Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

Over de morphologie en biologie van het rattencoccidium Eimeria nieschulzi n.sp. en zijne verspreiding in Nederland: (tevens vergelijkend onderzoek van de bekende coccidium-opsporingsmethoden)

https://hdl.handle.net/1874/281670

1924

OVER DE MORPHOLOGIE EN BIOLOGIE VAN HET RATTENCOCCIDIUM EIMERIA NIESCHULZI N.SP. EN ZIJNE VERSPREIDING IN NEDERLAND

(TEVENS VERGELIJKEND ONDERZOEK VAN DE BEKENDE COCCIDIEN-OPSPORINGSMETHODEN)

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT
3627 5182

Over de morphologie en biologie van het rattencoccidium Eimeria nieschulzi n.sp. en zijne verspreiding in Nederland (tevens vergelijkend onderzoek van de bekende coccidien-opsporingsmethoden).

(Uit de tropische Afdeeling van het Instituut voor Parasitaire- en Infectieziekten van de Veeartsenijkundige Hoogeschool. Dir. Prof. Dr. L. DE BLIECK).

Over de morphologie en biologie van het rattencoccidium Eimeria nieschulzi n.sp. en zijne verspreiding in Nederland

(tevens vergelijkend onderzoek van de bekende coccidium-opsporingsmethoden).

PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van den graad van

Doctor in de Veeartsenijkunde

aan de Veeartsenijkundige Hoogeschool te Utrecht, op gezag van den Rector Magnificus, **Dr. J. E. W. IHLE**, volgens besluit van den Senaat der Veeartsenijkundige Hoogeschool te verdedigen tegen de bedenkingen van den Senaat op Donderdag 1 Mei 1924 te 4 ure

door

CASPAR PETRUS ANTONIUS DIEBEN
geboren te Leiden
g. v. t. s. veearts in N.O.I. met verlof h. t. l.



RIJKSUNIVERSITEIT UTRECHT
1467 3440

BIBLIOTHEEK
DIERGENEESKUNDE
UTRECHT

Aan de nagedachtenis van
mijn Vader.

Bij het voltooien van dit proefschrift, is het mij eene aangename plicht, U, Hoogleeraren, die tot mijne wetenschappelijke vorming hebt bijgedragen, mijn hartelijken dank te betuigen.

In verband met dezen arbeid ben ik echter vooral U, **Hooggeleerde de Blieck**, hooggeschatte *Promotor* veel dank verschuldigd.

De groote gastvrijheid, welke ik gedurende bijna een jaar in de tropische afdeeling van uw Instituut mocht genieten, het ruimschoots ter beschikking stellen van alles, wat voor de totstandkoming van het experimenteel gedeelte in dit proefschrift, noodzakelijk was, doch voornamelijk de ernstige belangstelling, door U getoond in mijne onderzoekingen gedurende dit jaar, vooral in die, neergelegd in mijn proefschrift, zal ik steeds op hoogen prijs blijven stellen en niet licht vergeten.

Veel ben ik U, **Zeergeleerde Nieschulz** verschuldigd. De groote welwillendheid, waarop U mij in technische onderwerpen van het experimenteel parasitologisch laboratorium-onderzoek hebt ingewijd, het aangeven van het onderwerp en het afstaan van onderzoekingsmateriaal, maken aanspraak op mijn grooten dank, welke ik niet beter kan betuigen, dan door te verklaren, dat het mijn innigen wensch zou zijn, nog geruimen tijd onder Uwe leiding werkzaam te mogen wezen.

De tijd in uw laboratorium doorgebracht, beschouw ik als een mijlpaal in mijne loopbaan, waarbij Uwe persoonlijkheid, Uwe wijze van wetenschappelijk werken en Uw groote arbeidskracht een diepen indruk op mij hebben gemaakt.

Aangenaam is het mij, **Zeergeleerde Waworuntu**, terug te denken aan de prettige uren van samenwerking, en aan de collegiale wijze, waarop gij mij, waar gevraagd, met Uwe uitgebreide kennis op coccidien-gebied tegemoet kwaamt.

Ten slotte rest mij, U, **WelEdel Gestrenge Du Buy**, mijn dank te betuigen, voor de vlotte wijze waarop het mij, door de onder Uwe leiding staande bibliotheek van de Veeartsenijkundige Hoogeschool, mogelijk werd gemaakt, de benoodigde litteratuur in bezit te krijgen.

INHOUD.

Blz.

HOOFDSTUK I: Inleiding en algemeen gedeelte 11

HOOFDSTUK II: Materiaal en methoden van onderzoek . . 18

HOOFDSTUK III: Vergelijkend onderzoek der voornaamste opsporings- en verzamelmethoden voor oocysten 28

1. Keukenzoutmethode van Nöller en Otten 1921.
2. Waterglasmethode van Schuchmann en Kieffer 1922.
3. Glycerinemethode van Vajda. 1922.
4. Suikermethode van Sheather. 1923.

HOOFDSTUK IV: Morphologie en ontwikkelingscyclus . . . 41

A. Sporogonie.
   1. Oocysten.
   2. Sporozoieten.

B. Schizogonie.
   1. Schizonten.
   2. Merozoieten.

C. Gamogonie.
   1. Macrogametocyten en macrogameten.
   2. Microgametocyten en microgameten.

HOOFDSTUK V: Vergelijkend overzicht der knaagdiercoccidien en experimenteel onderzoek naar de overbrengingsmogelijkheid van het rattencoccidium op andere knaagdieren 74

HOOFDSTUK VI: Verspreiding van het rattencoccidium in Nederland 92

Recapitulatie 101

Summary 105

Litteratuur 109

Verklaring der platen 117

HOOFDSTUK I.

INLEIDING EN ALGEMEEN GEDEELTE.

Bij wilde ratten door mij gebruikt om experimenten mede te verrichten in verband met de overbrenging van de *Trypanosoma evansi* (van de *Surra)*, werden door mij op een gegeven oogenblik coccidiumoocysten in de faeces aangetroffen.

De ratten, welke als gastheer optraden, behoorden tot de soort Mus rattus, de z.g. *„huisrat"*.

Reeds was door **Nieschulz** [1]) in 1921 coccidiosis bij *Mus rattus* en Mus *norvegicus* in Nederland geconstateerd, zoodat deze toevallige vondsten het vermoeden wekten, dat coccidiosis onder *ratten* geen onbekende parasitaire aandoening zou zijn.

Aangezien de tijd van het jaar (najaar) mij belemmerde in den voortgang van mijne surraproeven, besloot ik, op de hoogte zijnde van een artikel van **Rudovsky** (1922) over rattencoccidiosis, mij voorloopig bezig te houden met de identiteit, biologie en morphologie van het gevonden coccidium.

Te meer beloofde deze studie een belangrijk perspectief te openen, waar **Rudovsky** de meening is toegedaan, dat de ratten de *coccidiosis van de konijnen* vermogen te verspreiden, aangezien hij deze knaagdieren behalve met *E. falciformis* ook met *E. stiedae* besmet vond.

Merkwaardig is het feit, dat de litteratuur zeer weinig of eigenlijk niets positiefs vermeldt over coccidiosis bij ratten, te eigenaardiger daarom, aangezien de wilde rat over den geheelen aardbol, na de cavia, het konijn en de

[1]) Mondelinge mededeeling.

muis een der meest gebruikte en nog gebezigde proefdieren is in onze laboratoria.

Hoevele ratten zijn niet in handen geweest van onderzoekers en commissies, welke de problemen van verschillende trypanosomiasen hadden op te lossen of de epidemiologie van de pest hadden te bestudeeren?

Het zijn niet de minst scherpzinnige onderzoekers geweest, welke zich daarmede bezighielden.

Groot toeval zal het al moeten geweest zijn, dat juist op dit laboratorium zonder speciaal doel rattencoccidiosis bij *Mus rattus* en *Mus norvegicus* werd aangetroffen, afgezien van de enkele zeer sporadische vondsten (Nissl. Ohira. Rudovsky, Nöller).

De studie van het rattencoccidium is in ieder geval van belang, om een inzicht te krijgen in de vraag 1e of het door ons gevonden coccidium pathogeen is voor de gewone in de omgeving van den mensch levende knaagdieren; 2e of wilde ratten als gastheer kunnen optreden van voor mensch en dier pathogene coccidiumsoorten.

De beantwoording van de eerste vraag werd vooral gebaseerd op infectieproeven en morphologische en biologische inzichten, terwijl de oplossing van de tweede vraag zooveel mogelijk gezocht werd in het onderzoek van wilde ratten uit diverse streken van ons land afkomstig.

In laboratoria, waar in verband met de werkzaamheden steeds een groot aantal kleine proefdieren voorhanden en bijeen moet zijn, komt men dikwijls, wat betreft het voorkomen daaronder van coccidiosis, tot onaangename ervaringen. Waar groote hoeveelheden proefdieren van verschillende soort bij elkaar worden verpleegd, ontsnappen allicht individueele ziektesymptomen aan de aandacht en bemerkt men eerst dat er iets aan de hand is aan oogenschijnlijk ongemotiveerde sterfgevallen.

Coccidiosis is in vele gevallen vaak de schuldige. Trouwens zouden sterfgevallen onder kleine proefdieren van welken aard ook, veelvuldiger op den voorgrond treden, indien de coccidiosis niet eerst een aanmerkelijke verwoesting in darmepitheel en kliercellen kon aanrichten, voor

aleer de gastheer met ernstige ziektesymptomen reageert of de dood het gevolg is.

Want onderzoekt men de faeces van de beschikbare muizen, ratten, caviae, duiven, hoenders, konijnen, etc. op coccidien, dan weet ieder ingewijde, dat men, wat oocysten betreft, meestal niet tevergeefs zoekt. Coccidiosis zal door het vormen van portes d'entrée in darmen, lever en nieren voor pathogene micro-organismen, wellicht even vaak of meer nog bijdragen tot het vormen van ziekteprocessen bij mensch en dier, als dat zij zelf als directe doodsoorzaak zal aangezien moeten worden.

Merkwaardig is het, zooals reeds gemeld werd, dat de litteratuur welke zich ook bezig hield of houdt met coccidiosis, zoo negatief staat ten opzichte van coccidiosis bij ratten.

Coccidienwerken en bekende handboeken, zooals van Eimer, R. Pfeiffer, L. Pfeiffer, Wasielewski, Neveu-Lemaire, Prowazek, Nöller (Reichenow), Quiart, Brumpt, Castellani en Chalmers, Railliet, Kolle en Wassermann, Neumann, Sluiter-Swellengrebel-Ihle, Doflein, Rübner-v. Gruber-Ficker en Hutyra-Marek noemen de rattencoccidiosis niet of wijden er slechts een paar woorden aan.

In de periodieken-litteratuur vindt men slechts *enkele* opstellen over dit onderwerp; de allerlaatste hiervan is van de hand van **Rudovsky** (1922), die onder den titel „Die Kokzidiose der Wanderratte" (Mus decumanus Pallas) und ihre Beziehung zur Kaninchenkokzidiose" geen specifiek rattencoccidium beschrijft, doch als zoodanig *E. stiedae* en *E. falciformis* bespreekt, welke zooals later uit mijne experimenten zal blijken, noch op de tamme rat noch op *Mus norvegicus* konden overgebracht worden.

Naast de beschrijving van de morphologie der verschillende ontwikkelingsstadia van het rattencoccidium door mij gevonden en infectieproeven om de soortongelijkheid met andere coccidia vast te stellen, besloot ok zooveel mogelijk systematisch wilde ratten te onderzoeken om de aanwezigheid van coccidien bij deze in percentage vast te kunnen leggen.

Buitengewoon merkwaardig echter was het feit, dat ik vanaf medio November [1]) tot ultimo December 1923 slechts een drietal ratten kon bemachtigen, terwijl voor dien tijd het aanbod legio was.

Eind December verscheen in de dagbladen het bericht over de rattenplaag te Ilpendam, zoodat ik om ratten te verkrijgen, mij daarheen richtte en met succes.

Voorloopig echter bleef mij niets anders over dan met het materiaal van de voornoemde exemplaren *Mus rattus* door te werken. Gelukkig was mij daarvan genoegzaam overgebleven, in proefdieren en met de gewone bewaarmethode voor coccidiumoocysten.

Het oudste op het gebied van coccidiuminfecties bij ratten is te lezen bij **Wasielewski** (1904), blz. 102, waar hij naar een schijnbaar persoonlijke mededeeling van **Nissle** schrijft, dat de laatste bij grijze ratten in Berlijn een *Eimeria* gevonden heeft, waarvan de sporozoieten de sporocysten verlaten aan het spitse einde (waar de micropyle zit).

Cole en **Hadley** (1910) vermelden een coccidium, dat zij in Noord-Amerika bij ratten gevonden hebben. Een beschrijving of eenige aanduiding betreffende de morphologie geven zij niet, doch zeggen alléén dat het niet gelijkt op het coccidium, dat steeds gevonden wordt door hen bij kalkoenen, lijdende aan black-head.

Verder geeft **Rudovsky** (1921) eenige opgaven over de oudere litteratuur en zegt o.a. dat **Grassi** (1888) de ontwikkeling van de sporozoieten in de oocysten van *Eimeria falciformis* der witte ratten heeft waargenomen, doch niet beschreven.

Carpazzi (1913) zou coccidiosis bij ratten hebben gevonden in den lever, doch bleken later de lichaampjes in de coupes, waarop de diagnosis werd gemaakt, eieren te zijn van de *Hepaticola hepatica.*

Dat een vergissing kan optreden bij onderzoekers, welke niet veel met coccidienmateriaal hebben kennis gemaakt, wordt b.v. verklaard uit de figuren 1 en 1a op plaat I.

[1]) Begin van het onderzoek.

Ohira (1912) vond een nieuw rattencoccidium, *Eimeria Miyairii* en beschreef het in 't Japansch.

De periodieken, waarin de bevindingen van Carazzi en Ohira zijn gepubliceerd heb ik te vergeefs ter inzage trachten te verkrijgen.

De studie van **Ohira** voornamelijk, welke mij uit den aard der zaak het meest interesseerde, is mij ondanks vele moeiten, niet in handen gekomen. Zelfs **Rudovsky** verkeerde in de onmogelijkheid mij er inzage van te geven.

Ik heb mij dus tevreden moeten stellen met het referaat van **Fukuhara** (1912), dat echter weinig licht geeft. Dit komt voornamelijk op het volgende neer:

1. De parasieten ingedrongen zijnde in de epitheelcellen, bereiken ten laatste de nauwe tusschenruimte tusschen kern en basaalmembraan van de gastcellen.
2. In het stadium der agame vermeerdering is sexueele dimorphismus op te merken.
3. De beide gameten worden *in* de epitheelcel gevormd en dan met de gastcel van de epitheelcellenrij naar de tunica propria geëlimineerd, waar misschien de bevruchting en de vorming van oocysten tot stand komt.

Rudovsky (1921) onderzocht 99 ratten *(Mus decumanus Pall = Mus norvegicus Erxl.)* en vond dat:

35 hiervan *Eimeria falciformis* in de faeces hadden en
4 exemplaren, *Eimeria stiedae.*

Afgaande op deze vondst kwam **R.** tot de overweging, dat *ratten* wel *mede schuldig* zouden kunnen zijn aan de verspreiding van *coccidiosis* onder de *konijnen.*

Dat ratten (Mus decumanus Pallas) *Eimeria falciformis* kunnen herbergen, beschouwde **R.** met recht als de eerste mededeeling van dien aard, evenals het feit, dat hij de faeces van een jong konijn behalve met *Eimeria stiedae* ook met *Eimeria falciformis* geïnfecteerd vond.

Over de meeningen van **R.**, mede over zijne dierproeven, welke technisch nog wel eenige verbeteringen behoefden, kom ik terug in 't Hoofdstuk, waar o.a. speciaal met het oog op de bevindingen van dezen onderzoeker infectieproeven bij verschillende proefdieren zijn verricht.

Dan zal tegelijkertijd aangetoond worden, dat, gezien mijne bevindingen en die van anderen, 't economische gevaar van de verspreiding van konijn-coccidien door ratten voor Nederland niet zoo groot is, misschien zelfs niet bestaat.

De conclusies welke **R.** uit zijne proeven trekt, zijn in 't kort de volgende.

1. Bij de wilde rat (Mus decumanus Pall. = M. norvegicus Erxl.) komen twee soorten Eimeria voor n.l. *Eimeria falciformis* en *Eimeria stiedae*.
2. De wilde rat is als oorspronkelijke gastheer voor het konijn-coccidium te beschouwen; verder speelt zij een belangrijke rol bij de **overbrenging** der konijnen-coccidiosis
3. De overbrenging van de rattencoccidiosis op het konijn is experimenteel gelukt.

Wellicht had **R.** zijne opvattingen eenigszins kunnen wijzigen of ze veiliger basis kunnen verschaffen, indien hij melding had gemaakt van de experimenten van **Nöller** (1920), waarbij deze onderzoeker tevergeefs getracht heeft met groote hoeveelheden rijpe oocysten van *E. falciformis vier ratten* te infecteeren.

Waworuntu (1924) kon met sterk positief materiaal, waarin *E. stiedae, E. perforans* en zijne „4e vorm" *(E. stiedae* uit den lever), niet tot besmetting van twee ratten komen. De dieren reageerden niet.

Ten slotte bericht **Rudovsky** (1923) in een vergadering van dierenartsen te Weenen, nu ruim 219 ratten te hebben onderzocht, waarbij hij behalve de reeds beschreven coccidienvormen nog een andere zag, waarvan de sporen een micropyle bezaten in den vorm van een horlogeglasvormig dekseltje [1])

---

[1]) Intusschen is van de hand van **Wasielewski** (1924) een mededeeling verschenen, waarin genoemde onderzoeker bericht, oocysten gevonden te hebben bij witte ratten te **Rostock.**

De afbeelding welke hij geeft van den oocijstevorm kon nog verwerkt worden in het Hoofdstuk „Morphologie".

Voornamelijk zijn het de alarmeerende berichten van **Rudovsky** geweest, welke den stoot tot dit onderzoek gegeven hebben, want, is de gewone gang van zaken bij een infectie van coccidienvrije konijntjes, dat *de wilde rat* als smetstofoverbrenger optreedt, dan zal aan de bestrijding der coccidiosis bij de konijnen noodwendig eene uitroeiïng van wilde ratten gepaard moeten gaan, wil de eerste eenig succes hebben.

Aangezien het door mij en het reeds eerder door **Nieschulz** gevonden coccidium van *Mus rattus* zoowel als van *Mus norvegicus (Mus decumanus)* uiterlijk in oocystevorm reeds zooveel afweek van de bekende coccidiensoorten, waren mede eenige oriënteerende infectieproeven en bestudeering van de ontwikkelingsvormen noodzakelijk om uit te kunnen maken of hier eventueel een nieuw soort coccidium was gevonden.

HOOFDSTUK II.

