 Juni 1921. Intraveneus 1 Gr. trypaanblauw in 100 c.M³. water. Behalve in lichten graad anisocytose, geen andere bloedverandering.

17 Juni 1921. Idem idem als gisteren.

18 Juni 1921 Intraveneus 2 Gr. trypaanblauw in 200 c.M³. water. Het bloed vertoont geen andere afwijking als anisocytose.

19 Juni 1921. Dezefde bloedveranderingen als gisteren. Alle zichtbare slijmvliezen en huid blauw gekleurd.

20 Juni 1921. Intraveneus 2 Gr. trypaanblauw in 200 c.M³. gedestilleerd water. Bloedbeeld anisocytose, poikilocytose, een enkel Jollysch lichaampje.

21 Juni 1921. Intraveneus 3 Gr. trypaanblauw in 300 cM³. gedestilleerd water.

Bloedbeeld anisocytose, poikilocytose, polychromasie, een enkel Jollysch lichaampje.

23 Juni 1921. Intraveneus 3 Gr. trypaanblauw in 300 cM³. gedestilleerd water.

Geen vermeerdering van Jollysche lichaampjes, anisocytose, poikilocytose, polychromasie.

24 Juni 1921. Intraveneus 3 Gr. trpaanblauw in 300 cc. gedestilleerd water.

Dezelfde bloedveranderingen als gisteren. De inspuitingen worden nu gestaakt, het bloedbeeld verbeterde in de volgende dagen tot geheel normaal.

Kunstmatige anaplasmosis werd hierbij niet verkregen. De slijmvliezen en huid bleven nog geruimen tijd blauw.

2e. Konijn No. 525.

15 Juni 1921. Subcutaan 2 cM³. 5% oplossing van progalluszuur. Het boed was voor de inspuiting normaal. Enkele Jollysche lichaampjes waren te zien.

16 Juni 1921. Subcutaan 3 cM³. 5% pyrogalluszuur. Bloed normaal.

17 Juni 1921. Subcutaan 3 cM³. 5% pyrogalluszuur. Bloed normaal. Enkele Jollysche lichaampjes.

18 Juni 1921. Subcutaan 6 cM³. 5% oplossing pyrogalluszuur. Bloedbeeld als gisteren.

19 Juni 1921. Subcutaan 6 cM³. 5% oplossing pyrogalluszuur. Bloedbeeld anisocytose, poikilocytose, vermeerdering van bloedplaatjes.

20 Juni 1921. Subcutaan 6 cM³. 5% pyrogalluszuur. Bloedbeeld anisocytose, poikilocytose, polychromasie, veel bloedplaatjes geringe vermeerdering van Jollysche lichaampjes. Het dier blijft goed eten.

22 Juni 1921. Subcutaan 10 cM³. 5 % pyrogalluszuur-oplossing. Bloedbeeld als gisteren.

24 Juni 1921. Subcutaan 10 cM³. 5 % oplossing pyrogalluszuur. Bloedbeeld anisocytose, poikilocytose, basophile granulatie, polychromasie, enkele Jollysche lichaampjes. De inspuitingen werden nu bij dit dier gestaakt.

3e. *Cavia*. No. 543.

15 Juni 1921. Subcutaan 1 cM³. 5 % oplossing pyrogalluszuur. Vóór de inspuiting was het bloed normaal. Enkele Jolly lichaampjes.

16 Juni 1921. Subcutaan 1½ cM³. 3 % pyrogalluszuur. Bloedbeeld normaal.

17 Juni 1921. Subcutaan 2 cM³. 5 % oplossing pyrogalluszuur. Bloed normaal.

18 Juni 1921. Subcutaan 3 cM³. 5 % oplossing pyrogalluszuur. Bloed normaal.

20 Juni 1921. Subcutaan 5 cM³. 5 % oplossing pyrogalluszuur. Bloedbeeld anisocytose, overigens geen veranderingen.

21 Juni 1921. Subcutaan 5 cM³. 5 % oplossing pyrogalluszuur. Bloedbeeld als gisteren. Enkele Jolly lichaampjes.

22 Juni 1921. Subcutaan 5 cM³. 5 % oplossing pyrogalluszuur. Bloedbeeld anisocytose, polychromasie.

23 Juni 1921. Subcutaan 5 cM³. 5 % oplossing pyrogalluszuur. Bloedbeeld als gisteren.

De inspuitingen bij dit dier werden nu gestaakt, het dier bleek niet veel te reageeren op het pyrogalluszuur.

4e. *Hond*. No. 65.

20 Juni 1921. Subcutaan ingespoten met 0.2 cM³. phenylhydrazine. Vóór de inspuiting was het bloedbeeld normaal, een enkel Jolly lichaampje werd waargenomen.

21 Juni 1921. Het dier was zeer anaemisch, was zeer zwak en kon niet op de beenen staan. Wil niet eten.

Het bloed was chocoladekleurig en dun.

Bij microscopisch onderzoek bleken de erythrocyten zeer

gedestruëerd, poikilocytose, holten in de erythrocyten, basophile granulatie.

Een weinig aantal Jolly bodies.

22 Juni 1921. Gestorven.

Sectie: icterische huid, slijmvliezen en subcutis. Hart, lever, nieren porenchymateus gedegenereerd, milt sterk vergroot, met bijna vloeibare donkere miltpulpa. Blaas gevuld met chocoladebruine urine.

Hoewel het bloedbeeld bij dit dier sterk veranderd was, waren er toch slechts enkele Jolly bodies in, terwijl het geheel niet den indruk maakt van het beeld van anaplasmosis.

5e. Geit. No. 47.