MATERIAAL EN METHODEN VAN ONDERZOEK.

Als uitgangspunt van het coccidienmateriaal werden genomen faeces van ratten 260 en 261, twee exemplaren behoorend tot de soort *Mus rattus* en rat 266, een *Mus norvegicus*.

Deze drie ratten waren voor andere doeleinden in 't laatst van October 1923 uit de omgeving van Utrecht ontvangen.

Zooals gebruikelijk, werden de faeces uitgestreken in groote petrischalen op filtreerpapier, waaronder een laag vochtige watten.

Zijn sommige coccidiumsoorten gevoelig voor niet dun uitstrijken, zoodat de oocysten niet sporuleeren of gaan degeneeren, op het coccidium van de rat heeft dit weinig invloed en sporuleert het meestal evengoed gewoon verder.

De petrischalen met de faeces werden bewaard in een kast, welke door electrische verwarming voortdurend werd gehouden op een temperatuur van 25—28° C. Het was natuurlijk noodig, ter vermijding van schimmelgroei op de faeces, deze flink te bevochtigen met 1 % boorzuuroplossing. Om de 3—4 dagen werden de schalen nagezien om te contrôleeren of toevoeging van boorzuuroplossing of van water noodzakelijk was.

De rattenfaeces liet ik steeds een dag onuitgestreken in de petrischalen, omdat ze eerst den noodigen tijd in een vochtige atmospheer moesten vertoeven om gemakkelijk te kunnen worden uitgestreken.

De oocysten sporuleerden meestal binnen vier dagen.

Eigenaardig was het op te merken, dat bij het rattencoccidium de oocysten of goed sporuleerden (60—90 %) of niet en degenereerden.

Ik behield het materiaal dus uitgestreken in de petrischalen en onderhield de infectie verder door telkens tamme bonte of wilde ratten te infecteeren.

Aangezien ik bij kunstmatige infectie geen sterfgevallen zag onder ratten, de tijd verloopende tusschen infectie en uitscheiding oocysten steeds acht dagen bedroeg en de periode van uitscheiding ± vier dagen, behoefde ik niet al te veel proefdieren voor de productie te besmetten, daar zij telkens na ± 14 dagen weer bruikbaar daarvoor waren.

Slechts één rat (nr. 266 M. norvegicus) stierf, en het was niet uit te maken of het tengevolge van de coccidiosis was, omdat in blinden darm en rectum weinig cysten werden gevonden en geen ontwikkelingsvormen. Trouwens is het bekend, dat wilde ratten het veelal niet lang in gevangenschap uithouden.

Bij de morphologie wordt hierop nog nader teruggekomen.

Opgemerkt kon worden, dat bij proefdieren bij de tweede of derde infectie het aantal oocysten verminderde, alsof er een zekere immuniteit was opgewekt. Trouwens is het van meerdere coccidien bekend, dat zij bij oudere dieren niet gemakkelijk meer parasiteeren.

De tamme rat nr. 278 kon ik in 't geheel niet besmetten.

Opsporen en verzamelen van oocysten.

Hierover is genoegzaam medegedeeld in het Hoofdstuk „Vergelijkend onderzoek van verschillende opsporings- en verzamelmethoden".

Infectiemodus.

Ratten, muizen en caviae werden geïnfecteerd door de dieren na 24 uur vasten, voedsel voor te zetten (brood, raapsteel, etc.), waardoor goed geïnfecteerd materiaal (faeces) gemengd was.

Het geheel werd een zoete smaak gegeven door middel van honing, waarmede meteen bereikt werd, dat de faeces eenigszins gemaskeerd werden. Last dat het voedsel ge-

weigerd werd, nadat de dieren 24 uur gevast hadden, werd bijna nooit ondervonden.

Jonge konijnen werden geïnfecteerd door in de melk oocysten te doen, welke verzameld waren met de suikermethode.

Vóór de infectie werden de faeces der te infecteeren dieren 2 × met een tusschenruimte van acht dagen door middel van de keukenzoutmethode onderzocht.

Opfokken van coccidia-vrije konijntjes.

Drachtige konijnen werden ± 2½ week vóór het werpen, in een kist zonder bodem bewaard. Deze werd elken dag verplaatst en het turfstrooisel vernieuwd. Deze maatregel is beter dan het vernieuwen van het turfstrooisel alleen.

Na het werpen werden de jongen nog een dag of 10 bij de moeder gelaten. Daarna kwamen ze in schoone kistjes in de warme kast (25—28°) en werden drie maal daags gevoerd met verdunde koemelk (melk en water gelijke deelen), later met onverdunde koemelk.

Deze melk werd toegediend in een recordspuit van 10 cc. voorzien van een goed loopende zuiger met op de plaats van de canule een gummi buisje van ± 3 c.M. lengte.

De melk werd steeds gekookt.

Bij eenig zorgvuldig werken gelukte het bijna altijd de konijntjes vrij te houden van coccidiosis.

Op den leeftijd van 3—4 weken werden ze gewend aan wat bijvoer.

Sporozoietenonderzoek.

Metzner (1903) stelde een uitvoerig onderzoek in naar de wijze, waarop de sporozoieten vrij worden uit de oocysten en in welk gedeelte van de ingewanden dit gebeurt. Voor dit doel gebruikte hij o.a. pancreaspreparaten. Alhoewel na verloop van uren bij gebruik van pancreatinum de sporozoieten vrij werden, beviel mij deze methode niet.

Veel praktischer was het mij, een muis te voeren met sterk oocysten-houdend materiaal en het diertje na 1 uur

of korter te dooden met lichtgas. Na ruim een uur bleken de cysten meestal allen verlaten. Om te zien hoever het voedsel reeds gevorderd was in de ingewanden, werd hieraan norit toegevoegd.

Om het verlaten der sporozoieten, eerst van de sporocysten, daarna van de oocyste, te vervolgen, maakte ik een muis na voedering iets eerder af, b.v. na ½—¾ uur en bracht dan een weinig van den darminhoud, welke zich b.v. minstens 5 c.M. achter de pyloris bevond, met een weinig phys. NaCl. oplossing op een voorwerpglas, sloot snel af met een dekglas en omrandde dit met vaseline of paraffine.

Daarna bracht ik het geheel onder de microscoop in de verwarmde microscopiseerkast (38° C.) en trachtte in het levend preparaat een plekje te vinden waar zich een of meerdere oocysten bevonden met nog daarin aanwezige sporozoieten. Na korten tijd kon ik dan wel eens het uitslippen der sporozoieten vervolgen. Om te trachten de beweging der sporozoieten na te gaan, kan men eenmaal de sporozoieten vrij hebbend, werken zooals b.v. **Schewiakoff** (1894) deed bij *Gregarinen* of **Schaudinn** (1900) bij sporozoieten.

Darmsappen van de muis eigenen zich voor het bestudeeren van de beweging der sporozoieten van het rattencoccidium niet goed. Beter is daarvoor duodenaalsap uit den rattendarm te nemen. In dat van de muis verliezen zij snel hunne bewegelijkheid. Wellicht is dit ook een argument voor de soortspecifiteit.

Onderzoek van de sporulatie der oocysten.

Reeds vele onderzoekers hebben getracht het geheele verloop der sporulatie na te gaan. De meeste spreken er van dit te hebben gedaan, door het coccidienhoudend materiaal in de vochtige kamer onder het microscoop te brengen, zonder eenige verdere aanduiding.

Metzner (1903), de eerste onderzoeker, die aan het konijnencoccidium *(E. stiedae)* de sporulatie tot in onderdeelen naging en in teekening bracht, zooals geen enkel

het voor hem had gedaan, gebruikte de hangende druppel. Hij ging als volgt te werk naar een beschrijving van hem van de techniek, in 1901 en in 1903.

> „Die Deckglaspräparate würden in der Weise hergestellt, dasz ein Tropfen des Darmsaftes durch Hin und Herneigen zu flacher Ausbreitung gebracht wurde. Dieselben montierte ich auf feuchte Kammern die zum Teil für Durchleitung von Gasen eingerichtet waren und dichtete mit Paraffin sowohl als Vaselin ab. Bei der Anfertigung der Flachtropfenpräparaten wurde darauf gesehen, den ganzen Inhalt des Tropfens vor dem Einschliessen möglichst ausgiebig und lange mit der Luft in Berührung zu bringen."

Het vlak maken van den droppel door **Metzner** had natuurlijk ten doel de oocysten zoo dicht mogelijk bij de frontlens te brengen. Dit bereikte ik door oocysten voor de sporulatie te nemen, verzameld met de suikermethode. Ik bracht een öse van dit materiaal op een dekglas, dat daarna omgekeerd op de vochtige kamer werd gelegd. De oocysten werden dan tegen het dekglas aangedreven door den opwaartschen druk uitgeoefend door de suikeroplossing. Men had dan een uitstekend beeld van de oocysten in het heldere medium van de suikeroplossing. Vooraf werd op het dekglas een öse boorzuur (1 %) gebracht, waarmede de öse materiaal werd vermengd.

Voor vochtige kamer kan men verschillende modellen nemen, die in den handel gebracht worden o.a. voor het mikrurgisch werken (**Schouten**).

De eenvoudigste is wel die van **Schultze** afgebeeld in tekstfig. A.

Verder kan men ook volstaan met een gewone hangende druppel, gebracht tusschen dekglas en uitgehold voorwerpglas. Het dekglas wordt dan afgesloten met vaseline of paraffine. Men is dan meestal op een kleinere öse van het oocystenhoudend materiaal aangewezen en heeft de lucht- en vochttoevoer niet in de hand.

Nieschulz echter kon de sporulatie van *E. pfeifferi* volkomen op deze manier nagaan.

In hoeverre luchttoevoer een rol speelt bij de sporulatie, staat dus nog niet vast.

Nederveen (1923) zag bij toevoeging van waterstofsuperoxyd bij faeces met oocysten, welke normaliter slecht sporuleerden, hierin verbetering komen.

Anderen (**Nieschulz, Waworuntu**) zagen daarin geen heil.

Daarbij zijn er coccidien, welke zich juist van de lucht schijnen af te sluiten om te kunnen sporuleeren, zooals b.v. *E. subepithelialis* beschreven door **Moroff** en **Fiebiger** (1905), *E. anguillae* uit de paling door **Léger** en **Hollande** (1922) en *Isospora bigemina* door **Wenyon** (1923).

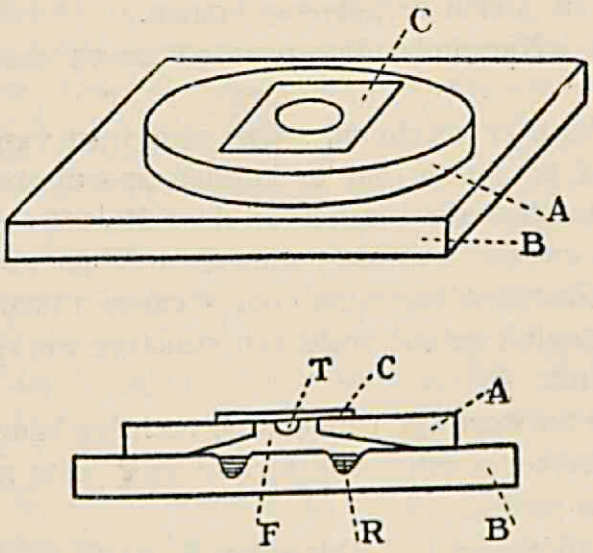
Ontegenzeglijk oefent vocht een gunstige werking op de sporulatie uit.

Door mij nu werd een eenvoudige vochtige kamer geconstrueerd, welke in elk laboratorium snel is te maken en geen kosten medebrengt.

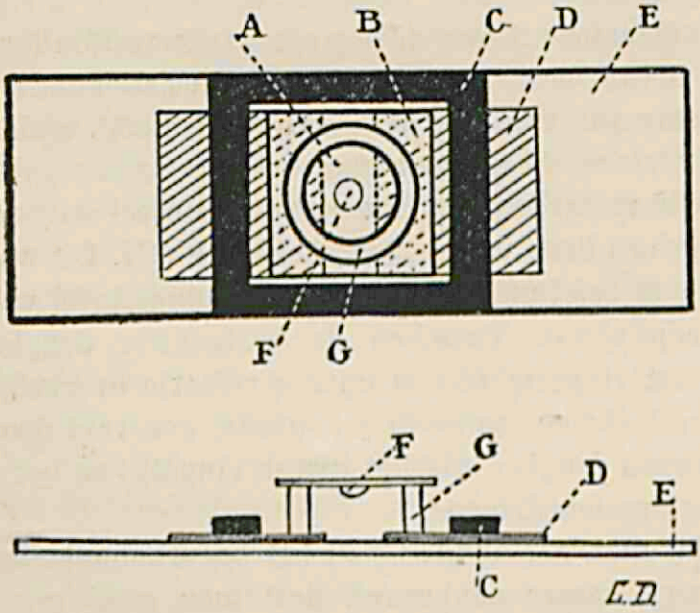
Deze is afgebeeld in tekstfiguur B.

Men neemt een goed schoon normaal voorwerpglas (76 × 26) (E) en kit daarop, beide op een afstand van een ½ c.M. van het midden van het voorwerpglas door middel van Canadabalsem, twee dekglaasjes van 2 × 2 c.M. Op deze dekglaasjes kit men er nog een van hetzelfde formaat. Hierop brengt men door middel van Canadabalsem een glazen ring aan van ½ c.M. hoogte en 1.8 c.M. middellijn, zoodanig, als op de figuur aangegeven. Daarna maakt men van vloeibare harde paraffine met een penseel een walletje om het geheel heen van ± 2 m.M. hoogte (C). Dit walletje dient om te beletten, dat water op de objecttafel van het microscoop vloeit. Tusschen de vastgekitte dekglaasjes (D) en het ringetje (G) is nu een spleetje overgebleven, waardoor *lucht* en *water* in de ruimte, gevormd door het bovenliggend dekglas (B) het glazen ringetje en het voorwerpglas kunnen dringen.

Voordat men het dekglas met het oocystenmateriaal op de vochtige kamer aanbrengt, doet men eerst een paar druppels water in de in de vorige alinea bedoelde ruimte. Het dekglas wordt op den ring met vaseline vastgeplakt om verschuiven tegen te gaan bij het bekijken met olieimmersies.



Tekstfig. A: Vochtige kamer naar Schultze. (vrij uit Doflein).



Tekstfig. B: Vochtige kamer (voor verklaring zie tekst). Orig.

Men kan nu beginnen de sporulatie te vervolgen. Indien men merkt, dat het water bijna verdampt is, spuit men voorzichtig in het bovengenoemde spleetje met een recordspuitje wat water bij. Indien men te veel water toevoegt, loopt men echter gevaar de hangende druppel (F) weg te spoelen. Men behoudt op deze manier een zeer goed beeld van de oocysten, zie figuren 2, 2a, 2b, plaat nr. I, ondanks de vele brekende lagen, waardoor het licht moet vallen.

Indien men de vochtige kamer met het materiaal 's nachts onder het microscoop wil laten en uitdroging wil voorkomen, dan doet men het microscoop onder een stolp, na er vooral een bakje water bij te hebben gezet.

Men neemt natuurlijk eerst alle lenzen van het microscoop af om nadeeligen invloed van de vochtige atmospheer uit te schakelen.

Het gebruik van deze vochtige kamer heeft mij zeer voldaan bij de bestudeering van de sporulatie van het rattencoccidium.

Kleurtechniek van bewaarpreparaten.

Voor het fixeeren van de uitstrijkpreparaten uit darminhoud en van darmslijmvlies werd steeds de fixatievloeistof (sublimaat-alcohol) van **Schaudinn** gebruikt, onder toevoeging van 2 % azijnzuur.

Angezien in dit laboratorium deze fixatievloeistof steeds voor protozoölogischen arbeid met uitmuntend resultaat werd toegepast, beperkte ik mij voornamelijk tot het gebruik hiervan.

Na fixatie (½—2 uur) werden de preparaten goed afgespoeld in stroomend water (minstens 2 uur), daarna gehard in alcohol 70 %, liefst gedurende 12 uur.

Het verwijderen van de sublimaat door joodalcohol bleek voor uitstrijkpreparaten niet noodzakelijk te zijn.

De kleurmethoden o.a. gebezigd waren:

1. Haemaluin van **Mayer.**
2. Haematoxiline naar **Delafield.**
3. IJzerhaematoxyline naar **Heidenhain.**
4. Methylblauw-Eosine naar **Mann.**

Met haemaluin kan men aardige resultaten bereiken en zijn de preparaten soms even goed en bruikbaar als die gekleurd met haematoxyline volgens **Delafield.**

De kleuring met haematoxyline volgens **Delafield** is eigenlijk *de* kleuring bij het coccidienonderzoek, omdat men de differentiatie met zoutzure-glycerine-alcohol zoo goed in de hand heeft.

Waworuntu overkleurde soms dagen (3—5) met zwakke oplossing (1 op 40), differentieerde dan zeer kort in zoutzure alcohol (gemiddeld 1½ minuut) en daarna langer met zoutzure glycerine-alcohol. Hij beweert evenals **Reichenow** hiermede betere resultaten te krijgen dan met de korte kleuring met meer *geconcentreerde* haematoxyline-oplossingen.

De **Delafield'sche** kleuring geeft verder aan de verschillende bestanddeelen van de coccidium-ontwikkelingsvormen goede kleurnuanceering (chromatine, volutine, plasma etc.).

IJzerhaematoxyline is bij het coccidienonderzoek slechts weinig bruikbaar. In verband met den eigenaardigen bouw van de vrije sporozoieten van het rattencoccidium werd het dikwijls aangewend om de kernbestanddeelen goed te doen uitkomen. Dit gelukte slechts in zeer enkele gevallen.

Voor de microgameten was het goed bruikbaar, vooral voor het aantoonen van de geesels.

Dan werd de tijdkleuring van **Nöller**, zooals hij voor amoeben gebruikte, toegepast en zeer kort (1—1¼ min.) gedifferentieerd met 2 % ijzeraluinoplossing.

Een enkele keer werd deze kleuring ook aangewend om de kernstructuur der merozoieten goed te doen uitkomen.

De **Mann'sche** kleuring heb ik spoedig, wegens het grillige van de differentieering, laten varen.

Voor de juiste techniek dezer kleuringen verwijs ik gaarne naar hetgeen **Nöller** (1922) er over schrijft in zijn handboek: „Die wichtigsten parasitischen Protozoen", 1e deel, blz. 53—92. Ook voor de behandeling der coupes van

coccidienhoudend materiaal is in bedoeld boek alles aangegeven.

Voor het onderzoek naar vetten in de z.g. vacuolen der sporozoieten werd gebruik gemaakt van:

1. **Flemming's** chroomosmium-azijnzuur onder nakleuring met Saffranine 1 %.
2. **Müller's** mengsel (zie **Mayer's** Zoomikrotechnik 1920, blz. 270, onder nakleuring met Sudan III en haemaluin (**Mayer**, blz. 268).