23 Juni 1921. Subcutaan ingespoten met 0.1 cM³. phenylhydrazine. Vóór de inspuiting was het bloed normaal.

24 Juni 1921. 's Morgens at het dier nog wat, 's middags toonde het zich erg ziek, bleef liggen en kreunde. De slijmvliezen waren zeer anaemisch.

Bloedbeeld was erythrocyten gedestruëerd, anisocytose, poikilocytose, basophile granulatie, veel bloedplaatjes, enkele Jolly lichaampjes, megaloblasten.

25 Juni 1921. Gestorven.

Sectie: icterische verkleuring van huid, slijmvliezen, subcutis en inwendige organen, de lever had een murwe consistentie, milt vergroot met brijachtige pulpa, hart en nieren parenchymateus gedegenereerd. De blaas was gevuld met chocoladebruine urine.

6e. Konijn. No. 585.

19 September 1921. Subcutaan ingespoten met 0.05 cM³. phenylhydrazine. Voor de inspuiting was het bloedbeeld normaal. Enkele Jolly bodies.

21 September 1921. Het dier was zeer anaemisch, anisocytosis, poikilocytose, polychromasie.

22 September 1921. Bloedbeeld nog slechter dan gisteren, het uitstroomende bloed was chocoladekleurig. Bloed-

beeld poikilocytose, basophile granulatie, megaloblasten, veel bloedplaatjes, enkele Jolly bodies.

23 September 1921. Bloedveranderingen als gisteren. Gestorven.

7e. Konijn. No. 16.

10 November 1921. Intraveneus 20 cM³. gedestilleerd water. Vóór de inspuiting was het bloedbeeld normaal. Enkele Jolly bodies.

11 November 1921. Intraveneus 20 cM³. gedestilleerd water. Bloedbeeld anisocytose, polichromasie, iets meer Jolly lichaampjes.

12 November 1921. Intraveneus 40 cM³. gedestilleerd water. Bloedbeeld anisocytose, polychromasie, iets verhoogd aantal Jolly lichaampjes.

8e. Kalf. No. 221. 2 maanden oud.

9 Februari 1922. Intraveneus 30 cM³. 1 % trypaanblauwoplossing. Bloed vóór de inspuiting was normaal.

13 Februari 1922. Intraveneus 30 cM³. 1 % trypaanblauwoplossing. Bloedbeeld normaal.

14 Februari 1922. Intraveneus 50 cM³. 1 % trypaanblauwoplossing. Bloedbeeld normaal.

15 Februari 1922. Intraveneus 50 cM³. 1 % trypaanblauwoplossing. Bloedbeeld anisocytose, een enkel Jolly lichaampje.

18 Februari 1922. Intraveneus 50 cM³. 1 % trypaanblauwoplossing. Bloed anisocytose, veel bloedplaatjes.

20 Februari 1922. Intraveneus 100 cM³. 1 % trypaanblauwoplossing. Bloedbeeld anisocytose, poikilocytose, een enkel Jolly lichaampje, veel bloedplaatjes.

23 Februari 1922. Intraveneus 100 cM³. Bloedveranderingen als de 3 vorige dagen.

26 Februari 1922. Bloedbeeld anisocytose, poikilocytose, basophile granulatie, megaloblasten, enkele Jolly lichaampjes, veel bloedplaatjes.

Het uit de aangestoken oorvena vloeiende bloed was zeer dun, de bloeding heeft geen neiging tot staan te komen. De bloeding uit de geprikte oorvena moest door hechting tot staan gebracht worden.

28 Februari 1922. Bloedbeeld wordt slechter, toename van Jolly lichaampjes vond niet plaats.

1 Maart 1922. Bloedbeeld erg slecht, poikilocytose, basophile granulatie, polychromasie, vacuolen in de erythrocyten, enkele Jolly lichaampjes.

In den nacht van 1 op 2 Maart stierf het dier.

De huid, slijmvliezen, subcutis en alle organen waren blauw gekleurd door het trypaanblauw.

9e. Kalf. 231. 2 maanden oud.

Bij dit dier werd gedurende 5 dagen alle dagen 300 cM³. bloed afgetapt, teneinde kunstmatige anaemie te verwekken en zodoende eventueel kunstmatige anaplasmosis te krijgen. Het resultaat was echter negatief.

10e. Hond zonder milt.

Door welwillende tussenkomst van Dr. Klarenbeek van de Kliniek voor kleine huisdieren kreeg ik een hond, waarbij de milt geëxtirpeerd was.

Het is bekend, dat honden waarbij splenectomie verricht is, in het bloed een toename plaats heeft van Jolly lichaampjes. Inderdaad kon ik bij dezen hond een duidelijk vermeerderd aantal Jolly lichaampjes constateeren. In een gezichtsveld zag ik soms tot 2 Jolly lichaampjes. Het was echter niet te vergelijken met het beeld bij anaplasmosis, waarbij men de anaplasmen in groot aantal over het geheele preparaat verspreid ziet.

Bij bovenstaande experimenten had ik dus door injectie van verschillende bloedgiften degeneratieve veranderingen in het bloedbeeld van verschillende dieren, hond, geit, kalf, konijn en cavia kunnen teweeg brengen, doch een beeld, dat gelijk zou zijn aan het bloedbeeld bij anaplasmosis n.l. naast veranderingen als anisocytose, poikilocytose, polychromasie, basophile granulatie, haast alle of alle erythrocyten geïnfecteerd zijn met

anaplasmen, heb ik daarbij niet waargenomen. Wel is waar had hier en daar een toename van het aantal Jolly lichaampjes plaats, doch 'een geoefend oog kon dadelijk constateeren, dat het niet het gewone beeld bij anaplasmosis is. Bij anaplasmosis ziet men de anaplasmen gelijkmatig over het geheele preparaat verspreid liggen, het aantal wordt grooter bij toenemende anaemie en raken de erythrocyten soms alle geïnfecteerd.