HOOFDSTUK III.

VERGELIJKEND ONDERZOEK DER VOORNAAMSTE OPSPORINGS- EN VERZAMELMETHODEN VOOR OOCYSTEN.

Wat het aantoonen betreft van oocysten in faeces is niets méér waar, dan hetgeen **Nöller** en **Otten** (1921) in hunne verhandeling, waarin zij de keukenzoutmethode voor het verzamelen van oocysten beschreven, onder meer zeggen:

> „Es ist ja seit langem bekannt, dass der spärliche Nachweis der Kokzidien bei den Haustieren weniger an ihrer geringen Verbreitung als an den Schwierigkeiten der Kotuntersuchung liegt."

Uit den aard der zaak speelt natuurlijk het dier, waarvan de faeces afkomstig is, binnen zijn soort een rol, wat de samenstelling hiervan betreft.

Zoo zijn faeces van honden, katten en muizen, ratten, varkens geschikter voor het onderzoek op coccidiumoocysten dan die van runderen en paarden, aangezien deze laatste steeds vol zitten met vezelbestanddeelen welke spaarzame oocysten spoedig over het hoofd doen zien.

Mijne meening is, dat geen enkel negatief faecesonderzoek op coccidiumoocysten *betrouwbaar* is, wat den uitslag betreft, indien niet een der *opsporingsmethoden* (Anreicherungsverfahren) is toegepast.

A. Ik heb het dienstig geacht, de voornaamste bestaande methoden met elkaar systematisch te vergelijken op hare bruikbaarheid voor een zoo nauwkeurig mogelijk te achten faecesonderzoek, vooral omdat hierover in de litteratuur niets is te vinden.

Alvorens over te gaan tot vergelijking der cijfers in tabel No. I wil ik eerst in 't kort de vier voornaamste voor

coccidiumoocysten gebruikelijke opsporings- en verzamelmethoden de revue laten passeeren.

Ze zijn in chronologische volgorde van publicatie:

1. Keukenzoutmethode van **Nöller** en **Otten** (1921).
2. Waterglasmethode van **Schumann** en **Kieffer** (1922).
3. Glycerinemethode van **Vajda** (1922).
4. Suikermethode van **Sheather** (1923).

De methoden 1, 3 en 4 zijn oorspronkelijk uitgedacht voor en toegepast bij het zoeken naar wormeieren.

Methode 2 is in het leven geroepen om te trachten bij het opsporen (anreichern) minder vuil in de bovenste laag te krijgen en betere houdbare preparaten (Dauerpreparaten) te kunnen vervaardigen.

1. *Keukenzoutmethode.*

Nöller en **Otten** (1921) werkten deze methode uit naar aanleiding van de vondst van **Fülleborn** (1920), welke bij de contrôle van de keukenzoutmethode van **Kofoid** en **Barker** (1919) voor het aantoonen van wormeieren ook coccidiumcysten had gevonden. **Fülleborn** gebruikte hierbij 10 deelen verzadigde keukenzoutoplossing op 1 deel faeces en vond, dat de tijd, dat de meeste eieren aan de oppervlakte van het mengsel te vinden waren, lag tusschen 15 en 45 minuten.

De door **Nöller** en **Otten** ingevoerde modificatie van deze methode bestond voornamelijk hierin, dat zij de faeces zeefden door een metaalgazen zeef (0.2 c.M. maaswijdte), waardoor de grovere faecesdeelen achterbleven op de zeef en niet hinderlijk waren voor het onderzoek van de bovenste laag van het mengsel, waarin na korten tijd eventueel in de faeces aanwezige oocysten waren aan te toonen. Het keukenzout-faecesmengsel werd in Erlmeyerkolven gebracht, waardoor natuurlijk bereikt werd, dat een maximum aantal oocysten op een minimum oppervlakte verzameld werden (**Hobmaier** 1921).

Behalve dat in dit gebruik van Erlmeyerkolven geprofiteerd werd van het verschil in S.G. tusschen keukenzoutoplossing en oocysten, werd de doorsnede van het opper-

vlak, waarin de oocysten konden samenkomen, sterk verkleind. **Fülleborn** (1922) kon **Hobmaier** niet volgen, waar deze een beter rendement aan oocysten bij het gebruik van Erlmeyerkolven constateert, dan bij het gebruik van cylinderglazen. Hij zegt geen wezenlijke vermeerdering van te vinden materiaal aan de oppervlakte te verkrijgen, omdat de schuine wanden van de aanbevolen Erlmeyerkolfjes te veel in dit geval parasieteneieren vasthouden.

Dat de wanden parasieteneieren tegenhouden is best mogelijk en kan gemakkelijk bij de suikermethode geconstateerd worden als men oocystenhoudend materiaal bewerkt.

Als men een dag lang telkens de oocysten van de oppervlakte verwijdert, vindt men toch nog telkens oocysten, die door de wrijving tegen de schuine kolfwanden veel later aan de oppervlakte verschijnen.

Daarbij toonden **Schuchmann** en **Kieffer** (1922) met proeven aan, dat de Erlmeyerkolfjes met schuine wanden een sterkere opeenhooping van parasieteneieren aan de oppervlakte van het medium veroorzaakten dan in de gewoonlijk gebruikte cylinderglazen.

Nöller en **Otten** bevonden, dat de gunstigste tijd, waarop men kans had de meeste oocysten in de bovenste laag van het mengstel aan te treffen, lag tusschen 25—90 minuten.

Dit komt met mijne ervaringen overeen, aangezien bij de contrôle der faeces door middel van de keukenzoutmethode steeds materiaal voor microscopisch onderzoek na 1 uur werd genomen, nadat gebleken was door oriënteerende proeven, dat men alsdan een maximum aantal eventueel aanwezige oocysten ter beschikking had.

Hobmaier voerde bij het onderzoek naar parasieteneieren bij plantenetersfaeces de z.g. „beschleunigten Kochsalzmethode" in, welke methode door de aanwezigheid van vetten voor faeces van vleescheters onbruikbaar bleek.

De faeces werd voor deze methode ontdaan van de grovere bestanddeelen, na met verzadigde keukenzoutoplossing te zijn vermengd. Met het mengsel werden centri-

fugebuisjes gevuld en kort gecentrifugeerd, waardoor de eieren naar boven werden geslingerd.

Het aangename bij de keukenzoutmethode is dit, dat de verhouding keukenzoutoplossing tot faeces naar boven feitelijk ad libitum kan varieeren. Doch naar beneden mag zij niet zakken onder de verhouding 5:1 (**Otten** 1922).

De bezwaren, waarop **Schuchmann** en **Kieffer** het zoeken naar een nieuwe opsporingsmethode gronden, n.l. de vele verontreinigingen, welke met parasieteneieren en oocysten naar boven worden gewerkt en het snelle uitkristalliseeren van het zout tusschen voorwerp en dekglas, kunnen volgens **Otten** gemakkelijk ondervangen worden.

Hij raadt voor het uitschakelen der verontreiniging aan meerdere malen zeeven en vooral een fijne zeef te gebruiken. Om microscopische preparaten tegen het uitkristalliseeren van zout te beschutten, geeft **Otten** aan, wat verdunde formaline toe te voegen en het dekglas luchtdicht af te sluiten.

Geheel afdoende zijn beide voorschriften echter niet.

Bij het gebruiken van deze methode voor het onderzoek van rattenfaeces had ik geen last van de aanwezigheid van schuim in den hals der Erlmeyerkolfjes, waarvoor **Otten** speciaal waarschuwt bij herkauwersfaeces.

2. *Waterglasmethode.*

De hierboven genoemde twee bezwaren (verontreiniging der eieren en oocysten en uitkristalliseeren van zout) dachten **Schuchmann** en **Kieffer** te ondervangen met het bezigen van waterglas inplaats van keukenzout.

Zij gebruikten het gewone in den handel verkrijgbare natronwaterglas, dat b.v. ook voor het conserveeren van kippeneieren wordt gebruikt.

Het heeft een S.G. van 1.3—1.4.

Voor de verschillende wormeieren en voor de oocysten berekenden zij de verdunning van het waterglas met water, waarbij zij nog aan de oppervlakte van het mengsel konden aangetoond worden. Voor de coccidiumoocysten vonden zij als de beste verdunning 1 op 2.

Voor *Ascaris*-eieren roemden **Sch.** en **K.** vooral hunne methode boven die met keukenzout. Zij centrifugeerden de faeces met 10—15-voudige hoeveelheid water, goten het bovenstaande vocht af en vulden bij met waterglaswater gelijke deelen. Zij vulden hiermede Erlmeyerkolfjes en lieten deze rustig staan. **Sch.** en **K.** publiceerden de *resultaten* van hunne methode alleen voor wormeieren.

Waworuntu (1924) zegt eveneens met waterglas bevredigende resultaten te hebben verkregen.

Mijn minder gunstige meening over de waterglasmethode als opsporingsmedium voor oocysten is vooral gebaseerd op de vergelijkende cijfers in tabel I.

3. *Glycerinemethode.*

Deze verzamelmethode werd uitgevonden door **Vajda** (1922) en gepubliceerd nadat hij ruim 1000 faecesmonsters ermede onderzocht had.

In 't kort komt de techniek, welke hij zoowel voor wormeieren als voor oocysten toepaste, hierop neer.

De faeces werd verdund met water en met glycerine (S.G. 1.25) in een kort reageerbuisje of een flink medicijnfleschje.

Dit bleef een half uur tot een uur staan. Na een ½—1 uur staan werd de bovenste laag onderzocht, door er materiaal van af te nemen door middel van een goed schoon, gemaakte en droge glasstaaf.

De te gebruiken hoeveelheid water om de faeces te verdunnen hangt af van de consistentie van de faeces.

Zoo gebruikte **Vajda** voor paarden- en varkensfaeces 2 × zooveel water en voor schapen-, honden- en geitenfaeces 3 × zooveel water. Bij diarrhee geen water.

Hij kwam verder nog tot de ontdekking, dat de verschillende wormeieren zich verschillend verhielden tot de glycerine, dus moest er als op een bepaald soort eieren werd onderzocht, een bepaalde verhouding glycerine-water bestaan.

Voor *coccidiumcysten* gebruikte hij bij het verdunnen der faeces 1 deel glycerine op 1 deel water.

Als modificatie kan men na vermenging van de faeces met water eerst centrifugeeren (± ¼ uur), dan het bovenstaande water tot op de helft weggooien en daarvoor de glycerine in de plaats doen. De op den bodem van het centrifugebuisje vastzittende faeces moet worden losgemaakt, het geheel daarna goed omgeschud en weer worden gecentrifugeerd.

Zoowel na het gewoon laten staan als na het centrifugeeren vindt men aan de oppervlakte de parasieteneieren of de oocysten.

Vooral voor *Ascaris*-eieren moet deze methode uitmuntend zijn en wordt o.a. door **Baudet** (1924) [1]) zeer geprezen.

Wil men de aan de oppervlakte drijvende wormeieren of oocysten op een kleine localisatie ter beschikking hebben, dan bedekke men het centrifugebuisje met filtreerpapier en giet het langzaam leeg. Ook kan men over een kleiner buisje filtreerpapier spannen en dit met de oppervlakte-laag van het glycerine-watermengsel in contact brengen. Het is dan vanzelf sprekend, dat de eieren of de oocysten aan 't filtreerpapier blijven kleven.

Wil men een proefdier met de oocysten infecteeren, dan kan men het filtreerpapier fijn verdeeld door het infecteerend voedsel doen.

Vajda stipt nog het volgende aan, dat in dit verband wel vermeldenswaard is en wel, dat *Distomum*-eieren in 't glycerine-watermengsel spoedig openbreken en zinken.

De voordeelen van deze methode zijn:

a. men kan met kleine hoeveelheden faeces werken.
b. De origineele oocyste-vorm blijft lang bestaan in tegenstelling met de keukenzout- en de nog te bespreken suikermethode.
c. de glycerine behoedt wormeieren en oocysten, welke aan 't filtreerpapier kleven, eenige dagen voor uitdroging.
d. de methode is buitengewoon nauwkeurig.

---

[1]) In druk.

Een nadeel is natuurlijk het verschillend verhouden van wormeieren en oocysten voor speciale glycerine concentraties.

Allen (1922) heeft in verband met coccidien veel met deze methode gewerkt. Hij ging hoofdzakelijk na of centrifugeeren noodzakelijk was of niet.

Daarbij kwam hij tot de bevinding, dat er geen directe noodzakelijkheid bestond voor centrifugeeren. Bij niet centrifugeeren gebruikte hij geparaffineerde kegels van filtreerpapier (wax cones) waarvan hij voor elk faecesmonster een nieuw exemplaar gebruikte.

Om materiaal van de oppervlakte voor microscopisch onderzoek af te nemen, gebruikte hij telkens een nieuwen tandenstoker (toothpick). Op die manier coupeerde hij bij onderzoek van vele monsters het overmatige glaswerkwasschen en het aankleven bij het gebruik van de vettige glycerine van oocysten aan glaswerk en entnaalden.

Allen prees zijne methode zeer voor de praktijk.

4. *Suikermethode.*

Deze opsporingsmethode werd voor oocysten in Nederland voor zoover bekend het eerst toegepast door **Waworuntu** (1923) onafhankelijk van **Sheather** (1923).

W. gebruikte voor het opsporen der oocysten voornamelijk suiker, omdat het keukenzout te sterk oocysten en sporozoieten aantast en bij infectie soms keukenzoutvergiftingen kunnen optreden.

Zooals vermeld, is de suiker-verzamelmethode oorspronkelijk door **Sheather** (1923) voor wormeieren uitgewerkt, later ook (1923b) voor oocysten toegepast.

Dat hij bij zijne methode, door hem de „Sugar floatation technique" genoemd, ook oocysten kon verzamelen, ontdekte **Sh.** toevallig.

In de methode van **Vajda** (centrifuge) kon hem het afnemen van de oppervlakte van materiaal door middel van een glasstaaf niet bevredigen (onregelmatig).

Hij gebruikte daarvoor dekglaasjes, welke kleiner waren dan de opening van het centrifugebuisje. Deze kon hij door

middel van boetseerklei aan een houtje bevestigen en zoo langzaam op de oppervlakte van de glycerine-waterkolom laten zakken. Voorzichtig teruggehaald en op een voorwerpglas gelegd, was het dekglaasje vochtig genoeg en eventueel van genoegzaam materiaal voorzien om een goed microscopisch beeld te krijgen.

Hij zocht uit een economisch oogpunt alleen naar een vervanger voor de glycerine. Chloorcalciumopl. met S.G. 1.3 voldeed niet erg, omdat spoedig een dikke laag faecesbestanddeelen aan de oppervlakte kwam en daardoor het microscopisch onderzoek bemoeilijkte. Daarbij trachtte hij door methylalcohol de aan de oppervlakte komende blaasjes te bestrijden. Aangezien deze techniek omslachtig was en vooral bij veulensfaeces faalde, zocht **Sh.** dus naar een ander bestanddeel voor een opsporingsmedium. Hij koos suiker en voegde daarbij in het begin behalve water ook nog methylalcohol en centrifugeerde nog steeds. Toen hij geen enkele maal faecesdeeltjes en blaasjes aan de oppervlakte zag verschijnen bij het gebruik van suiker, liet hij de toevoeging van alcohol achterwege.

Sh. raadde aan geen verzadigde oplossing van suiker te gebruiken, omdat dan een klein gedeelte uitkristalliseerde en door de geheele oplossing te vinden was. Filtratie was natuurlijk lastig.

De beste verhouding van suiker op water vond **Sch.** te zijn 1lb. suiker op 1 pint water.

Deze verhouding gebruikte **Sh.** ook voor het opsporen van coccidiumoocysten (1923b). Hij vond ook dat niet centrifugeeren geen groote verschillen maakte in het rendement aan oocysten, doch hij onderzocht pas na 18 uren staan, terwijl **Waworuntu** in het toepassen van de suikermethode vooral de diagnostische waarde naar voren bracht en na een uur reeds van de oppervlakte van de suikeroplossing materiaal onderzocht. **Sh.** paste zijne methode ook toe voor de eieren van schurftmijten.

De techniek komt in 't kort voor oocysten hierop neer (methode **Sheather**).

1. De faeces sterk verdunnen met water.

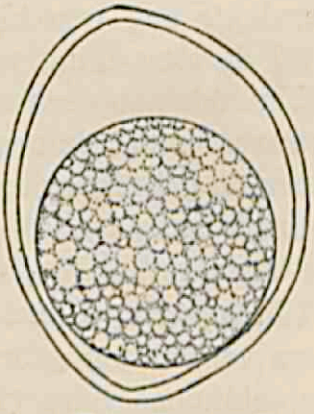
2. Dit mengsel filtreeren door een metalen zeef (met 30 gaatjes op een vierkante inch).
3. Hierbij een gelijk volume suikeroplossing doen (1 lb. suiker op 1 pint water).
4. Centrifugeeren (2000—2500 omwentelingen per minuut).

Waworuntu coupeerde het afwegen van de suiker en maakte gewoon een absoluut verzadigde oplossing (stroop), waarbij hij bij het gebruik gelijke deelen water voegde.

W. zag, dat de sporulatie der oocysten gewoon doorging in dit milieu en schrompeling niet optrad.

Dit kan ook ik bevestigen. Voor mijn onderzoek van de sporulatie van het rattencoccidium gebruikte ook ik een öse met oocysten, verzameld volgens de suikermethode, deed daar echter nog een zelfde öse water bij. De sporulatie werd niet hinderlijk geremd. Groot voordeel van de suikermethode is, dat het gezichtsveld absoluut helder is en vrij van faecesbestanddeelen.

Wel schijnt een *sterke* suikeroplossing de membraan van de oocysten iets elastischer te maken, gezien de veel voorkomende vervorming, zooals aangegeven in tekstfiguur C.



Tekstfiguur C.
Oocyste van het rattencoccidium, welk lang in geconc. suikeroplossing verbleven is. (Orig.)

Nieschulz (ongepubliceerd) zag, dat hij bij positief materiaal (duivenfaeces) voor snelle verkrijging van oocysten b.v. voor sporulatieonderzoek op de volgende manier kon werken.

Een buisje van 4—5 c.c. vulde hij met water-suikeroplossing aa. Hiervan nam hij ± 1/5 deel en mengde daarmede faeces. Het mengsel deed hij weer terug op het restant in 't buisje en schudde niet. De faecesbestanddeelen zakten dan naar beneden en de oocysten bleven boven. Dus feitelijk een omgekeerde toepassing van de suikermethode.

B. Aangezien de verschillende onderzoekers natuurlijk

ieder voor hun eigene methode opkomen, achtte ik het van belang de vier genoemde methoden, die we kunnen beschouwen als de op het oogenblik het meest in gebruik zijnde opsporingsmethoden voor coccidiumoocysten naast elkaar te vergelijken, aangezien dit, gezien 't ontbreken van eenige opgave in de litteratuur, schijnbaar nog niet gebeurd is.