HOOFDSTUK VI.

Is het anaplasma een parasiet?

Zooals uit de vorige hoofdstukken blijkt, bestaan er 2 meeningen omtrent het wezen van het anaplasma n.l. ten eerste, dat het een parasiet is die de ziekte anaplasmosis veroorzaakt en ten tweede, dat het anaplasma geen parasiet is doch een kernrest van de roode bloedcel, hetwelk in aantal toeneemt in pathologisch veranderd bloed. Volgens deze laatste opvatting zou het anaplasma dus een ziekteverschijnsel en geen ziekteoorzaak zijn.

De oudste opvatting omtrent het wezen van het anaplasma n.l. die van Kilborne, Smith en Knuth, dat het anaplasma een ontwikkelingsstadium zou zijn van het piroplasma bigeminum en de ziekte anaplasmosis dus een klinische vorm van texaskoorts, kon geen stand houden. Volgens Smith en Kilborne zouden de anaplasmen jonge stadia van het piroplasma bigeminum representeren, het is echter slechts een hypothese, omdat het niemand gelukt is afdoende bewijzen voor die opvatting te leveren. De ontwikkeling van het puntvormig stadium tot het peervormige organisme, heeft niemand waargenomen. In de honderden preparaten van bloed en organen, waarin zoowel piroplasma bigemina als anaplasmen aanwezig zijn, heb ik nimmer vormen waargenomen, die overgangsstadia zouden kunnen zijn tusschen puntvormig en peervormig stadium.

Geheel in tegenspraak met die meening is bovendien het feit, dat zoowel bij natuurlijke als bij kunstmatige infectie, eerst de piroplasma bigemina in het bloed verschijnen en pas dagen lang daarna de randpunten.

Tegen deze meening pleit verder, dat niet overal waar texaskoorts voorkomt, ook anaplasmosis waargenomen wordt.

Bij alle andere piroplasmen is voorts geen randpuntenstadium

bekend. De opvatting als zouden de anaplasmen geen parasieten, doch pathologische veranderingen aan de roode bloedcellen zijn, steunt op het feit, dat het anaplasma morphologisch gelijk is aan de z.g. Jollysche lichaampjes en randpunten, welke kernresten zijn van de roode bloedcellen, die in circuleerend bloed normaal voorkomen, doch bij bepaalde met anaemie verloopende ziekte toestanden in aantal toenemen.

De Jollysche lichaampjes zijn in roode bloedcellen ingesloten, ronde, scherp gecontureerde, structuurloos, meestal enkel voorkomende punten, die zich met Giemsa-kleurstof rood violet kleuren. De grootte is gewoonlijk als de eosinophile korrels, soms iets groter of kleiner. Zijn er meerdere in een roode bloedcel aanwezig, dan plegen ze als gonococci bij elkaar te liggen en zijn meestal verschillend van grootte. Zelden vindt men deze lichaampjes in het midden van de roode bloedcel, meestal aan den rand.

Morphologisch is het anaplasma dus moeilijk te onderscheiden van de Jollysche lichaampjes, hoewel men bij de anaplasmen niet die scherpe contour van het Jolly lichaampje ziet. De rand van het anaplasma is wat onregelmatig, en maakt den indruk alsof vóór het fixeeren amoboide bewegingen hebben plaats gehad.

Toename van Jollysche lichaampjes in het bloed heeft plaats bij verhoogde werkzaamheid van het beenmerg in verschillende gevallen van anaemie, icterus haemolyticus, leucaemie, osteomalacie, waarbij het beenmerg lokaal geprikkeld wordt, na aderlating en bij jonge individuen. Ook na miltextirpatie is bekend, dat toename van Jollysche lichaampjes in het bloed plaats heeft.

Aanhangers van de opvatting dat het anaplasma geen parasieten doch ziekteverschijnsel zijn, stellen zich dus op het standpunt, dat bij anaplasmosis verschillende momenten zooals verschillende piroplasmen, ingewandswormen enz. anaemie veroorzaken en door de anaemie treden de randpunten in groot aantal op.

Dias en Aragao steunen deze opvatting door hunne experimenten, waarbij zij met verschillende bloedgiften als phenylhydrazine, trypaanblauw, pyrogalluszuur, bij verschillende die-

ren anaemie verwekten en zodoende kunstmatige anaplasmosis waarvan het bloedbeeld geheel identisch zou zijn met dat bij natuurlijke anaplasmosis. Op grond van de resultaten van de door mij verrichte experimenten, zooals vermeld in Hoofdstuk 5 kan ik de conclusies van Dias en Aragao niet geheel onderschrijven. Bij de door mij genomen experimenten kon ik evenals Dias en Aragao kunstmatige anaemie verwekken, waarbij in het bloedbeeld verschillende degeneratieve veranderingen van de erythrocyten optraden als anisocytose, poikilocytose, polychromasie, basophile granulatie, doch zoodanig optreden van de Jollysche lichaampjes, zoodat soms tot 100 % van de erythrocyten bezet zijn met randpunten, zooals men dat bij anaplasmosis pleegt te zien, had ik niet waargenomen.

Bij anaplasmosis ziet men met het toenemen van de anaplasmen het bloedbeeld slechter worden en bij laetaal verlopende gevallen, komt het tot infectie van bijna alle of alle roode bloedcellen.

Is de opvatting van Diaz-Aragao en anderen juist, dan zou dus in het laatste stadium van anaplasmosis alle circuleerende roode bloedcellen nog niet geheel ontkernd zijn.

Tijdens een surra epizootie onder paarden en buffelstapel in Midden-Celebes (1913) had ik gelegenheid van een groot aantal patiënten bloedpreparaten te onderzoeken. Bij surra heeft men ook te maken met sterke anaemie. Bij de door mij onderzochte preparaten had ik geen enkele gehad, waarbij een zoodanige vermeerdering van randpunten was dat men het zou kunnen houden voor anaplasmosis. Mijn aandacht vestigde ik vooral ook op anaplasmosis, omdat deze ziekte in die streek eveneens voorkomt.

Dat bij anaemische toestanden een toename van Jollysche lichaampjes in het bloed optreden, is zeker een niet te loochenen feit. Dat echter de anaplasmen, die soms tot 100 % van de roode bloedcellen aantasten, dezelfde zouden zijn als de Jollysche lichaampjes, is moeilijk denkbaar.

De opvatting, dat het anaplasma een specifieke parasiet is, die de ziekte anaplasmosis veroorzaakt, steunt op verschillende goede gronden. De voornaamste steun voor deze opvatting is wel het feit, dat het gelukt is, reine infectie van anaplasmosis te

krijgen, die men van dier op dier heeft kunnen overbrengen, tot zelfs gedurende eenige generaties. Na verloop van een bepaald incubatietijdperk verschijnen in het bloed de anaplasmen en tegelijk of kort daarna ziet men verschillende degeneratieve veranderingen in het bloedbeeld.

In de meeste gevallen komt anaplasmosis in menginfectie met texaskoorts voor. Bij een gelijke dubbele infectie bij hetzelfde dier verschijnt eerst het piroplasma bigeminum in het bloed en later pas het anaplasma, vanwege verschil in incubatietijdperk. Dieren, die immuun zijn tegen het piroplasma bigeminum zijn gevoelig voor anaplasmosis, en omgekeerd dieren, die reine anaplasmosis doorstaan hebben, reageeren op inspuiting met piroplasma bigeminum. Uit de in hoofdstuk 3 vermelde experimenten blijkt, dat tegen Texaskoorts immune runderen bij latere infectie met anaplasmen aan anaplasmosis ten gronde gaan.

Bij mijn experimenten vermeld in hoofdstuk 3, had ik steeds te doen met gemengde infecties van anaplasmosis en texaskoorts. *Toch was in alle gevallen het verloop der infectie zoo typisch, dat men de anaplasmosis aanval duidelijk scheiden kan van de texaskoorts.* Door het kortere incubatietijdperk van texaskoorts trad na infectie, eerst het piroplasma bigeminum op, na de texaskoortsaanval daalde de temperatuur tot normaal, de dieren werden gezond, hoewel piroplasma bigeminumdragers blijvend, dan kwam na eenige dagen de anaplasmosisaanval, ingeluid door temperatuurverhoging met de bekende degeneratieve bloedveranderingen. Bij de laetaal verlopende infecties bij zeer gevoelige oude runderen, namen de anaplasmen in hoeveelheid toe, totdat bijna alle erythrocyten geïnfecteerd raakten, terwijl in gevallen, waarbij genezing optrad, zooals gewoonlijk bij jonge dieren, verdwenen de anaplasmen met het normaal worden van het bloedbeeld en temperatuur.

De meening is ook wel geopperd, dat bij anaplasmosis een virus in het spel zou kunnen zijn, welke de ziekte veroorzaakt, die gepaard gaat met optreden van vele randpunten. Experimenten van mij zoowel met gefiltreerd materiaal als met serum, dat door centrifugeeren van alle roode bloedcellen ontdaan was, hadden alle een negatief resultaat. Ook Theiler en ande-

ren hebben met gefiltreerd materiaal geëxperimenteerd, doch eveneens met negatief resultaat. De meening omtrent onzichtbaar anaplasmosose virus dient dus ook verworpen te worden.

De eenige goede opvatting na het vorenstaande is dus, *dat het anaplasma in aetiologisch verband staat tot de anaplasmosis*, de aard van het anaplasma dient echter nog nader uitgemaakt te worden.

Er zijn geen bewijzen genoeg om het anaplasma tot de protozoen te rekenen. De theorie van Theiler, dat het een protozo zou zijn, dat zijn protoplasma verloren heeft, is niet goed te verdedigen. Evenmin bestaan er goede gronden voor de opvatting van Sieber, dat het anaplasma gerekend kan worden tot de door Prowaszek als Chlamidozoa genoemde lichaampjes.

Degene, die de ziekte „anaplasmosis” klinisch heeft vervolgd en ermede heeft geëxperimenteerd, kan zich niet onttrekken aan het denkbeeld, te doen te hebben met een ziekte van parasitair aard, parallel gaande met andere portozoïre bloedziekten, in het bijzonder de piroplasmen.

Indien reeds nauwkeurig bekend was door welke teek de ziekte wordt overgebracht, dan zal ongetwijfeld de aard van het anaplasma beter bestudeerd kunnen worden door zijn ontwikkeling na te gaan in het insect. Van de piroplasmen in het algemeen is de ontwikkeling in de teek helaas nog onbekend. Het komt mij voor, dat de oplossing van de vraag, welke de aard is van het anaplasma, in die richting moet gezocht worden, daar de ons ten dienste staande protozoologische onderzoekingsmethoden in den steek laten.

L I T E R A T U U R.