De vergelijking der methoden geschiedde in 12 proeven en op de volgende technische manier:

a. *Keukenzoutmethode.*

De faeces werden met 60 gram verzadigde keukenzoutoplossing verwreven, door een draadzeefje gefiltreerd en het filtraat in een Erlmeyerkolfje gedaan en *na 1 uur*. materiaal van de oppervlakte onderzocht en daarna na *3 uur*.

b. *Waterglasmethode.*

De faeces werden met 40 gram water goed gemengd, gezeefd en het filtraat in een Erlmeyerkolfje gedaan en daarbij 20 c.c. waterglas gevoegd en alles goed geschud. Onderzoek na 1 uur en na 3 uur.

c. *Glycerinemethode.*

De faeces werden met een hoeveelheid water, gaande in een centrifugebuisje, gemengd, gezeefd en daarna ± 20 min. gecentrifugeerd (± 2000 omwentelingen).

Vervolgens de helft water afgegoten en door glycerine van S.G. 1.25 vervangen. Daarna de op den bodem van het buisje koekende bestanddeelen losgemaakt en alles goed geschud en vervolgens weer ± 20 minuten gecentrifugeerd. Onderzoek na 1 uur en na 3 uur.

d. *Suikermethode.*

De faeces werden met 30 c.c. water gemengd, als voren gezeefd en vermengd met een gelijke hoeveelheid verzadigde suikeroplossing, daarna het geheel in een Erlmeyerkolfje gedaan en onderzocht na 1 en na 3 uur.

Voor het zeeven werd genomen een gewoon draadzeefje met een doorsnede van 8 c.M. met gaatjes van ± 1 m.M².

De Erlmeyerkolfjes hadden een inhoud van 60 c.M³.

Voor elk onderzoek werden van de oppervlakte 4 ösen genomen en daarna 6 willekeurige gezichtsvelden met comp. oculair 12 en objectief apochromaat 8 m.M. bekeken.

De som van de oocysten in de 6 gezichtsvelden is het cijfer, dat in de tabel nr. I voorkomt.

Voor de twaalf proeven werden respectievelijk de 12 onderstaande faecesmonsters gebruikt met voor elke methode dezelfde hoeveelheid.

Monster 1: een gram faeces van tamme rat 292 (experimenteele infectie).

„ 2: „ „ „ „ wilde rat LX (zending uit Rotterdam).

„ 3: „ „ „ „ wilde ratten III en IV (zending uit Ilpendam)

„ 4: drie „ „ „ tamme rat 295 (exp. infectie).

„ 5: twee „ „ „ tamme konijnen uit de fokkerij van het Instituut, waarbij alleen gelet werd op de *Eimeria stiedae*.

„ 6: een „ „ „ de wilde ratten LI t/m LIV (zending uit Rotterdam en Maastricht).

„ 7: „ „ „ met caviacoccidium E. sp.

„ 8: twee „ „ van tamme konijnen uit de fokkerij van het Instituut, waarbij alleen gelet werd op *E. perforans*.

„ 9: een „ „ met duivencoccidium *(E. pfeifferi)*.

„ 10: „ „ „ „ *E. debliecki*.

„ 11: 3/4 „ „ „ *E. leporis* ongesporuleerd en geconserveerd in 5 % formaline vanaf 23 Februari 1921.

Monster 12: ½ gram faeces van *E. zürni*, geconserveerd gesporuleerd in 5 % formaline.

Het materiaal van de monsters 11 en 12 werd met opzet genomen van geconserveerde faeces om te onderzoeken of de formaline eenigen invloed uitoefent op de resultaten der opsporingsmethoden. Zooals uit de tabel te zien is, verhouden zich de geconserveerde oocysten ten opzichte van deze methoden als de oocysten uit versche faeces.

Dit is b.v. van groot belang voor de *tropen*, waar spoedige rotting en snelle uitdroging het aspect der coccidiumoocysten snel kunnen wijzigen.

TABEL I.

Monster	Keuken-zoutmeth.		Suikermeth.		Glycerine-methode		Waterglas-methode	
	na 1 uur	na 3 uur	na 1 uur	na 3 uur	na 1 uur	na 3 uur	na 1 uur	na 3 uur
I	13	9	6	5	5	13	1	0
II	45	41	38	55	32	36	7	11
III	62	56	45	46	70	80	17	18
IV	5	9	5	30	24	29	0	1
V	1	1	10	13	16	25	4	8
VI	1	2	0	1	5	6	0	0
VII	2	0	0	1	2	2	0	0
VIII	7	4	0	12	28	20	3	2
IX	1	5	7	9	13	6	0	0
X	0	1	2	1	2	8	0	0
XI	94	98	24	116	501	466	20	46
XII	8	13	2	5	15	15	2	4

Uit het bovenstaande is te zien, dat voor de diagnose „coccidiosis" in de praktijk de keukenzoutmethode het beste zal voldoen, omdat:

1. Ze goedkoop is.
2. Ze vrij nauwkeurig werkt.
3. Het maximum rendement aan drijvende oocysten practisch gesproken, reeds na 1 uur aanwezig is.

4. De techniek zeer eenvoudig is.

Verder blijkt, dat de suikermethode iets minder gevoelig is als de keukenzoutmethode, indien men spoedig het resultaat van de proef wenscht te weten. Na een paar uur overtreft zij deze echter.

Deze methode is van belang voor de tropen, waar suiker gemakkelijk en goedkoop (ook ongeraffineerd) te verkrijgen is en men in verband met werkzaamheden dikwijls tusschen instellen van de proef en de contrôle er van een of meer dagen moet open laten.

Gisting van de suiker gaat men tegen door toevoeging van een weinig 1 % boorzuur.

De glycerine centrifugemethode blijkt wel de *beste* en *betrouwbaarste* opsporingsmethode te zijn, welke tot nu toe bekend is voor coccidiumoocysten. Na 1 uur, dus ± direct na het eindigen van werkzaamheden (2 × 20 min. centrifugeeren), wees ze al belangrijk meer drijvende oocysten aan, dan de andere methoden, terwijl negatieve uitkomsten niet verkregen werden. Of deze methode uitgebreide toepassing zal krijgen in de praktijk staat echter te bezien wegens de groote bewerkelijkheid. Daarbij is glycerine nogal duur, natuurlijk vooral in geval van veel te onderzoeken monsters. Groot voordeel is echter ook dit, dat de oocysten steeds in een helder milieu worden aangetroffen.

Waar keukenzout en suiker steeds gemakkelijk te verkrijgen zijn, acht ik het onnoodig om de waterglasmethode toe te passen. Daarbij waren de uitkomsten zoowel *positieve* als *negatieve* van dien aard, dat ik deze methode voor het *opsporen* en verzamelen van de oocysten niet kan aanbevelen. Daarbij is waterglas niet overal te verkrijgen. Verder moet het glaswerk direct worden omgewasschen, aangezien waterglas daarop niet gemakkelijk te verwijderen sporen achterlaat.

De kosten aan materiaal van elke methode zijn respectievelijk voor één proef, als men kolfjes (Erlmeyer) van 60 c.c. inhoud gebruikt en centrifugebuisjes van 30 c.c., daarbij niet de kosten berekent van een eventueel te gebruiken electrische centrifuge, 0.3, 1, 2.6 en 9.13 cent.

HOOFDSTUK IV.

MORPHOLOGIE EN ONTWIKKELINGSCYCLUS.

A. *Sporogonie.*

1. Oocysten: Een der voornaamste kenmerken van het rattencoccidium is de vorm van de oocyste.

Evenals dit voor vele andere coccidiensoorten het geval is, kan ook hier reeds de cystevorm voor een groot deel tot de identificatie bijdragen.

De vorm is ovaal, echter naar beide polen toegespitst, terwijl dikwijls de indruk gewekt wordt, dat deze toespitsing naar de eene pool iets scherper is dan naar de andere.

Ter vergelijking heb ik in tekstfiguur D een schema gegeven van de omtrekken der oocysten van eenige bekende Eimeria-soorten en van het rattencoccidium.

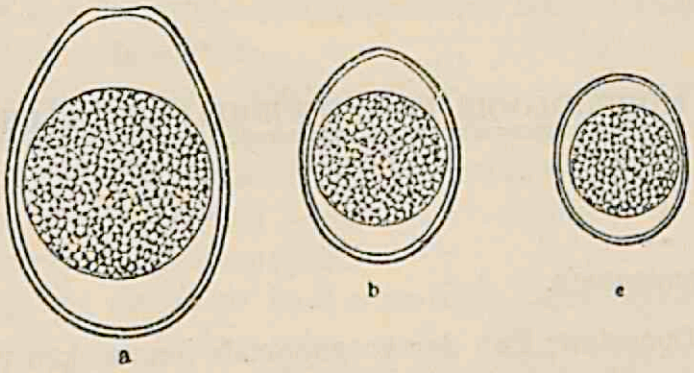
Achtereenvolgens stellen de teekeningen voor, de cysten van: 1. *Rattencoccidium*, 2. *E. falciformis*, 3. *E. debliecki*, 4. *E. leporis*, 5. *E. stiedae*, 6. *E. arloigni*, 7. *E. felina (naar* **Nieschulz**), 8. *E. perforans*, 9. *Caviacoccidium*, 10. *E. pfeifferi*, 11. *E. zürni*, 12. *E. tenella.*

Duidelijk treedt de karakteristieke eenigszins biconische vorm van het rattencoccidium naar voren.

Een *enkele* maal vinden we ook ronde vormen er tusschen. Aan de vergelijking der omtrekken valt direct het verschil op met de oocysten van *E. stiedae* en *E. falciformis*, zoodat daaruit te concludeeren valt, dat **Rudovsky** bij zijn onderzoek van het rattencoccidium de nu beschreven soort zeer zeker niet onder het microscoop heeft gehad.

Dit is waarschijlijk wel het geval met **Wasielewsky** (1924), wien ook den eigenaardigen vorm opviel. W. beeldde daarom de oocyste van het door hem bij witte

ratten te Rostock gevonden coccidium af, naast de oocysten van *E. stiedae* en *E. falciformis* (tekstfig. E). De



Tekstfiguur E.
Oocysten van a: E. stiedae. b: Rattencoccidium.
c: E. falciformis. (Uit Wasielewski 1924).

ronde vorm van het coccidium kan wel met de ronde exemplaren van *E. falciformis* verwarring geven, doch dan zijn de afmetingen er om voor de identificatie den doorslag te geven.

De in de faeces voorkomende oocysten, welke zooals we aannemen de bevruchte macrogameten zijn, hebben zich voorzien van een dubbelvoudige membraan.

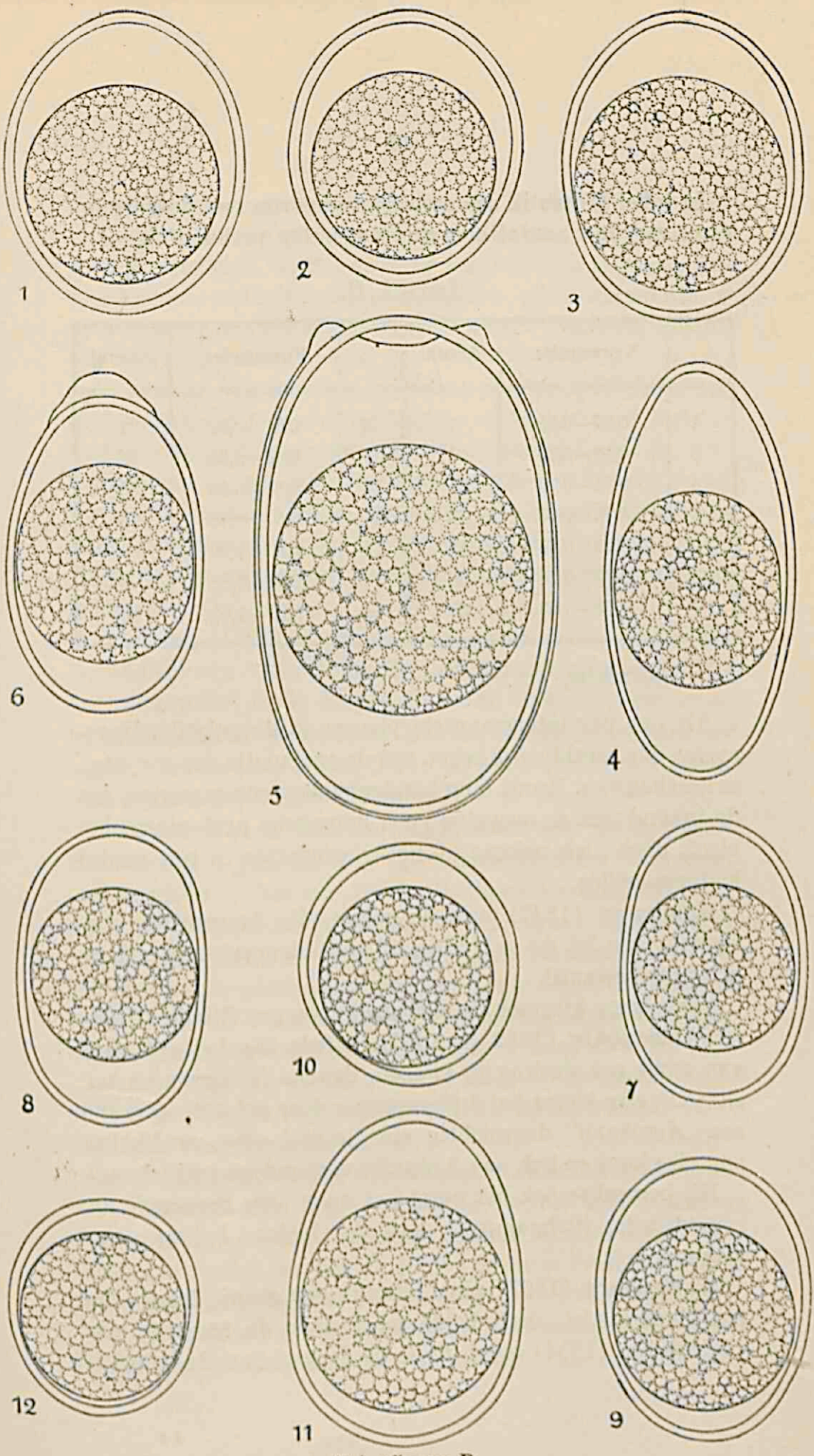
Ter vergelijking met andere oocysten en ook om te zien of onderling de maten sterk uiteen liepen, mat ik 275 oocysten van het rattencoccidium, deels door middel van den oculair micrometer, deels door berekening met behulp van het teekenapparaat van Zeiss.

Uit die metingen bleek, dat de grootste en kleinste lengten en breedten schommelden tusschen respectievelijk 26—18 μ en 20—14 μ.

Hadley (1911) voerde bij het aangeven van de maten van de oocysten de vormindex (shape index) in, welke verkregen wordt door de lengte op de breedte te deelen.

Uit de uitkomst hiervan krijgt men een overzicht van den vorm van het beschreven coccidium.

De berekening van den inhoud der gemeten oocysten volgens de formule $I = \frac{4}{3} \pi a^2 b$ liet ik achterwege.



Tekstfiguur D.
(Verklaring in de tekst). Orig.

In tabel II heb ik een overzicht gegeven van de vormindices met het aantal oocysten voor elke verhouding.

TABEL II.

	Vormindex	Aantal		Vormindex	Aantal
1	0,67—0,68	7	8	0,81—0,82	31
2	0,69—0,70	4	9	0,83—0,84	48
3	0,71—0,72	14	10	0,85—0,86	36
4	0,73—0,74	13	11	0,87—0,88	15
5	0,75 . 0,76	17	12	0,89—0,90	5
6	0,77 0,78	30	13	0,91—0,98	5
7	0,79—0,80	35	14	0,99—1,00	15

2. *Sporulatie.*

Als een der interessantste phasen in de ontwikkelingscyclus der coccidien is zeker wel de sporulatie der oocysten te beschouwen. Reeds lang hadden onderzoekers gezien, dat de inhoud van de oocysten geen homogene protoplasmabol bleef, doch zich oploste of liever verdeelde in een aantal kleinere bollen.

Kaufmann (1847) was de eerste, die daaromtrent berichtte, toen hij dit waarnam bij coccidiencysten door hem in water bewaard.

Vervolgens kwamen de mededeelingen van **Stieda** (1865) en **Waldenburg** (1862 en 1867). **Stieda** zag het optreden van eerst een deeling in tweeën, daarna in vieren en ten slotte in elke kleine bol differentiatie door het optreden van een „diaphaan" doorzichtig staafje met eene verdikking aan elke kant en het, aan 't staafje verbondene restlichaam.

Hij bemerkte ook het eerst het naar hem genoemde zg. „Stieda'sche lichaampje" op de kleine bolletjes en teekende het.

Waldenburg (1867) ging feitelijk een stapje terug, zag het staafje niet, doch helde meer naar de meening van **Lieberkühn** (1854) over, die in de doorschijnende bolletjes

(de verdikkingen van het staafje van **Stieda**) kernen zag.

Nadat eerst twee „kernen", aan elke pool één, gevormd waren, bemerkte W. dat er later nog twee bij kwamen. De vier kernen, welke W. zag en afbeeldde, zijn waarschijnlijk op te vatten als de reservestofruimten (voedselvacuolen) der sporozoieten.

Stieda en **Waldenburg** brachten hun coccidienhoudend materiaal ter conserveering resp. in chroomzuur en bichromaskalicusoplossingen en zagen tegelijkertijd, dat de veranderingen in het inwendige der oocysten kalm tot stand kwamen. Verder hielden zich nog vele andere schrijvers bezig met de sporulatie, doch konden veelal niet de juiste volgorde interpreteeren van de veranderingen, welke zij zagen.

Schuberg (1897) is wel als de eerste aan te merken, die behoudens een klein onderdeel, de veranderingen aan de protoplasmabol in de oocyste in goede volgorde wist waar te nemen en af te beelden. Daarbij helderde hij ook de ligging der twee sporozoieten in de cyste ten opzichte van elkaar en van het restlichaam op.

Vóór hem had **R. Pfeiffer** (1892) reeds zeer goede photogrammen o.a. van het z.g. „pyramidenstadium" gegeven.

Schaudinn (1900 en 1902) combineerde op grond van eigen onderzoek de bevindingen van zijne voorgangers, zoodat hij zich in zijne verhandelingen over *Eimeria schubergi* van *Lithobius forficatus* en over *Cyclospora caryolitica* van *Talpa* een vrij juist beeld kon vormen van hetgeen er bij de sporulatie gebeurde, te meer waar hij met kleurbare objecten te doen had, zoodat bij genoemde coccidien, ook de kernveranderingen bij de sporulatie voor hem niet verborgen bleven.