- Balfour, A., Anaplasmosis in Donkeys. J. of comp. Path. 24.
- Balfour, A., Anaplasmosis, Fourth report of the Wellcome Tropical Research Laboratories A. Medical. Blz. 129 en 345.
- Baldrey, F. S. H., Piroplasmosis in India. Journal of trop, vet, Sc. t. V. f4 1910.
- Basile, Sull Anaplasma canis.
Pathologica 15 Juni 1912.
- Bevan, D., Anaplasmosis of sheep.
The Veterinary Journal Juillet 1912 p. 400.
- Brumpt, E., Etiologie de la piroplasmose canine, française par le Dermacentor reticulatus, Embolies parasitaires dans les capillaires de l'encéphale, Bull. Soc. Path. exot. 22.
- Brumpt, E., Les piroplasmes des bovidés et leurs hôtes vecteurs. Bull. Soc. path. exot. 23.
- Brumpt, E., Mode d'action du Bayer 205 sur divers hématozoaires: Trypanosomen, Piroplasmen, Theileries, Anaplasmoses. Bull. Soc. Path. exot. Bd. 15.
- Blieck, L. de, en Kaligis, J. A., Pseudokustkoorts en anaplasmosis bij buffels op Java. Veeartsenijk. bladen voor N.-I. 24.
- Blieck, L. de, Piroplasmosenonderzoek in Nederland en zijne Koloniën. Tijdschrift voor Diergeneeskunde 1916.
- Blieck, L. de, Jaarboek van het Departement van Landbouw, Nijverheid en Handel, Buitenzorg 1910.
- Boynton, W. H., A Disease in cattle in the Philippine islands similar to that caused by Anaplasma marginale. Theiler, Philippine J. of Sci, 12.
- Brauer, A., Eine dem Texasfieber ähnliche Erkrankung unter den Rindern in Deutsch Ost Afrika. B. t. W. No. 27.
- Bruce, D., Note on Amakobe, a disease of calves in Uganda. The official gazette of the Uganda Protectorate 2.
- Bruce, D., Hamerton, Bateman and Mackie, Proceed. of the Soc. B. 82.
- Bruggeman, Anaplasmosis bij buffels. Veeartsenijk. Bladen voor N.-I. 29.
- Carini, A., Anaplasma marginale in S. Paulo. Rev. Med. de S. Paulo No. 24. 31 Dec. 1910.
- Carpano, M., L. Anaplasmosis nei bovini della campagna romana. Nota preventiva. Il moderno Zootatro 1912.
- Carpano, M., La Febbre della costa nei bovini Colonia Eritrea, Clin. Vet. 1912.
- Carpano, M., Piroplasmosi equina. Tipi parassitari. Clin. vet. 1913.

- Carpano, M., Kultur der Pferdepiroplasmen und Betrachtung über die Natur der Anaplasmen.
Zbl. f. Bakt. 1 Abt. Org. 1914.
- Chambers, Fr., Immunisation of imported cattle against Northern Rhodesia piroplasmosis and anaplasmosis. Journ. of comp. Pathol. a. Therap. 26, 1913.
- Chambers, F. en Smith, J., Immunisation of imported cattle against Northern Rhodesia piroplasmosis and anaplasmosis. Journ. of comp. Pathol. a. Therap. 27, 1914.
- Descazeaux, Piroplasmose et anaplasmosis, Bull. soc. centr. med. vet. 1914. 28 Febr. pp. 103—106.
- Descazeaux, J. en Picollo, Contribution a l'étude de l'Anaplasmosis. Bull. soc. med. vet. 1914, 2 Juillet.
- Dezeler, B., Ein Beitrag zur Zucht von Piroplasmen in künstlichen Nährboden. Zeitschr. i. Hyg. 67.
- Dias und Aragao, Untersuchungen über die Natur der Anaplasmen. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 1914.
- Doe, De, Piroplasmen in Nederlandsch-Indië. Geneeskundig Tijdschrift voor Nederlandsch-Indië 1915.
- Doe, De, Piroplasmata in Nederlandsch-Indië. Geneesk. Tijdschrift N.-I. 1906.
- Dschunkowsky en Luhs, Die Piroplasmen der Rinder, Centralblatt für Bakteriologie 1904, Bd. 35.
- Dschunkowsky en Luhs, Bericht über den internat. tierärztl. Kongress im Budapest. 1915. Bd. 3.
- Dschunkowsky en Luhs, Protozoenkrankheiten des Blutes der Haustiere in Transkaukasien. Bericht für den 9ten intern. tierärztl. Kongress im Haag. 1909.
- Dodd, S., Piroplasmosis of cattle in Queensland. Journal of comp. Pathol. a. Ther. 23, 1910.
- Dodd, S., Anaplasmosis or Jolly bodies? A contribution of the knowledge of a certain intracorpuseular bodies present in the blood of some species of mammals. Journ. of comp. Path. a. Ther. 26, 1913.
- Ducloix (Tunis), Bericht über den 8ten Internationalen tierärztl. Kongress im Budapest. Bd. 3.
- Eber, A., Einige Blutbefunde bei Osteomalacie der Pferde. Bemerkungen zu den Artikel von Joest und Jänichen in No. 9 dieser Zeitschr. B. t. W. No. 18.
- Finzi G., et A. Campus, Sul significato dei „Corpi Endoglobulari“, „Punti marginali“, „Anaplasmosi“ trovati nel sangue degli ovini della Sardegna e del Piemonte, Nouvo. Ercolani 21 en 22.
- Gonder, Richard, Die Entwicklung von Theileria parva, dem Erreger des Küstenfieber der Rinder in Afrika. Arch. f. Protistenk. t. 21, 1910.
- Gilruth, J. A., G. Sweet and S. Dodd, Observation on the

- occurrence in the blood of various animals (chiefly Monotremes and Marsupials) of bodies apparently identical with *Anaplasma marginale* Theiler. 1910. Parasitology, 4.
- Glasser, K., Kokkenähnliche Einschlüsse in den roten Blutkörperchen des Pferdes, D. t. W. No. 19.
- Hartmann, M. en C. Schilling, Die pathogenen Protozoen und die durch sie hervorgerufenen Krankheiten. Berlin.
- Henderson, G. F., The results obtained by the intravenous injection of trypanblue in the Piroplasmosis of domesticated animals with especial reference to Gall sickness. Vet. Rec. 24.
- Howel. Life history of the form elements of the blood, J. of Morph. 4.
- Jakimoff, W. L., Schokon, Koselbine, Maladie animales du Turkestan russe a parasites endoglobulaires.
- Bull. Soc. Path. exot. T. X. 1917.
- Joest, E., Bemerkungen zur Aetiologie der Osteomalacie, Erwidernung an Eber B. t. W. No. 20.
- Joest E. u. Jähnichen., Einige Befunde bei Osteomalacie der Pferde, B. t. W. No. 9.
- Jolly, J., Sur la formation des globules rouges, C. R. Soc. de Biol.
- Jolly, J., Formation des globules rouges, Arch. d'anat. micr. 9.
- Jolly, J., Granules basophiles des hematies. Arch. de Malad. du Coer No. 5.
- Jowett, W., Some observations on the subject of marginale points, J. of comp. Path. 24.
- Kleine. Ergebnisse der Forschungen R. Kochs über das Küstenfieber der Rinder und über die Pferdesterbe gelegentlich seiner letzten Expedition nach Süd Afrika. Deutsche Med. Wochenschrift, 1905.
- Kleine. Kultivierungsversuche der Hundepiroplasmen. Zeitschr. f. Hyg. 54.
- Knuth, P., Experimentelle Studien über das Texasfieber der Rinder in den La Plata Staaten, Diss. Berlin.
- Knuth, P., und P. J. du Toit. Handbuch der Tropenkrankheiten, 2te Aufl. Bd. 6.
- Kossel. Die Hämoglobinurie der Rinder. Kolle und Wassermann, Handbuch der Pathogenen Microorganismen, Bd. 1.
- Koiodzumi, M., On the nature of the Marginal Points occurring in the blood corpuscles of cattle. Centralbl. f. Bact. 1, Orig. 65.
- Koch, R., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Piroplasmen, Zeitschr. f. Hyg. 54.
- Laveran A, et Franchini, G., Contribution a l'etude des „marginal points" des hematies des Mammiferes. Bull. Soc. Path. exot. 7.
- Laveran et M. Marrulaz, Sur la nature des corps de Graham-Smith, Bull. Soc. Path. Exot. 7.
- Leipziger. Ueber die Gallenseuche der Rinder in Deutsch Südwest Africa, D. t. W. S. 100.

- Lichtenheld, Ergebnisse der von R. Koch ausgeführten und vorgezeichneten Forschungen über das Küstenfieber der Rinder in Deutsch Ost Afrika. Zeitschr. f. Hyg. und Inf. Krankh. Bd. 61.
- Lichtenheld, Beitrag zur Diagnose der durch kleine Piroplasmen verursachten Krankheiten beim Rinde mit Berücksichtigung ihrer Verbreitung, Zeitschr. f. Hyg. und Inf. Krankh. Bd. 64.
- Lignières, J., La tristeza ou la Malaria bovine dans la Republique Argentine, Buenos Aires.
- Lignières, J., Une nouvelle forme de Tristeza dans Republique Argentine Anaplasma bovine. Rev. zootech. Buenos Aires.
- Lignières, J., L'Anaplasmosse bovine en Argentine. Contribution a l'etude de cette maladie. Zb. f. Baktt. 1 Orig. 74.
- Lignières, J., Maladies transmises par les Tiques, leur classification, traitement et prophylaxie, 10 congres intern. de Med. vet. Londres.
- Lignières, J., Piroplasmes, Anaplasmes et grains chromatiques. Bull. Soc. Path. Exot. 12.
- Lignières, J., Contribution a l'etude de l'Anaplasmosse bovine. Experiences d'inoculation de Anaplasma argentinum a plusieurs especes animales. Bull. Soc. Path. Exot. 12.
- Lignières, J., L'isolement et la recherche des Anaplasma par l'inoculation du sang suspect au mouton ou a la chevre. Bull. Soc. Path. Exot. 12.
- Martin Mayer, Ueber Ostafrikanische Küstenfieber der Rinder. Arch. f. Sch. u. tropenhyg. 14.
- Marzinowsky, E. J., Ueber die Zucht von Piroplasma equi. Zeitschr. f. Hyg. 62.
- Meyer, K. F., Die perniziöse Anämie der Rinder (Anaplasmosis) in Kolle und Wassermann, Hdb. d. path. Microorg. 2.
- Myaima, On the cultivation of a bovine Piroplasma. Phil. J. of Med. Sc.
- Nissle, A., Ueber zentrosomen und Dehlersche Reifen in kernlosen Erythrocyten.
- Nuttal, H. F. en H. B. Fantham, Theileria parva, the Parasite of East Cost. Fever in Cattle. Parasitology 3, juill. 1910.
- Nuttal and Graham-Smith, Theileria parva. Attempts at cultivation, Parasitology. 2.
- Nöller, W. Kritische Bemerkungen zur 4 Auflage von Dofleins Lehrbuch der Protozoenkunde. Arch. für Protistenkunde Bd. 37.
- Ollwig, H. en P. Monteufel, Babesia mutans in Deutsch Ost-Afrika und Beobachtungen zur microscopischen Differential diagnose dieses Parasiten. Arch. f. Sch. u. Tropenhyg. 14.
- Ollwig, H. en P. Monteufel, Die Babesia. In: v. Prowazek Hdb. d. path. Protozoen.
- Penning, Piroplasmose in Nederlandsch-Indië. Veeartsenijk. Bladen v. Ned.-Ind. dl. 18.