Het gelukte echter pas aan **Metzner** (1903) de sporulatie te bestudeeren aan een en dezelfde oocyste van *Eimeria stiedae* in een levend preparaat zonder zijn toevlucht behoeven te nemen tot gekleurde preparaten (wat hem ook niet gelukte) of coupes.

Na **Metzner** gingen verschillende onderzoekers op coccidienterrein de sporulatie na aan de door hen onderzochte

coccidien; echter geven deze onderzoekingen meestal den indruk, dat het „manchmal sehr mühsame Verfahren", hetwelk een „ziemliche Ausdauer" (**Metzner** l.c.) vereischte, hen wel eens te machtig werd.

Op welke wijze **M.** zijn materiaal uit leverknobbeltjes. galblaas of sterke positieve faeces onderzocht, is uitvoerig beschreven in het hoofdstuk „Techniek".

Latere onderzoekers hebben voorzoover het coccidien betrof met even ondoordringbare cystemembraan als *E. stiedae,* niets essentieels aan zijne bevindingen kunnen toevoegen.

Bij mijne mededeelingen over de sporulatie van het rattencoccidium heb ik mij zooveel mogelijk slechts gehouden aan het beginsel, mede te deelen datgene, wat ik zag, zonder hieruit gevolgtrekkingen te willen maken om te komen tot de conclusies, door sommige onderzoekers wel vermoed, doch niet bewezen.

Ook mij gelukte het niet, oocysten in verschillende sporulatiestadia te kleuren, ondanks de *vele* pogingen, welke ik daartoe aanwendde.

Evenals **Metzner** vervolgde ik de sporulatie aan *een* oocyste. De techniek van het onderzoek acht ik reeds voldoende in het desbetreffende Hoofdstuk beschreven.

Het gezichtsveld, dat ik gedurende de sporulatie voor mij had, is voor een gedeelte afgebeeld op plaat I fig. 2, waaruit duidelijk te zien is, dat het overgroote gedeelte der oocysten normaal is gesporuleerd.

De methode door mij aangegeven ter bestudeering van de sporulatie, laat zeer goed het maken van photographische opnamen toe.

Dat dit niet door mij geschied is, werd veroorzaakt door omstandigheden, welke hier veilig buiten beschouwing kunnen blijven. De voornaamste stadia zijn daarom door mij vastgelegd in de teekeningen op plaat I en II fig. 3 tot en met 29.

De oocysten van het rattencoccidium in absoluut versche faeces, zijn opgevuld met een protoplasmaklomp, waarvan de structuur niet precies is aan te geven, doch aan welks

oppervlakte wel een korrelig aspect hier en daar te voorschijn komt. (Plaat I fig. 2a en 3).

De binnenwand van de dubbelwandige membraan is dikker dan de buitenwand. De membraan bestaat uit een materiaal, dat donkerder (geel) getint is, dan het medium, waarin de sporont in de oocyste zweeft.

In gunstige gevallen zien we gelijktijdig om deze membraan nog een omhulsel, wellicht van een taaie slijmachtige consistentie. Aan de binnenzijde van de membraan is veelal nog een zône te zien, welke zich licht afteekent, zoowel tegen de membraan als tegen de bestanddeelen binnen in de oocyste.

In 't geheel zijn er dus feitelijk bij gunstigen optischen stand van het microscoop vier wanden te zien.

Doet men oocystenhoudend materiaal zonder te veel vuil, te zamen met Oost-Indische inkt op een voorwerpglas onder het microscoop, dan komen deze vier wanden meestal duidelijk uit.

Een *micropyle* of een positieve aanwijzing voor het bestaan ervan kon geen enkele maal worden opgemerkt.

Wel zien we bij pas geëncysteerde macrogameten in den darm, dat een der polen schijnbaar doorboord is en afgesloten wordt door een prop, welke bij de Delafield-kleuring de kernkleur aanneemt.

Het is goed mogelijk, dat dit chemotactisch aangetrokken microgameten zijn, welke niet zijn toegelaten en daar ter plaatsen zijn afgestorven (Plaat III, fig. 77).

Iets dergelijks beeldt ook **Schaudin** af bij zijne verhandeling over *E. schubergi* (1900) en **Reich** (1913) bij *E. Stiedae.*

Dat er wel een plaats is, welke onder invloed van de darmsappen als een praedilectie-plaats optreedt, zal aangenomen dienen te worden, aangezien volgens eigen waarneming de sporozoieten steeds aan een poolzijde de oocyste verlaten.

Reeds zeer spoedig (tusschen de 5 minuten tot een ½ uur) begint de protoplasmaklomp, waarmede de versche oocyste is opgevuld, zich te contraheeren, niet in alle rich-

tingen en gelijktijdig, doch onregelmatig, alsof sommige gedeelten zich niet van de oocyste membraan kunnen los maken.

Dit zag ook **Waworuntu** o.a. bij *E. perforans*. Na 1 uur is het protoplasma tot een absolute bol geworden met een middellijn van gemiddeld 13 μ.

Deze bol drijft schijnbaar juist in evenwicht in het midden van de oocyste. Bij zeer nauwkeurig toezien kan wel eens een licht trillen van deze bol, de z.g. sporont, in de oocyste worden waargenomen, m.i. een bewijs, dat bij het rattencoccidium het doorschijnende medium, waarin zich de bol bevindt, niet van zoo dik vloeibare consistentie is als **Metzner** aangeeft bij *E. stiedae*. Wel erkent **M.** dat bij *E. stiedae* dit medium langzamerhand meer dun vloeibaar wordt.

Een spleet of dunne draad kort na het samenballen, verloopende van een der polen naar de sporont, zooals verschillende onderzoekers zooals **Metzner, Reichenow** (1912) en **Waworuntu** bij het konijnencoccidium zagen, is door mij niet waargenomen.

Steeds kan men bij gebruikmaking van de micrometerschrof een homogene lichte plek met een middellijn van 3—4 μ in den sporont opmerken. Deze plek is als de optische doorsnêe van de kern te beschouwen.

In photogram 2a en in teekening 4 op plaat I is deze plek duidelijk aangegeven.

Na verloop van 24—30 uur zien we deze plek zich oplossen in een heldere streep, welke dwars door den sporont loopt en aan beide zijden de oppervlakte bereikt (Plaat I, photogram 2b en fig. 5).

Bij *E. stiedae* zag **Metzner** deze streep optreden na 20 uur, **Reich** na 15 uur. Deze laatste onderzoeker zag echter twee loodrecht op elkaar staande helle strepen door het protoplasma verloopen, hetgeen ik bij het rattencoccidium geen enkele maal zag optreden. Na verloop van ongeveer een uur is de heldere streep verdwenen en is verder met geen mogelijkheid een kern terug te vinden.

Zeer spoedig treden ter plaatse waar de helle streep de oppervlakte van de sporont heeft geraakt, lichtere plekken in het protoplasma op (fig. 6 plaat II), waarna *soms* te zien is, dat een klein lichaampje de sporont verlaat (Plaat II, fig. 7 en 8) om langzaam, evenals de lichtere plekken weder doen, te verdwijnen. Het ontsnapt aan verdere waarneming.

Nieschulz[1] zag dit „uitstooten" van een korrel *constant* bij het sporuleeren van *Eimeria pfeifferi* optreden.

Het optreden van de helle streep verloopt bij dit coccidium iets anders. Ter plaatse n.l. waar de streep de oppervlakte van de sporont raakt, gaat deze medegeven en ontstaan aan elke zijde uitstulpingen van 't protoplasma, die reiken tot aan de oocystemembraan en bij het teruggaan de bewuste korrel achterlaten.

Reichenow (1921) vond bij zijn onderzoekingen aan *Karyolysus*, dat na de bevruchting een reductiedeeling optreedt. Wegens de kleurbaarheid van dit coccidium in het oocystestadium kon hij de reductiedeeling na de bevruchting vervolgen en een spoel zien optreden, waarna hij het aantal chromosomen over de helft verminderd terug vond.

Het is niet onmogelijk, dat het beschreven stadium, waarin de lichte streep door de sporont op den voorgrond treedt, overeenkomt met deze bij *Karyolysus* opgemerkte reductiedeeling.

Ongeveer drie uur na dit stadium en nadat de heldere streep was verdwenen, begon de sporont onregelmatig van vorm te worden (Plaat II, fig. 9). Ik zag op vier plaatsen een heldere lichtbrekende korrel optreden, welke met z'n vieren ongeveer de punten van een rechthoek vormden.

Na ± 20 minuten werd de sporont meer rechthoekig, waarna de lichtbrekende korrels weder verdwenen (Plaat II, fig. 11) en aan de sporont vier insnoeringen konden worden opgemerkt, het begin van het z.g. *„Buckelstadium"*, door **R. Pfeiffer** voor het eerst afgebeeld.

Dit *„Buckelstadium"* ook wel *„insnoeringsstadium"* te

---

[1]) In druk.

noemen, duurde van het begin tot het eind ongeveer 2—3 uur (fig. 12).

Wel echter zag ik onderwijl het protoplasma zich iets van de toppen der insnoeringen terugtrekken, waardoor een eenigszins heldere kap gevormd werd op elk der insnoeringen (fig. 13).

Langzamerhand, nadat het insnoeringsstadium ongeveer 3 uur bestaan had, trad de aanwijzing op, dat de sporont in vier dochterbollen zou uiteenvallen. **Metzner** zag dit bij *E. stiedae* door het vormen van lichte strepen in 't protoplasma. Ik zag het door de noodzakelijke rangschikking van de granula in de sporont. Nadat de heldere kappen verdwenen waren, zag ik, dat circa 5 uur *na* het begin van het insnoeringsstadium de dochterbollen zich gevormd hadden.

Reich spreekt merkwaardiger wijze niet van deze dochterbollen. Hij is van meening, dat bij *E. stiedae* de sporont na het volledige pyramidenstadium pas uiteenvalt in vier dochterbollen onder vorming van een restlichaam. Dit uiteenvallen geschiedde echter vóór het pyramidestadium, zooals ook **Metzner** voor *E. stiedae* heeft afgebeeld. **R. Pfeiffer** deed het ook in z'n photogrammen zien, doch liet het niet uitkomen in de tekst.

Evenals **Reich** interpreteerde **Waworuntu** 't tijdstip van het uiteenvallen van den sporont verkeerd.

Door de vorming van de pyramiden kunnen n.l. de dochterbollen zoo in elkander komen te liggen door plaatsgebrek, dat men vaak goed moet toezien om de zeker bestaande scheiding der bollen te kunnen opmerken. Dit werd ook reeds door **Metzner** (Blz. 28) opgemerkt, verder door **Nieschulz** [1]) bij het duivencoccidium gezien en door mij bij het rattencoccidium.

Kort na 't oogenblik (± ½ uur), nadat de dochterbollen zich gevormd hadden (fig. 14), werd in elke bol een groote heldere protoplasmakorrel zichtbaar (fig. 15).

---

[1]) Mondelinge mededeeling.

Wat de beteekenis van dezen korrel is, kan ik niet mededeelen.

Metzner, die deze korrels bij *E. stiedae* ook zag en afbeeldde, weet het wezen ervan ook niet recht te verklaren.

Wel kon ik constateeren, dat deze heldere korrels na een poosje de toppen vormden van een stompe doorzichtige pyramide (fig. 16).

Metzner zag dit stadium niet bij *E. stiedae*, beeldde het althans niet af.

Bij **R. Pfeiffer** komt het wel in de photogrammen voor en wel op Plaat II figuur IV, onderste oocyste.

Dit stadium geleek bedriegelijk veel op het „echte" pyramidenstadium. Na een 10 minuten vertoonden deze stompe pyramiden neiging zich weer iets af te ronden (fig. 17). Dit duurde ongeveer een ½ uur, waarna het echte pyramidenstadium zich vormde (fig. 18 en 19). Aan den top van de pyramide kwam een heldere korrel met lichtbrekende rand te voorschijn.

De pyramide zelf was helder met aan de basis een fijne granuleering, overgaande in de grovere protoplasmakorreling van den bol.

In de heldere pyramide kwamen tegen den wand aan een paar heldere kleinere korreltjes voor, die ik nooit *constant* kon waarnemen.

Een fijne arceering (*zarte Halbspindel* van **Metzner**) zag ik wel eens loopende van den topkorrel naar de basis van de pyramide. Zoo duidelijk als **Metzner** deze teekent, zag ik geen enkele keer bij het rattencoccidium.

Ook nam ik wel eens halverwege de heldere pyramide met de concave rand naar den topkorrel toegekeerd, een donkere zône waar, zoodat uiterlijk zeer zeker een enkele maal het beeld van een *„Halbspindel"* optrad.

Het pyramidenstadium bleef ongeveer een half uur aanhouden, waarna de heldere pyramiden onduidelijk werden. Een ombuigen van de pyramidentoppen beschreven door **Metzner** en **Reich** bij *E. stiedae* heb ik nooit kunnen waarnemen bij het rattencoccidium.

Deze beide onderzoekers zagen bij het teruggaan der

pyramiden het uitstooten van den topkorrel, door **Schuberg** het „lichaampje van **Schneider**" genoemd.

Deze opmerking aan *E. stiedae* door hen gemaakt kon **Waworuntu** niet bevestigen.

Iets dergelijks zag ik slechts eenmaal (fig. 20), doch durf ik niet absoluut verklaren, dat de achtergebleven korrel het „lichaampje van **Schneider**" voorstelt.

Ook slechts éénmaal, maar toch *zeer duidelijk* zag ik een verbindingsdraad loopen van den top van de terugtrekkende pyramide naar een klein donker korreltje in het heldere medium (fig. 21).

De afbeelding door mij gegeven, gelijkt wel veel op die van **Metzner**, welke echter als regel het uitstooten van het „lichaampje van **Schneider**" bij *E. stiedae* aangeeft bij het inkrimpen *(Rückbildungsstadium)* der pyramiden, daarbij het eenigen tijd verbonden blijven van het lichaampje met de terugtrekkende pyramide als zeer vaak voorkomend beeld bekend maakt. **Lerche** (1921) kon hiervan bij het schapencoccidium niets zien.

Omtrent het wezen van het lichaampje tast men in 't duister.

Schuberg identificeerde het bij het muizencoccidium met het „lichaampje van **Stieda**", dat later aan de sporocyste optreedt.

Deze opvatting is voor hen, welke het uitstooten van het „lichaampje van **Schneider**" niet zagen, nog niet zoo ongerijmd.

Echter is in 't verloop van de sporulatie van een overgang der beide lichaampjes in elkaar niets te constateeren.

De opvattingen van verschillende onderzoekers over beide lichaampjes zal ik kortheidshalve hier niet weergeven.

Fiebiger (1913) zag bij *E. gadi*, noch pyramiden, noch een „lichaampje van **Schneider**".

Na het verdwijnen der pyramiden kwamen de dochterbollen duidelijk afgerond en opgebouwd uit kleine, goed gemarkeerde granula, weder goed uit (fig. 22).

De bollen vertoonden langzamerhand de nieging om

ovaal te worden. Van bolvorm tot uitgesproken ovaal-zijn duurde ongeveer 3 uur (fig. 23).

In de ronde bollen zag ik *nooit* een aanwijzing voor een kern. Eerst in de ovale bollen of sporoblasten, waarin de protoplasmagranula veel grover waren geworden, zag ik het optreden van helderder en grooter granula (fig. 24) waarvan de bedoeling niet juist kan aangegeven worden.

De eene onderzoeker houdt ze voor kernen, de andere weer voor de reservestofruimte (voedselvacuole) der later te vormen sporozoieten.

De ovale sporoblasten kregen na verloop van 7—8 uur meer de sporocyste-vorm (amandelvormig. fig. 25).

Een membraan was nog niet tot stand gekomen. Wel zag ik daartoe een begin maken, door de verdichting van de granula aan de oppervlakte der sporoblasten.

Het „lichaampje van **Stiedae**" was nu ook te zien en bevond zich aan de meer spitse pool van de sporoblast.

Dit lichaampje vertoonde zich in den vorm van een dekseltje.

Het protoplasma in de sporoblasten werd hoe langer hoe grover, zoodat het aantal korrels in 't gezichtsveld zeer gemakkelijk te tellen was.

Vier en twintig uur na het ovaal worden der sporoblasten traden de eerste verschijnselen van een scheiding in tweeën op in de sporoblasten, die door membraanvorming langzamerhand sporocysten waren geworden.

Deze scheiding kon ik opmerken aan een donkere streep, verloopend in het midden van de sporocyste in lengterichting (fig. 26).

Verder was het, alsof de granula iets minder grof werden, terwijl het te vormen restlichaam zich reeds begon af te teekenen.

Circa 2½ uur na de eerste deelingssymptomen in de sporoblast kwamen de voorste vacuolen der sporozoieten duidelijk voor den dag, terwijl door het restlichaam heen ook de achterste groote zich eenigszins afteekenden (fig. 27 en 28).

Het was weder ruim twee uur hierna, dat de sporozoieten

voor zoover dat doenlijk is bij het rattencoccidium, in hun geheel duidelijk te onderkennen waren (fig. 29).

Deze door mij beschreven sporulatie verliep in ongeveer 3½ dag.

Aan de andere mede-sporuleerende oocysten in het gezichtsveld zag ik, dat door andere *liggingsverhoudingen* een of meerdere stadia als het ware uitvallen, doordat ze niet kunnen *geobserveerd* worden, doch kon ik over 't algemeen wel dezelfde volgorde en veranderingen bij hunne sporulatie bemerken.

In ieder geval kwam het einde voor de meeste oocysten gelijktijdig met den afloop der sporulatie van het door mij geobserveerde exemplaar.

Zeer zeker komt bij de rijpe oocysten een restlichaampje voor, gevormd bij de deeling van de sporont in sporoblasten. Het is echter dikwijls niet te zien, zeer waarschijnlijk wegens zijn kleine afmetingen, waardoor het gemakkelijk tusschen de sporocysten verborgen kan liggen.

Trouwens bij mijn onderzoek van de sporulatie aan een en dezelfde cyste zag ik het restlichaampje facultatief.

Bij rijpe oocysten van het rattencoccidium komen meestal slechts drie sporozoieten in 't gezichtsveld. Pas bij gebruikmaking van de micrometerschroef komt een vierde te voorschijn.

Indien drie sporocysten in 't gezichtsveld liggen, dan is meestal maar van eene de optische doorsnede paralel aan de lengteas, te zien.

Direct valt het groote restlichaam op van de sporocyste.

Dit sterk gekorrelde complex beneemt meestal het juiste inzicht in de ligging der sporozoieten in de cyste.

Het restlichaam is waarschijnlijk mede oorzaak, dat het als 't ware voorkomt, alsof de reservestofruimten (vacuolen) der sporozoieten buiten de cystemembraan een weinig uitpuilen (Plaat III, fig. 30). Hiertoe werkt trouwens ook de grootte der sporozoieten mede.