- Schilling-Torgau, V., Das Blutbild und seine klinische Verwertung.
- Schilling-Torgau, V., Ueber die Bedeutung neuerer haematologischer Befunde und Methoden f. die Tropenkrankheiten. Arch. f. Schiff. und Tropenhyg. Beih. 16.
- Schilling-Torgau, V., Angewandte Butlerehere für die Tropenkrankheiten. In Mense, Hdb. der Tropenkrankheiten.
- Sergent et Beguet, Existence d'Anaplasma marginale Theiler chez les boeufs d'Algerie. Bull. Soc. Path. exot. 6, 1913.
- Sieber, H., Ueber Anaplasma marginale. B. t. W. Nr. 50.
- Sieber, H., Anaplasma marginale (Theiler), Rep. Govern. vet. Bact. of Transvaal, 1909/10.
- Sieber, H., Ueber Anaplasma marginale (Theiler) Zeitschr. f. Infekt. Krankheiten der Haust. Bd. 9.
- Smithen F. L. Kilborne. Investigations into the nature, causation and revention of Texas or Southern cattle fever. Report of the Bureau of Animal Industry 1891 and 1892,
- Schellhase. Eine Beobachtung über das Vorkommen von Marginal points (A. marginale) im Blut von Schafen in Deutsch Ost-Afrika. Berl. t. W. No. 28.
- Schellhase, Ein Beitrag zur Kenntniss der Piroplasmosis der Schafe und Esel. Therapeutische Versuche mit Trypanblau. Ueber die Anaplasmosis der Esel. Zeitschr. f. Infekt. Krankheiten d. Haust. 15, 1914.
- Schellhase, Beobachtungen über die Anaplasmosis und Piroplasmosis der Schafe und Ziege in Deutsch Ost Afrika. Zeitschr. f. Infekt. Krankh. der Haust. 24.
- Springefeldt, Anaplasma marginale und Piroplasma mutans ähnliche Parasiten bei Kameruner Rindern. Berl. T. W. No. 14, 1911.
- Spreul, J., Note on the ocurrence of „marginal points or a new intra corpuscular parasite in the blood of cattle in South, J. of comp. Path. 22.
- Sluiter, Swellengrebel, Ihle, De dierlijke parasieten van den mensch en van onze huisdieren.
- Theiler, A., The piroplasma bigeminum of the immune ox. Annual Report 1903/04.
- Theiler, A., Piropl. mutans (N. Sp.) of South African cattle. Annual Report 1905/06 en J. of comp. Path. and Th. 1906.
- Theiler, A., Further Notes on Piroplasma mutans. Annual Report 1906/07 en J. of comp. Path. and Ther. 1907.
- Theiler, A., The immunity of cattle inoculated against P. mutans, Annual Report 1907/08.
- Theiler, A., Anaplasma marginale (gen. and spec. nov.), The mar-

- ginal points in the blood of cattle, suffering from a specific disease, Rep. gov. vet. Bac. of Transvaal, 1908/09.
- Theiler, A., *Anaplasma marginale* (Genus nov. et spec. nov.) Un nouveau protozoire du betail. Bull. Soc. Path. Exot. 3.
- Theiler, A., Gall sickness of South Afrika (Anaplasmosis of cattle), J. of comp. Path. 23.
- Theiler, A., Texasfieber, Rotwasser und Gallenkrankheit der Rinder, Zeitschr. f. Infek. Krankh. der Haust. 8.
- Theiler, A., Weitere Untersuchungen über die Anaplasmosis der Rinder, und der Schutzimpfung. Zeitschr. f. Inf. Krankh. und Hyg. der Haust. Bd. 11.
- Theiler, A., Further investigations into Anaplasmosis of South Afrikan cattle. Rep. Director of veterinary Research. Union of South Afrika. 1.
- Theiler, A., Das Trypaanblau und Trypaanrot un der Behandlung der Piroplasmen und deren practische und theoretische Bedeutung. Zeitschr. f. Inf. Krankh. der Haust. 11.
- Theiler, A., Uebertragung der Anaplasmosis mittels Zecken. Zeitschr. f. Infekt. Krankh. der Haust. 12.
- Toyoda, Zuchtungsversuche mit *Babesia canis* nach der Bass'sche Methode. Zentralbl. f. Bakt. Orig. 72.
- Veglia, F., The cultivation of *Anaplasma marginale* in vitro. Rep. Director of Vet. Research 3 en 4. Union of South Africa.
- Vrijburg, A., Anaplasmosis in De Jongs „Overzicht der niet bacterieele parasitaire ziekten“.
- Vrijburg, A., Pseudokustkoorts in id. id.
- Vrijburg, A., Babesiosis en *Babesia* parasieten in Nederland. Tijdschr. v. Diergeneesk. 45.
- Vrijburg, A., Bloedprotozoen bij zoogdieren. Tijdschr. v. Veeartsennijk. 1911.
- Weidenreich, Fr., Die roten Blutkörperchen. Ergebnisse d. Anatomie u. Entwicklungsgeschichte Bd. 14.
- Weidenreich, Fr., Neue und alte Beobachtungen an roten Blutkörperchen der Sauger, Folia Haematologica. 1906. No. 4.
- Walker, J., Some observations in conection with the immunisation of cattle against South African Redwater and Genuine Gallsickness (Anaplasmosis). Report of the Director of Vet. Research. Pretoria, 3 and 4.

STELLINGEN.

1.

Wil de malleus bestrijding in Indië succes hebben en tot uitroeijing der ziekte leiden, dan dient de bestrijding systematisch te geschieden, terwijl alle aan de ophthalmomalleinatie reagerende paarden (verborgen malleus) afgemaakt moeten worden tegen uitkeering van de volle waarde van het dier.

2.

Is de zg. Printah haloes (zachte dwang) bij het nemen van maatregelen ter verbetering van den veestapel in Indië reeds te veroordeelen, dwingend optreden van de overheid aan de hand van de door Kok voorgestane wettelijke voorschriften (dissertatie Utrecht 1921) brengt het gevaar mede van ondergang van den Indischen veestapel.

3.

Het gebruik pitruutine is in onze verloskundige praxis, vooral bij varkens, alleszins aan te bevelen.

4.

Het is niet bewezen dat de door Krediet gevonden lichaampjes in mest van runderen en paarden (dissertatie Leiden 1921) coccidien zijn.

5.

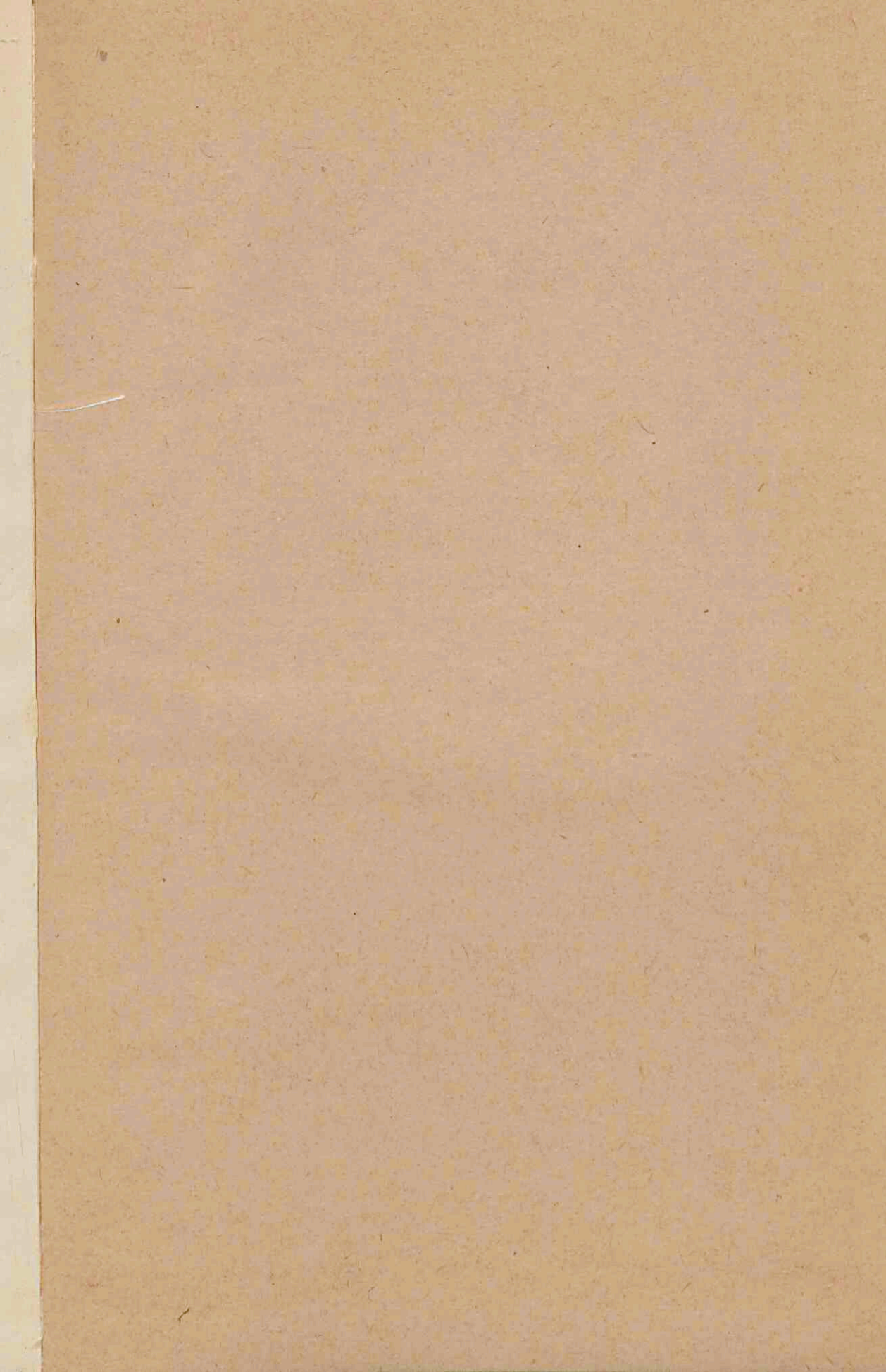
Het is niet bewezen dat pernizieuze anaemie bij paarden in Indië (Sohns) voorkomt.

6.

Uit het feit dat in Indië onder de inlandsche paarden wel goedaardige droes voorkomt en geen cornage, valt af te leiden, dat er niet zoo'n innig verband bestaat tusschen beide ziekten.

7.

Gezien de groote behoefte aan veeartsen in Indië, is het wenschelijk, dat bij de in overweging zijnde plannen voor de oprichting van een universiteit, naast de medische faculteit de mogelijkheid van een diergeneeskundige faculteit onder de oogen wordt gezien.



BIBLIOTHEEK
DIERGENEESKUNDE
UTRECHT