De sporocysten hebben eenigszins een amandelvorm. Aan het meer puntige einde zien we het z.g. „lichaampje van **Stieda**", dat als een aanwijzing, dat daar een micro-

pyle aanwezig is, is op te vatten. Dit lichaampje met een eenigszins horlogeglasvorm, is vrij groot.

De membraan van de sporocyste is enkel-gecontoureerd. In tegenstelling met vele andere coccidiensoorten, kunnen we wegens het groote restlichaam nooit de kern van de sporozoiet opmerken, terwijl deze nog in de sporocyste besloten ligt.

Willen we de sporocysten alle vier gelijktijdig in de oocyste zien liggen, dan kunnen we daartoe een poging aanwenden door de oocysten *langeren* tijd in *geconcentreerde* suikeroplossing of in een mengsel glycerine-water gelijke deelen te laten.

Het is dan alsof de oocystemembraan iets soepeler wordt en het naast elkander liggen der sporocysten toelaat.

Eveneens zijn dan in elk der vier aanwezige sporocysten een tweetal sporozoieten op te merken, zoodat het rattencoccidium behoort tot het geslacht *Eimeria*.

We zien soms in een oocyste de sporulatie gebrekkig verloopen in dier voege, dat er minder sporoblasten ontstaan, benevens exemplaren van zeer ongelijke grootte.

In 't gezichtsveld, afgebeeld in microphotogram 2, plaat I, komt ongeveer in 't midden een oocyste voor, waarin zich slechts een, doch dan ook reusachtige sporocyste gevormd heeft met twee duidelijke sporozoieten.

Wat met dergelijke onregelmatig gevormde oocysten gebeurt, is natuurlijk niet gemakkelijk na te gaan.

Meestal sporuleeren oocysten van het rattencoccidium binnen 4 dagen.

Ik meende eenige malen te mogen opmerken, dat soms versche oocysten werden uitgescheiden met op coccen gelijkende korreltjes geïnfecteerd.

Streek men zulke faeces uit op de bekende manier, dan kwam van de sporulatie niets terecht.

Er werd zeer goed toegezien, dat hier geen gezichtsbedrog in 't spel was, of dat wellicht deeltjes van de protoplasmamassa binnen de cyste zich wegens een degeneratief proces in kleine, evengroote, op coccen gelijkende deeltjes had verdeeld.

Het aspect van zoodanige cysten, dat spoedig het grootste gedeelte der oocysten uit dezelfde faeces bood, was zeer karakteristiek.

Na een of twee dagen kwam een microscopisch beeld voor den dag, alsof de bacteriën zich ten koste van het protoplasma hadden gevoed en niets anders dan eenige groote korrels of bolletjes hadden achtergelaten.

De infectie der oocysten geschiedt waarschijnlijk reeds in den darm van den gastheer voor het stadium van de encysteering van de bevruchte macrogameet.

In deze opvatting sta ik niet alleen.

Ook **Nieschulz** merkte deze infectie bij het rattencoccidium op voor ± 3 jaar.

Léger en **Hesse** (1922) hebben schijnbaar ook met een dergelijke infectie te maken gehad, want in hunne beschrijving van *Jarrina pallodosa* zeggen zij:

„La maturation de ces oocystes est longue et difficile à obtenir car beaucoup d'entre eux sont la proie des bactéries qui trouvent sans doute au niveau du goulot, une zone de moindre resistance facilitant leur pénétration".

Mijn ondervinding geeft echter steun aan de meening, dat de besmetting als macrogameet geschiedt.

Ik had n.l. een rat, welke ik als zoodanig als virusdrager beschouwde. Het dier leverde mij twee maal achtereen, bij twee verschillende infecties hetzelfde zieke oocystenmateriaal, terwijl andere ratten, gelijktijdig met hetzelfde materiaal gevoerd, gezonde oocysten uitscheiden. Deze rat is ongelukkigerwijze gestorven, zoodat voorloopig geen onderzoekingen in deze richting konden geschieden.

2. *Sporozoieten.*

Nadat de rijpe oocysten van het rattencoccidium door een nieuwen gastheer zijn opgenomen, komen al spoedig de werkelijk infecteerende ontwikkelingsvormen, de sporozoieten, vrij in het darmlumen.

Hoe men het beste kan handelen om dit vrijkomen te bestudeeren, is uitvoerig aangegeven in Hoofdstuk II.

Onder invloed van het darmsap, waarin het pancreasvocht, verlaten de sporozoieten hunne omhulsels.

Welke de voorwaarden voor dit vrijkomen zijn, werd reeds door meerdere onderzoekers nagegaan. **Schaudinn** (1900) neemt eenvoudig aan, dat door inwerking van het darmsap bij *E. schubergi* zich een opening vormt in de oocystemembraan en de sporozoieten uit de sporocysten vrijkomen, doordat het restlichaam gaat zwellen en de cystemembraan doet barsten, hetgeen dikwijls met een ruk geschiedt (speciaal geval).

In aansluiting met hetgeen **Schneider** en **Léger** voor de *Gregarinen* hadden nagegaan n.l. dat deze vrij werden onder inwerking van het maagsap, trachtte **Rieck** (1889) in vitro het vrij worden der sporozoieten te bestudeeren. Daarvoor deed hij in een buisje rijpe oocysten samen met maagslijmvlies-extract van een hond en het geheel in een broedstoof bij 35°.

Feitelijk zag **Rieck** niet het vrij worden der sporozoieten, doch het vervallen der oocystemembraan en eindelijk van de sporozoiet zelf.

Hij meende eenige beweging te hebben gezien in de sporozoiet, doordat de beide „knopfförmigen Ende des Kiemstabes" zich langzaam naar de concave zijde van het middenstuk bewogen en dan weer terug gingen.

Alhoewel dit eenigszins op de beweging gelijkt van de sporozoiet, zegt **R. Pfeiffer** (1892) terecht van **Rieck's** proeven:

„Ich halte seine Beobachtungen aber nicht für einwandsfrei, schon aus den Grunde weil er die Existenz von zwei Sicheln in jeder Spore offenbar nicht erkannt hat".

Ook ik trachtte door middel van maagsap de oocyste tot vrijlaten der sporozoieten te brengen, echter zonder resultaat.

Trouwens **Metzner** zegt, dat ook andere media dan maagsap de oocystemembraan bij 36° tot schrompeling en ten slotte tot opening kan dwingen na verloop van tijd.

De proeven van **Metzner** toonden echter aan, dat alleen het duodenaalsap de sporozoieten binnen normale tijd-

grens kan vrijlaten. Daarbij legde hij ook terecht den nadruk er op, dat de lichaamstemperatuur van den gastheer mede van invloed is op de opening van micropyle en membranen.

Of maagsap toch van eenigen invloed moet geacht wor,-den, acht ik echter nog in geenen deele uitgemaakt.

Zooals onder Hoofdstuk „Techniek" reeds is medegedeeld, bracht ik, nadat een rat met oocysten van het rattencoccidium was gevoerd, na ½—¾ uur darminhoud van het gedoode dier ter hoogte van ± 15 c.M. achter de pylorus onder het microscoop in de verwarmde microscopiseerkast (± 37°).

Een plekje werd opgezocht, waar een rijpe oocyste zich bevond en afgewacht tot er iets zou gebeuren.

In gunstige gevallen zag ik dan spoedig beweging in de oocyste. De beweging van de vrij gekomen sporozoieten kon worden opgemerkt. Wegens de ligging van de sporocysten in de oocysten, welke reeds aan den invloed van pancreasvocht waren blootgesteld, waardoor ze als 't ware in één gezichtsniveau komend, de geheele oocyste opvullen, kon niet worden opgemerkt of de sporozoieten vrijkwamen door een gepraeformeerde opening, welke door het z.g. „lichaampje van **Stiedae**" afgesloten wordt.

Waarschijnlijk is de plek waar dit lichaampje op de sporocystemembraan zich bevindt, een plaats van mindere weerstand, waardoor het mogelijk is, dat de sporocyste daar scheurt en de sporozoieten vrij laat.

Ik zag dan op een gegeven oogenblik de sporozoieten vrij door de oocysten kruipen, langs elkaar en tusschen elkaar en de resten der sporocystemembraan door.

Bij het rattencoccidium lijkt in dit stadium de geheele oocyste opgevuld, zoodat een nauwkeurig nagaan op welke manier de sporozoiet zich opmaakt om de oocyste te verlaten, door mij niet kon geschieden.

Wel zag ik een oogenblik dat een gedeelte van de sporozoiet buiten de oocyste stak en dat dan plotseling met een ruk de geheele sporozoiet naar buiten schoot.

De plek, waar de sporozoieten vrij kwamen, bevond zich

steeds aan een der polen van de oocyste, zoodat men wel kan aannemen, dat een micropyle in de oocyste van het rattencoccidium aanwezig is.

Metzner zag eveneens bij *E. stiedae*, dat eerst de sporozoieten buiten de sporocysten kwamen en daarna uit de oocyste.

Hadley integendeel meent, dat bij *E. stiedae* en *E. avium* de „sporoblasten" eerst de oocyste verlaten.

Uit zijn geheele beschrijving is echter op te merken, dat **H.** het vrijkomen der sporozoieten zeer weinig heeft gezien.

Daarbij komt hij nog tot de opmerking dat:

> „Whether or not, under natural conditions the wall of the cyst or the wall of the sporoblast is ruptured first, it is impossible to state definitely, but it is probable that both phenomena occur at about the same time; where upon the sporozoites are thrown loose into the cecal or intestinal content."

Reich beschrijft bij *E. stiedae* zoowel de manier van het vrij komen der sporozoieten volgens **Metzner** als volgens **Hadley.**

De verschillende keeren, dat het vrijkomen der sporozoieten door mij kon worden nagegaan, zag ik dus dat zij eerst de sporocysten verlieten.

Behalve **Metzner** gaf dan ook **Wasielewski** (1904) dit aan bij het konijnencoccidium evenals **Waworuntu** (1924), die echter niet mededeelt bij welke der door hem beschreven *Eimeria*-soorten van het konijn hij de vrijkoming der sporozoieten heeft nagegaan.

Veel tijd om behalve met darmsap van ratten, te trachten met pancreaspreparaten de sporozoieten vrij onder het microscoop te krijgen, had ik niet, zoodat ik dit slechts tot enkele proeven heb beperkt.

Ditzelfde geldt ook voor het nagaan der beweging van de sporozoieten.

Trouwens is door verschillende onderzoekers aan deze beweging speciale aandacht gewijd en is zij in verband gebracht met de door **Schewiakoff** (1894) bij *Gregarinen*

bestudeerde factoren, welke mogelijk maken, dat deze protozoen zich kunnen verplaatsen.

In 't kort komt deze beweging hierop neer:

> „Was nun den eigentlichen Bewegungsvorgang anbetrifft, so haben wir uns denselben so zu denken, dass die Gregarine hyaline Gallert resp. Schleimfäden von klebiger Beschaffenheit ausscheidet, welche bald erstarren; diese Fäden haften an der Fläche, auf welcher die Gregarine sich befindet.
>
> Der auf diese Weise gebildete Stiel wird durch fortwähren de Ausscheidung von neuen Gallertmassen immer länger und da er an die Untenlage fixirt ist, muss nothwendigerweise eine Vorwartsbewegung der Gregarine erfolgen."

Dus **Schewiakoff** neemt geen actieve beweging der *Gregarinen* aan. Behalve de actieve beweging, welke **Schaudinn** heeft opgemerkt, bij de sporozoieten van *Eimeria Schubergi*, zag hij ook de slijmuitscheiding beschreven door **Schewiakoff**

Deze uitscheiding heb ik in de enkele gevallen, dat door mij de beweging der sporozoieten van het rattencoccidium werd nagegaan,niet kunnen opmerken, noch in ongekleurde preparaten, noch in preparaten, welke met een weinig eosine of Oost-Indische inkt getingeerd waren.

Zeer zeker zou een speciale studie van de beweging der sporozoieten een interressant succes kunnen opleveren, aangezien er wellicht eenvoudiger verhoudingen kunnen optreden dan bij de *Gregarinen* (**Sokolow** 1912, **Prell** 1921).

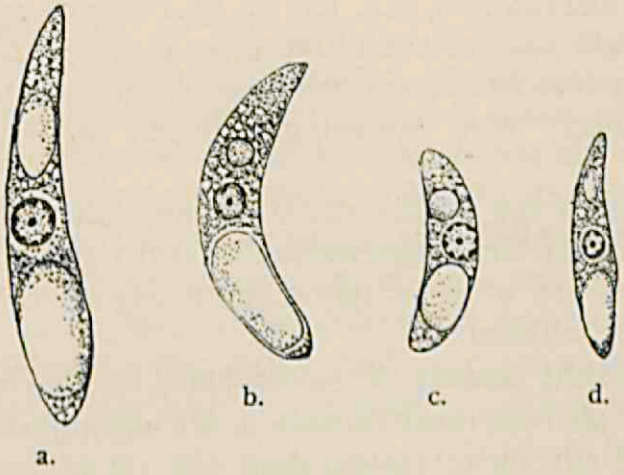
De krommingen en contracties, welke men aan de levende sporozoiet gemakkelijk kan waarnemen, acht ik de voornaamste factoren, welke de voortbeweging tot stand brengen.

Deze krommingen en contracties zijn ook reeds door **Eimer** beschreven bij *E. falciformis*.

Het zich met een ruk strekken, nadat de sporozoiet zich gebogen heeft met de beide uiteinden naar de veelal bestaande concave kant toe, zooals **Schaudinn** bij *E. schübergi* beschreef, heb ik ook bij het rattencoccidium kunnen waarnemen.

De vorm der vrije sporozoieten is meestal licht gekromd (zwak sikkelvormig).

Men kan echter ook dikwijls de sporozoieten in gestrekte houding zien. Het vooreinde van de sporozoiet is spits toeloopend, terwijl het achtereinde afgerond is (tekstfiguur F).



Tekstfiguur F.
Sporozoieten van a: E. stiedae; b : Rattencoccidium;
c: E pfeifferi; d: E. perforans.
a en d naar Waworuntu; c orig van Nieschulz; b orig.
Vergrooting 2500.

Van de merozoieten zijn ze direct door hun plompeven bouw te onderscheiden.

Daarbij vallen in het levend-preparaat de groote en kleine reservestofholten (vacuolen) op. Deze zijn scherp omgrensd.

De groote achterste vacuole vult ongeveer de helft van het sporozoietenlichaam op.

De voorste vacuole is belangrijk kleiner en rond van vorm.

Men huldigt algemeen de opvatting, dat de inhoud dezer vacuolen dienst doet als voorraadschuur van reservestoffen voor de sporozoiet, welke daardoor langen tijd in conditie kan blijven, indien de mogelijkheid een nieuwen gastheer te vinden, zich niet direct voordoet.

Eigenaardig is het, dat bij oocysten, die reeds eenigen tijd in rijpen toestand hebben verkeerd, de vacuolen der

sporozoieten microscopisch geen verschillen doen zien met die uit versch gesporuleerde, terwijl de vacuolen van vrije sporozoieten, welke men na eenige uren tot een dag in den darminhoud en ingesloten in een epitheelcel aantreft, wel vervorming (verbruik?) aantoonen.

Reden hiervan kan zijn, dat bij de rustende sporozoiet het verbruik aan reservestoffen uiterst miniem is, terwijl de vrije sporozoiet een enorme hoeveelheid energie te verbruiken heeft voor beweging en begin der schizontenvorming.

Nieschulz [1]) zag bij zijn studie aan het duivencoccidium, dat de vacuolen zich langzamerhand verkleinden, naarmate de ingedrongen of vrije sporozoiet voortgaat zich om te vormen tot schizont.

Dus wellicht bestaat de mogelijkheid, dat de vacuolen niet direct als reservestofruimten in den eigenlijken zin van het woord zijn op te vatten, doch wel als stapelplaatsen voor de noodzakelijke bouwstoffen van de eerste schizont.

Mij gelukte het niet om in de inhoud van de vacuolen *vet* of *glycogeen* door middel der kleurmethoden aan te toonen (Mayer, Zoomikrotechniek 1920, Blz. 268 en 271).

In preparaten met ijzerhaematoxyline volgens **Heidenhain** gekleurd, komen de vacuolen als donker zwart gekleurde plekken te voorschijn.

Ongeveer in het midden tusschen de vacuolen bevindt zich de kern, welke in de levende sporozoiet duidelijk is waar te nemen.

De kern bestaat uit een membraan, welke aan de binnenzijde belegd is met chromatinebrokjes.

Midden in de kernsapzone of soms excentrisch gelegen, ook wel tegen de membraan aan, vinden we een klein binnenlichaam.

De kernstructuur is slechts duidelijk te zien bij zeer goed behandelde preparaten.

Hiervoor is het minst de kleuring van **Heidenhain** geschikt, veel beter die van **Delafield.**

---

[1]) In druk.

Het vooreinde van de sporozoiet is schijnbaar van meer homogene structuur dan de rest van het plasma, tenminste krijgt men meestal bij de kleuring van **Heidenhain** een lichtzwart tot diep-zwarte massa te zien tegenover de rest van het sporozoietenlichaam, al naar gelang den differentiatijd.

Deze rest vertoont een meer mazigen bouw.

Een morphologische eigenschap van de sporozoiet van het rattencoccidium, welke ik van geen enkele andere coccidiumsoort vermeld zag, is deze, dat zich achter de groote vacuole een kleine korrel bevindt, welke zich soms demonstreert als een verdikking van de sporozoietmembraan.

Bij de *Heidenhainkleuring* komt meer het korrelvormig aspect voor den dag (Plaat III, fig. 31 en 32), terwijl de Delafieldkleuring het eerder doet voorkomen, alsof daar ter plaatse de membraan sterk verdikt is (Plaat III, fig. 33 en 34).

In ieder geval is deze morphologische eigenaardigheid voor zoover bekend een bijzondere eigenschap van de sporozoieten van het rattencoccidum.

Hier en daar in het plasma vinden we meerdere korrels of granula welke waarschijnlijk als volutine-korrels zijn op te vatten (**Reichenow**).

De grootte der sporozoieten varieert wat de lengte betreft van 12.8—14 μ en de breedte van 1.8—2.5 μ.

In tekstfig. F is de sporozoiet van het rattencoccidium ter vergelijking opgenomen tusschen een paar der tot nu toe weinig goed beschreven sporozoieten.

B. *Schizogonie.*

1. *Schizonten.*

De ontwikkeling van vrije sporozoiet tot schizont geschiedt in de epitheelcellen van darmlumen en Lieberkünsche klieren.

Soms ziet men na 10—12 uur nog de vrije sporozoieten bij geïnfecteerde ratten vrij in den darminhoud. Dan echter zijn reeds morphologische veranderingen waar te nemen

aan vacuole, kern en plasma. De vacuolen verliezen eenigszins hun kleurbaarheid, zonder een degeneratief karakter te vertoonen.

Het chromatine van de kern heeft zich min of meer aaneengevoegd, terwijl de duidelijkheid van de kernmembraan veel verminderd is. Het binnenlichaam is belangrijk grooter geworden.

De structuur van het plasma treedt veel duidelijker voor den dag.

Als bijzonderheid vind ik wel vermeldenswaard, dat ik in darminhoud van muizen, geïnfecteerd met sterk oocystenhoudend materiaal, nadat ze een halven dag na voedering gedood waren, nooit sporozoieten meer kon opmerken, noch vrij in den darm, noch in de epitheelcellen ingedrongen.

Het indringen der sporozoieten in de epitheelcel is mij nooit gelukt te zien in het levend preparaat.

Wel zag ik meerdere malen de reeds ingedrongen sporozoiet in de epitheelcel liggen. Meestal kon ik dan waarnemen, dat het plasma van de sporozoiet steeds duidelijker structuur vertoonde (Plaat III, fig. 35).

De vacuolen waren soms belangrijk kleiner geworden, terwijl de groote achterste vacuole dikwijls een ronden vorm had gekregen.

Het lichaam van de sporozoiet had een meer gebogene ligging gekregen, soms zoo sterk, dat het scheen alsof beide beenen elkaar raakten.

In de ingedrongen sporozoiet zooals door mij afgebeeld, zien we de chromatine in twee hoopjes aan tegenovergestelde kant van het binnenlichaam liggen, alsof reeds een deeling heeft plaats gehad.

De aanwezigheid van het eene binnenlichaam brengt geen licht in de vraag; of dit zich nu zal gaan deelen of verdwijnen of zich naar een der dochterkernen zal begeven, terwijl in de andere kern een nieuw binnenlichaam moet gevormd worden.

De volutine granula hebben zich meer om de kern verzameld en zijn zeer duidelijk getingeerd (met Delafieldkleuring rood).

Een voorafgaande kerndeeling in de sporozoiet is absoluut geen gewoonte, want veelal zien we eerst de geheel afgeronde jonge schizonten gevormd (Plaat III, fig. 36), voordat daarin kerndeeling is opgetreden. Dit gebeurt wel spoedig, want we zien dikwijls tweekernige schizonten optreden, welke even groot zijn als de jonge eenkernige.

Al naargelang de kerndeelingen, groeit de schizont in de epitheelcel, welke een vrij groote ontwikkeling van de schizont of van eventueel meer schizonten kan verdragen, voordat de kern degeneratieverschijnselen gaat vertoonen.

Het protoplasma van de schizont kleurt zich meestal minder sterk dan dit der jonge micro- en macrogametocyten, welke veelal een meer grofmazige structuur aanwijzen. Ik meen te hebben waargenomen, dat bij het rattencoccidium in de schizonten van de eerste generatie zich een groot aantal korrels in het protoplasma bevinden, welke met de Delafieldkleuring een rood aspect krijgen. Deze zouden dan afkomstig zijn van de sporozoieten.

Deze korrels zijn zeer zeker niet aan te wijzen in de jonge micro- en macrogametocyten.

Het optreden van de eerste schizonten geschiedt reeds na 1 dag.

In de kern of kernen der schizonten zagen we meestal de chromatine min of meer op dezelfde manier, n.l. kap- of halvemaanvormig om het binnenlichaam gerangschikt. Deelingsstadia der kernen heb ik aan mijn materiaal niet veel opgemerkt.

In ieder geval geen duidelijke stadia, die op mitotische deeling duidden. Wel zag ik een enkele maal figuren, welke op een eenvoudige doorsnoering geleken.

De rangschikking van de chromatine in kap- of halve maanvorm werd reeds door **Simond** (1895) beschreven bij het konijnencoccidium, Hij zag deze rangschikking waarschijnlijk reeds bij schizonten zeer zeker bij jonge macro- en microgametocyten.

Hij zegt hiervan:

> „Très souvent, dès les premiers stades on observe à coté du nucléole sphérique, un second corps chromatique, qui se

distingue pas une forme en croissant dont la concavité embrasse le nucléole sphérique. En règle générale la présence du nucléole secondaire en croissant dans le noyau d'un jeune coccidie, caracterise le début du cycle sporulé."

Alhoewel hij het wezen van de halve maan niet juist interpreteert, laten zijne teekeningen geen twijfel over aan de juistheid van zijne conclusie getrokken uit het microscopische beeld.

De meestal kapvormige ligging der chromatinesubstantie is bij vele coccidiensoorten bekend o.a. *Adelea* en *Barrouxia.*

Bij het konijnencoccidium *(E. stiedae)* kon **Wasielewski** dezen karakteristieken vorm van het chromatinecomplex niet waarnemen en meende hij dat de bevinding van **Simond** op een technische fout berustte.

Eerst **Reich** (1913) brengt het aanwezig zijn van dit chromatinecomplex bij jonge macrogametocyten van *E. stiedae* meer naar voren. Hij zag het echter niet bij andere stadia van *E. stiedae,* wat wel **Waworuntu** (1924) deed.

Nieschulz (1924) meent dat een ring, echter nog veel meer kap- of halvemaanvormige rangschikking van het chromatinecomplex met polair liggend binnenlichaampje, daaromheen eene kernsapzône en eene onduidelijke kernmembraan bij alle ontwikkelingsstadia van diverse *Eimeria*soorten *de* kernbouw is.

Bij het rattencoccidium zag ik deze kernstructuur bij merozoieten, schizonten, macro- en microgametocyten, zooals trouwens Plaat III duidelijk weergeeft. Alleen bij oudere macrogametocyten wordt ze minder duidelijk, hetgeen ook reeds door **Simond** bij het konijnencoccidium werd afgebeeld en waarschijnlijk bedoeld.

Na een min of meer groot aantal kerndeelingen in de schizont begint het protoplasma zich om de kernen te rangschikken en krijgen we de vorming van de merozoieten. Sedert lang is de bouw der merozoietenbundels een punt geweest, waarover menig verschil van inzicht is ontstaan.

Het aantal der kernen in de volwassen schizont kan zeer verschillend zijn, hetgeen gedemonstreerd wordt door het aantal merozoieten in een bundel, terwijl de vorm der bun-

dels bij een en dezelfde coccidiumsoort zeer kan varieeren en zelfs het overblijven van een restlichaam na deeling van de schizont in merozoieten geen constant verschijnsel is.

De litteratuur hierover te bespreken zou te ver voeren.

Uitvoerige beschouwingen daaromtrent zijn bij **Schellack** en **Reichenow** (1913 en 1915) en **Schellack** (1913b) te vinden.

Bij het rattencoccidium zien we verschillende soorten merozoietenbundels optreden.

De van ouds beschreven ligging der merozoieten in den vorm van de schijfjes van een sinaasappel is wel de meest voorkomende, daarnaast komt de meer spiraalvormig gewonden bundel voor (Plaat III, fig. 43), zooals **Schuberg** het eerst beschreef voor *E. falciformis*.

Bij *Cyclospora caryolitica* onderscheidt **Schaudinn** het bestaan van twee soorten merozoieten. De mannelijke merozoieten, kort en gedrongen van gestalte, ontstaan door eenigszins oppervlakkige segmenteering van de schizont. De vrouwelijke merozoieten beginnen knopvormig aan de oppervlakte van de schizont uit te spruiten en zetten hunne differentiatie in de diepte voort.

De door mij gegeven teekening (Plaat III, fig. 42) gelijkt zeer veel op de teekening van den bundel mannelijke merozoieten door **Schaudinn** in zijn schema over *Cyclospora caryolitica* van de mol gegeven.

Ik beschouw mijn teekening als een weergave van een totaal uit zijn verband gerukte schizont of gedeelte er van, waarin de merozoieten nog niet uitgegroeid zijn.

Trouwens wijst de kernstructuur ook in die richting. In mijne preparaten zag ik dergelijke conglomeraten van jonge onvolwassen merozoieten wel meer, soms in nog grooter aantal, eens zelfs *meer dan 70*.

De bundels met sinaasappelvorm bestonden steeds uit min of meer volwassen kleine merozoieten. De spiraalvormige bundels uit min of meer volwassen lange merozoieten.

Dat deze bundels werkelijk spiraalvormig zijn kon ik in coupes zien, waar het microtoommes dwars door de bundel was heengegaan. Bij licht op- en neerdraaien van de

micrometerschroef kon ik dan duidelijk naar links of naar rechts verplaatsing der merozoietdoorsneden zien (Plaat III, fig. 44).

2. *Merozoieten.*

Bij een oppervlakkig onderzoek van preparaten uit darmuitstrijkjes van ratten met coccidiosis lijkt het alsof de merozoieten gedifferentieerd zijn in kleine meer gedrongene en lange meer slanke exemplaren.

Bij nauwkeuriger beschouwing en onderzoek van vele preparaten vervaardigd uit den darminhoud van verschillende dieren, komt men spoedig tot de conclusie dat tusschen de twee uitersten tal van overgangen in ieder geval van tusschenvormen voorkomen (Plaat III nr. 47 t/m 65).

Deze groote verschillen in de twee uitersten der merozoiet-afmetingen zijn bij coccidien voor zoover mij bekend nog niet waargenomen.

Bij vele coccidien schijnt veelvormigheid der merozoieten voor te komen.

Reeds in zijn arbeid over *E. schubergi* zegt **Schaudinn**, dat hij de schizonten ontstaan uit merozoieten, het vermogen toeschreef om reeds in het begin van haren groei tot kerndeeling te kunnen overgaan, omdat ze in het bezit waren van een karyosoom, terwijl de schizonten uit sporozoieten eerst geheel uitgegroeid moesten zijn om deeling te kunnen ondergaan wegens gemis aan karyosoom.

Hoewel deze gedachte niet in overeenstemming is met de morphologie van de sporozoiet van het rattencoccidium, demonstreert zij echter wel eenigszins de weinige waarde, welke **Schaudinn** voor *E. schubergi* aan de difformiteit der merozoieten hechtte.

Een oudere opvatting over de verschillen in grootte bij merozoieten van *E. falciformis* doch ook berustend op kernverhoudingen is die van **Wenyon** (1907), welke theorie echter in geen enkele andere arbeid over coccidien is terug te vinden.

Wenyon zegt dan:

„The interesting point about this schizogony is that the merozoites after attaching new cells, commence the process of schizogony before they have attained the size of the schizont from which they were derived.

In this way there is a continual diminution in the size of the schizont in the stage of schizogony.

The largest form give rise to merozoites about 12 μ in length, while the smallest schizonts have a diameter of no more than 3 μ en give rise to merozoites about 3 μ in length.

The smaller forms of schizonts have smaller nuclei in proportions to their size than do the large forms; this difference in size is quite out of proportion to the difference in size of the schizonts.

When the larger schizonts undergo schizogony the nucleus breaks up and the chromatin is scattered in het cell.

The greater part of this chromatin is either thrown out of the schizont or is dissolved, while only a small part arranges itself at the nuclei of the merozoites over the surface of the schizont.

In the later stages of the infection only the large schizonts are present ant at this time begin to appear the gametocytes."

Wenyon, die daarbij nog een oude theorie van **Hertwig** aanhaalt over een bepaalde verhouding, die moet bestaan tusschen de chromatine van de kern en het protoplasma van de cel, wil deze tot deeling overgaan, komt later nooit meer op deze verklaring van de verschillen in grootte bij de merozoieten terug.

Bij het rattencoccidium dus komen bij de merozoieten in de uitstrijkpreparaten van darminhoud en darmslijmvlies uiteenloopende vormverschillen voor.

De voor mij als volwassen geldende merozoieten varieerden van 7.5—26 μ lengte bij 1.5—1.8 μ breedte met voor de lengte alle mogelijke tusschenvormen.

De vorm der merozoieten was in natief zoowel als in gekleurde preparaten licht gekromd en meer sikkelvormig dan de sporozoieten.

In de kleinere merozoieten zag ik dikwijls de kern meer in het midden van de merozoiet gelegen.

De lange merozoietvormen, dus boven de 20 μ hadden steeds op dezelfde plaats onder de kern een aantal (nooit

meer dan vier) volutinekorrels liggen, welke soms tot een hoopje vereenigd te zien waren.

Schellack zag deze korrels constant optreden bij de merozoieten van *Barrouxia schneideri*. Hij maakte echter geen restrictie betreffende het getal.

Bij de grootere merozoieten vooral, zag ik een constante kernstructuur, zooals reeds beschreven is bij de schizonten en duidelijk uitkomt in de teekeningen (Plaat III nr. 58 t/m 68).

Bij de kleinere merozoieten vinden we dikwijls volutinekorrels echter zonder vaste localisatie.

Het was voorloopig niet uit te maken bij het rattencoccidium of de merozoieten aanwijzingen bezitten, welke duiden op het feit, dat zij zich zouden omvormen tot gametocyten, dus dienaangaande acht ik het verschil in grootte niet van belang.

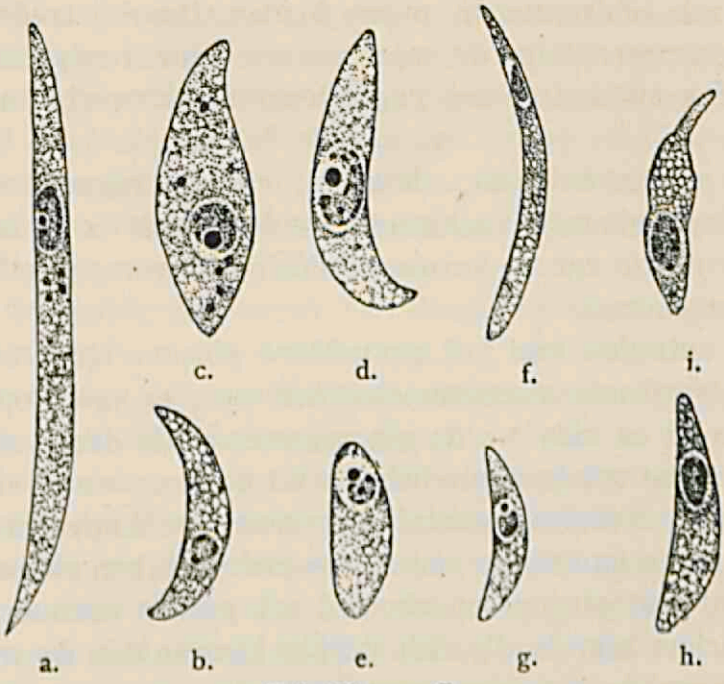
Trouwens reeds den 3den dag vond ik de groote en kleinere merozoieten dooreen in uitstrijkjes van darminhoud en darmslijmvlies.

Wel heb ik in coupes de groote merozoieten *nooit* aangetroffen in de dieper liggende epitheelcellen der Lieberkühnsche klieren, zoodat het wel mogelijk is dat de lengte der merozoieten in de preparaten eenig verband houdt met de plaats van ontwikkeling.

De opmerkingen van Schellack (1913) over de grootteverschillen der merozoieten bij *Adelina dimidiata* kunnen m.i. ook voor de merozoieten van het rattencoccidium gedeeltelijk gelden.

Het voorkomen van meer dan een binnenlichaam in de kern kon ik zoowel bij groote als kleine merozoietvormen zien (Plaat III fig. 47). Schellack zag dit constant bij de merozoieten van *Barrouxia schneideri* optreden, zonder dat hij er belang aan hechte, dat dit een voorstadium van kerndeeling zou kunnen zijn.

In een lange merozoiet zag ik een paar malen een rangschikking van chromatine en binnenlichaam alsof er deeling had plaats gehad (Plaat III fig. 46).



Tekstfiguur G.

Merozoieten van a: Rattencoccidium; b: Rattencoccidium; c: E. debliecki; d: E. falciformis; e: E. tenella; f: E. perforans; g: E. pfeifferi; h: E. stiedae; i: E. stiedae (gesl. gediff.). c: (naar Nöller-Frenz); d, e, g: (uit Nieschulz 1924); f, i: (naar Waworuntu); a, b, h: (orig.). Vergrooting 2500.

Deze extracellulaire deeling zou dan een uitzondering vormen bij het rattencoccidium.

Eens zelfs meende ik dat deze extracellulaire deeling reeds in een vrij vergevorderd stadium verkeerde (Plaat III fig. 57).

Of deze merozoiet wellicht uit de epitheelcel was gestreken is niet te zeggen.

Ter gelijking zoowel van de grootte als den verderen bouw heb ik in tekstfiguur G naast twee merozoieten van het rattencoccidium eenige merozoieten van andere *Eimeria*soorten afgebeeld.

C. *Gamogonie.*

1. *Macrogametocyten en macrogameten.*

De macrogametocyten zijn in een jong stadium bijna

nooit van schizonten te onderscheiden. Daarbij treden bij het rattencoccidium de macrogametocyten reeds na den 5den dag op, daarop ook nog schizonten aanwezig kunnen zijn.

Het eenige welke m.i. de zeer jonge macrogametocyten van de eenkernige schizonten onderscheidt is de betere differentiatie van de kern en duidelijker granuleuze bouw van het plasma.

Dit optreden van het granuleuze plasma komt bij de ouder wordende macrogametocyten meer en meer op den voorgrond en zien we de macrogameten als deze volwassen zijn dan ook bestaan, behalve uit de kern, waarvan het chromatinecomplex meestal niet meer den kapvorm vertoont, nu en dan echter nog alleen onduidelijken ringvorm, uit een protoplasma opgebouwd uit groote granula met er tusschen korrels, die zich sterker kleuren dan de andere door meer de kernkleur aan te nemen en naarmate de macrogameet ouder wordt, zich rangschikken aan de oppervlakte.

Deze korrels welke zich zooals reeds gemeld donkerder kleuren dan de andere, worden over het algemeen gehouden voor reservestofbollen. De mogelijkheid bestaat ook, dat ze de elementen bevatten, welke na de bevruchting in staat zijn de copula van een membraan te voorzien.

De rijpe macrogameet stuurt evenals dit voor andere coccidiasoorten bekend is, een kernuitlooper naar de periferie toe, welke de microgameet moet opnemen en wellicht van belang is voor de chemotactische aantrekking van de microgameet (Plaat III fig. 75 t/m 80).

2. *Microgametocyt* en *microgameten.*

De microgametocyt is veelal in het beginstadium een zeer klein lichaampje met duidelijke gestructureerde kern.

Evenals dit voor andere coccidiensoorten het geval is, is de jonge microgametocyt moeilijk van de macrogametocyt te onderscheiden. Wel meende ik veelal een kleiner binnenlichaam te onderscheiden.

In de meerkernige microgametocyten zag ik verder geen granula door het plasma heen, zooals bij de schizonten.

De structuur der kernen echter was duidelijk hetzelfde, terwijl daarentegen het plasma veel losser van bouw geleek en daardoor minder homogeen gekleurd was.

De kernen vertoonden langzamerhand geen differentiatie meer in binnenlichaam en chromatine.

Bij de deeling der kernen heb ik niet na kunnen gaan of hier een mitose dan wel amitose in het spel was.

Trouwens is dat aan de meeste onderzoekers niet gelukt, wegens de kleinheid van het object.

Nadat de kernen geen differentiatie meer vertoonen, doch zich voordoen als chromatinebrokjes (Plaat III fig. 70) krijgen we een stadium, waarin zij iets meer gestrekt zijn om ten slotte zich tot de microgameten om te vormen met een stomp achtereinde en een spits vooreinde. De vrije microgameet schijnt zich eenmaal vrij gemaakt hebbende uit de microgametocyt, spoedig van vorm te veranderen in zooverre, dat de meer kommavormige structuur verdwijnt. Daarbij nemen ze nog toe in grootte.

In preparaten gekleurd met ijzerhaematoxylin volgens **Heidenhain** en zeer kort gedifferentieerd zien we in de microgameet zeer duidelijk differentiatie, welke niet uniform optreedt (Plaat III fig. 72 t/m 74).

Een aanwijzing dat ergens in het chromatinelichaam een binnenlichaam te vinden is, is niet aanwezig.

De vrije zweepdraden, die we ook bij de levende microgameet kunnen opmerken zien we als zwemgeesels vrij van het microgametenlichaam en uitgaande van het voorste gedeelte van het lichaam, ter plaatse waar steeds een korreltje is waar te nemen.

De lengte der microgameten varieert van 5½—6 μ bij een breedte van 0.7 μ, terwijl de zweepdraden een lengte kunnen bereiken van $\pm$ 15 μ.

HOOFDSTUK V

VERGELIJKEND OVERZICHT

DER KNAAGDIERCOCCIDIEN EN EXPERIMENTEEL ONDERZOEK NAAR DE OVERBRENGINGSMOGELIJKHEID VAN HET RATTENCOCCIDIUM OP ANDERE KNAAGDIEREN.

Alhoewel het een bekende eigenschap der coccidien is, dat zij een groote mate van soortspecifiteit bezitten, was het noodzakelijk ook voor het rattencoccidium na te gaan, in hoeverre het buiten, zijn, als oorspronkelijk aangewezen gastheer kon parasiteeren bij andere knaagdieren.

Immers in de litteratuur komen opgaven voor van het voorkomen van eenzelfde coccidiumsoort bij naverwante dieren. **Fantham** (1910) kon het coccidium van *Lagopus scoticus* overbrengen op kippen en duiven, terwijl **Olt** en **Ströse** (1914), **Rautmann** (1915) en **Nieschulz** (1923) het parasiteeren van *E. stiedae* bij de haas berichtten.

Met de oocysten van het coccidium voorkomende bij de musch kon **Hadley** (1919) kippen infecteeren en omgekeerd.

Uit de infectieproeven in dit hoofdstuk zal blijken, dat ik zelf met het rattencoccidium afkomstig van *Mus norvegicus, Mus rattus* kon besmetten en omgekeerd en dat het rattencoccidium van de wilde rat prompt aansloeg bij de tamme witte of bonte laboratoriumratten.

Echter vooral met het oog op de in de litteratuur voorkomende mededeelingen van de vondsten van *E. stiedae* en *E. falciformis* bij de wilde rat *(Mus norvegicus)*, zijn infectieproeven aangaande de mogelijkheid van overbrenging van het rattencoccidium op andere knaagdieren dan de rat geboden.

Theoretisch en practisch staat het belang vast, dat nagegaan dient te worden:

a. In hoeverre het door mij gevonden rattencoccidium morphologisch al of niet identisch is met de reeds beschreven knaagdiercoccidien.
b. De verschillende knaagdieren ontvankelijk zijn voor eene infectie met dit rattencoccidium.

Deze experimenten zijn van diergeneeskundig standpunt van het allergrootste gewicht, omdat daardoor een *maatstaf* wordt verkregen voor de beweringen als zou het rattencoccidium bestaan uit *E. stiedae* en *E. falciformis* en overgedragen kunnen worden op konijnen en muizen.

Want de mogelijkheid van deze overbrenging vaststaande, zou de wilde rat gemakkelijk als een bron van verspreiding van het konijnencoccidium *E. stiedae* kunnen worden aangezien, waarvoor we nog niet zoo ver behoeven te gaan als **Rudovsky** (1922), welke de wilde rat *(Mus norvegicus)* als oorspronkelijke gastheer van het konijnencoccidium aanziet.

a. De min of meer uitgebreid behandelde knaagdiercoccidien zijn de volgende:

1. *Eimeria stiedae* (**Llndemann** 1865).
2. „ *perforans* (**Leuckart** 1879).
3. „ *leporis* **Nieschulz** 1923.
4. „ *falciformis* (**Eimer** 1870).
5. „ „ *var. criceti* **Nöller** 1920.
6. „ *marmotae* **Galli Valerio** 1923.
7. „ *sciurorum* „ „ 1922.
8. „ *arvicolae* „ „ 1905.
9. *Caviacoccidium* (**Brugge** en **Heinke** 1921).

Willen we de door **Waworuntu** (1924) als den z.g. 3en en 4en vorm beschreven coccidien van het konijn als zelfstandige soort beschouwen, dan kunnen we deze plaatsen als No. 10 en 11.

Gemakshalve kunnen eerst de minder uitvoerig beschreven *Eimeria*soorten de revue passeeren om eenigszins langer stil te kunnen staan bij de coccidien van konijn en muis.

Eimeria arvicolae **Galli Valerio 1905.**

Deze *Eimeria* door **Galli-Valerio** bij *Arvicola nivalis*, de sneeuwmuis in den darminhoud gevonden, heeft volgens deze onderzoeker bolvormige cysten met een lengte van 18 μ bij een breedte van 14 μ. Zij zijn voorzien van een heldere kapsel (membraan), terwijl het protoplasma eenigszins geel is.

Verdere morphologische eigenschappen niet aangegeven zijnde, moeten wij een eventueele identiteit met het rattencoccidium verwerpen, aangezien de cystematen van het laatste aanmerkelijk grooter zijn, het protoplasme helder is en de membraan geelachtig.

Verder wordt alleen het voorkomen van deze *Eimeria* bericht bij de sneeuwmuis.

Caviacoccidium (**Brugge** en **Heinke** 1921).

Brugge en **Heinke** vonden dit coccidium bij 73 % van de 180 onderzochte caviae. Overbrengingsproeven op andere dieren werden niet door hen verricht.

Wel wezen zij op het feit, dat dit coccidium een sterk pathogeen karakter vooral voor jonge dieren kon verkrijgen.

De vorm der oocysten is ovaal en de membraan kleurloos. De oocysten, welke zij maten, een 50 in getal, hadden een lengte van 15.9—24.6 μ en een breedte van 12.2—17.4, zoodat de gemiddelde lengte en breedte resp. bedroegen 20 en 15 μ. De sporulatie had plaats bij kamertemperatuur in 7—8 dagen.

Verdere morphologische eigenschappen betreffende sporozoieten, merozoieten enz. zijn niet aangegeven, zoodat uit de door mij voor het rattencoccidium gegeven maten, vormeigenschappen en sporulatietijd tot een niet-identiteit der twee *Eimeria's* besloten kan worden.

De oocysten van het caviacoccidium, welke ik onder het microscoop in dit laboratorium in verband met proeven, welke ermede verricht worden, kon bestudeeren, blijken sterk karakteristiek eenvormig te zijn, waardoor ze direct van de oocysten van het rattencoccidium zijn te scheiden.

Eimeria sciurorum **Galli-Valerio** 1922.

In den darm (welke?) van *Sciurius vulgaris var. Alpina*, een eekhoorn, werd in *Zwitserland* deze *Eimeria*soort door **Galli-Valerio** aangetroffen.

De oocysten, meer cylindrisch dan ovoid, hadden respectievelijk als lengte- en breedtemaat 25 en 15 μ, bezaten verder een *kleine* micropyle.

Uit het bestaan van deze laatste en in verband met den oocystenvorm kan het rattencoccidium niet hiermede identisch zijn. Maar vooral ook door den negatieven uitslag, welke G.-V. verkreeg, als hij met *E. sciurorum* witte ratten trachtte te infecteeren moet tot een soortverschil tusschen de twee *Eimeria's* worden besloten.

Eimeria marmotae **Galli-Valerio** 1923.

Bij *Arctomis marmota*, de marmot, trof G.-V. in de darmen (welke?) o.a. een coccidium aan, waarvan de oocyste na sporulatie vier sporen met elk 2 sporozoieten inhielden.

De vorm der oocysten was eivormig met twee eenigszins afgeronde polen (natuurlijk).

De maat der oocysten was voor lengte en breedte resp. 51 bij 42 μ. Verder waren de oocysten voorzien van een zeer duidelijke micropyle. Eenige overeenkomst van de oocyste van deze *Eimeria* met die van het rattencoccidium is hieruit niet op te maken.

Eimeria leporis **Nieschulz** 1923.

Deze *Eimeria* werd door **Nieschulz** in Nederland bij hazen gevonden, tezamen met *E. stiedae*.

De morphologische beschrijving komt hoofdzakelijk hierop neer: De oocysten zijn smal, eliptisch of soms boonvormig.

Zij zijn kleurloos of soms iets geel getint; een duidelijke micropyle kan niet worden waargenomen.

De vormindex bedraagt gemiddeld 0.5, zoodat de oocysten meestal 2 $\times$ zoolang als breed zijn.

De sporocysten zijn eivormig met een meer toegespitste pool. (Volgens teekening en mijne eigen waarneming meer amandelvormig).

Steeds is een duidelijk restlichaam als overschot zoowel van de sporoblastenvorming als van de sporozoietendeeling aanwezig.

De maten resp. voor lengte en breedte der oocysten van *E. leporis* zijn 26—38 μ en 13—20 μ, zoodat de gemiddelde maten zijn 32 bij 16 μ.

Eimeria leporis vormt in de 2e helft van het dundarmkanaal kleine scherp omschreven haardjes, welke reeds gemakkelijk macroscopisch kunnen worden waargenomen.

De infectie van het epitheel der *Lieberkühnsche* klieren schijnt altijd zeer hevig te zijn, zoodat er feitelijk geen grensgebied aan de haardjes is op te merken, waarin een overgang aanwezig is tot een minder sterk eindelijk niet geïnfecteerd weefsel. N. denkt dan ook, dat na de schizogonie de merozoieten direct nieuwe epitheelcellen infecteeren, zonder eerst een poosje in het darmlumen te verblijven.

Daarbij geeft genoemde onderzoeker niet aan, vrije merozoieten in de darminhoud gevonden te hebben.

Bij wilde konijntjes, 190 in getal, afkomstig uit dezelfde streken rondom *Utrecht* als de hazen, werd geen enkele maal. *E. leporis* aangetroffen.

N. kon bij twee tamme konijnen geen infectie met *E. leporis* te voorschijn roepen.

De oocysten van *E. leporis* en 't rattencoccidium verschillen te veel in maten en in vorm (tekstfig. D no. 1 en no. 4), dan dat de mogelijkheid dat beide identiek zijn, niet gerust zou verworpen kunnen worden.

Zelf kon ik derhalve in teekening ook onder het microscoop den karakteristieken oocystevorm van *E. leporis* waarnemen.

Eimeria falciformis (Eimer 1870) met aanhangsel: *Eimeria falciformis var. criceti* Nöller 1920.

Alhoewel dit coccidium meerdere malen uitvoerig is be-

schreven (**Eimer** 1870, **Schuberg** 1895, **J. Clarke** 1895), kunnen we met recht vaststellen, dat dit betrekkelijk gemakkelijk te verkrijgen coccidium in het licht van de hedendaagsche coccidienkennis zeer zeker een hernieuwde morphologische en biologische beschrijving zeer noodig heeft.

Eimer (1870) gaf als maten der oocysten op voor lengte 26 μ, voor breedte 16 μ, voor de merozoieten resp. 16 bij 9½ μ.

Schuberg (1895) vond *E. falciformis* alleen in colon en rectum en ook in de blinde darm.

Het dundarmkanaal was steeds vrij.

De vorm der cysten was rond of ovaal, terwijl soms aan een der polen een geringe afplatting te zien was (waarschijnlijk schrompeling).

Hij gaf als oocystenmaten op resp. voor lengte en breedte 16—21 μ en 11—17 μ. De cystemembraan was $\pm$ 0.8 μ.

De sporogonie zou afloopen in 4—6 dagen.

Bekend is hoe **Schuberg** de ligging der sporozoieten in de sporocyste beschrijft, reeds voor hem door **Balbiani** (1884) op bijna dezelfde manier geteekend voor het konijncoccidium.

De ligging der merozoieten in de epitheelcellen gaf **Sch.** aan te zijn als die van de schijven van een sinaasappel, terwijl ze echter ook ten opzichte van elkaar eenigszins spiraalvormig gedraaid konden zijn, zooals door mij voor het rattencoccidium is geteekend (Plaat 3 nr. 43).

De kern van de merozoiet ligt in het midden, wat ook **Nieschulz** (1924) in de door hem geteekende merozoiet (tekstfig. G) weergeeft.

Clarke (1895) denkt, dat het door **Grassi** bij ratten gevonden coccidium hetzelfde is als de door hem beschreven *E. falciformis*. Dit is echter m.i. zeer zeker niet op te maken uit de beschrijving van **Grassi.**

Bij voedering van muizen met *E. falciformis* kon **Nöller** (1920) op den 4den à 5den dag zien, dat de faeces van de muizen dun werden en vol zaten met merozoieten.

Daarbij konden muizen, welke genezen waren, direct

weder geïnfecteerd worden. Een hond en *vier ratten* kon N. *niet* besmetten met groote hoeveelheden *E. falciformis*.

Bij hamsters (Cricetus cricetus) vond **Nöller** een *Eimeria*, die hij als *E. falciformis var. criceti* beschouwde. De juiste redenen waarom gaf hij echter niet.

De oocysten van deze varieteit waren meestal rond en zelden meer lang dan breed, daarbij voorzien van goed afgeronde polen, terwijl ze sporuleerden in 2—4 dagen, waarna *geen* restlichaam zou overblijven.

De afmetingen der cysten waren 18 (22) bij 11 μ. N. vond de ontwikkelingsvormen nooit, in de dunne darm, doch steeds in colon en blinde darm (in tegenstelling met **Reich**, welke *E. falciformis* bij muizen ook in dunne darmen en in de maag vond).

De schizonten en gametocyten zouden meestal in het epitheel van het darmlumen, niet in het epitheel van de *Lieberkühnsche* klieren te vinden zijn, wat niet overeenkomt met de localisatie dezer ontwikkelingsvormen van *E. falciformis* bij de muis.

De overeenkomst van deze *Eimeria* met *E. falciformis* lijkt mij op de weinige gronden, welke **Nöller** daarvoor aangeeft, niet genoegzaam gedocumenteerd.

De vorm van de oocyste van het rattencoccidium is sterk afwijkend van die van het muizencoccidium (tekstfiguur D nr. 1 en 2). Daarbij geven de maten der oocysten van de beide *Eimeria's* ook een belangrijk verschil te zien *(E. falciformis resp.* lengte en breedte 16—21 μ en 11—17 μ; rattencoccidium resp. 18—26 μ en 14—20 μ).

De sporulatietijd van het rattencoccidum is 3—4 dagen, van *E. falciformis* 4—6 dagen (**Schuberg**) en van *E. falciformis var. criceti* 2—4 dagen.

Schuberg kon na de sporulatie slechts zeer zelden een restlichaam opmerken. **Nöller** kon dit bij zijn hamstervarieteit *nooit*.

Bij het rattencoccidium zag ik veelal een restlichaampje. Was het niet te zien, dan had ik goeden grond te vermoeden, dat het tusschen de sporocysten verborgen lag.

De bouw der merozoieten van *E. falciformis* is veel

plomper dan die van het rattencoccidium, terwijl de kern in het midden van het merozoietenlichaam ligt.

De merozoieten van het rattencoccidium zijn overwegend veel slanker en grooter, terwijl bij de merozoieten, waarvan er in de schizonten weinig voorkomen (minder dan 20) de kern in het gebied van het bovenste 1/3 gedeelte ligt.

Soms vinden we bij het rattencoccidium de kernen in de merozoieten wel in het midden (Plaat III nr. 52), doch dan komen deze uit de bundels met een groot aantal (boven 50) exemplaren.

Het rattencoccidium parasiteert zoowel in colon en blinde darm als in het grootste gedeelte van de dunne darmen, terwijl dit geenszins het geval is bij *E. falciformis* (Schuberg).

Waar ten slotte door **Nöller** geen tamme ratten met een groot aantal oocysten van *E. falciformis* konden besmet worden, vind ik naast de morphologische verschillen der twee *Eimeria's* genoegzame waarborgen om tot haar niet-identiek te zijn, te besluiten.

Gezien het feitelijk buiten de bedoeling van dit proefschrift liggende experiment en de omstandigheid, dat een ander Instituut met een nieuwe bewerking van *E. falciformis* doende is, werd bovenstaande proef van **Nöller** niet door mij herhaald, temeer waar het mij tevens niet mocht gelukken in den korten tijd, waarin deze arbeid moest gereed komen, krachtig oocystenhoudend materiaal van *E. falciformis* te verkrijgen.

Konijncoccidien.

Voor het vergelijkend morphologisch overzicht is uitmuntend gebruik te maken van de onderzoekingen van **Waworuntu** (1924) over de konijncoccidien.

Ook al nemen we evenals deze onderzoeker aan, dat er naast de oorspronkelijke twee *Eimeria*soorten, n.l. *E. stiedae* en *E. perforans*, nog twee andere vormen parasiteeren, waarvan het zelfstandig soort-zijn echter nog niet vaststaat, dan kunnen we toch al heel spoedig een vergelijking maken met het rattencoccidium, omdat de verschil-

len, welke de konijncoccidien van elkaar scheiden hoofdzakelijk gebaseerd zijn op de eigenschappen der oocysten.

Eimeria stiedae (Lindemann 1865).

De vorm der oocysten is eivormig of elliptisch met afgeplatte micropyle. Kleur groen of goudgeel.

Afmetingen lengte 28—44 μ, breedte 21—30 μ.

Vormindex 9.68.

Sporulatietijd 55—60 uur.

Bij de sporulatie steeds een flink restlichaam waar te nemen.

Eimeria perforans (Leuckart 1879).

Walsvormige nooit ovoide, steeds kleurlooze oocysten. Geen of moeilijk waarneembare micropyle.

Lengte 15—30 μ, breedte 11—18 μ.

Vormindex 9.62.

Sporulatietijd 24—27 uur.

Na de sporulatie zien we een goed zichtbaar restlichaam gevormd.

3e vorm (Waworuntu 1924).

Eivormige, lichtgele oocysten. Micropyle zichtbaar als onduidelijk zwart streepje.

Lengte 25—32 μ, breedte 16—20 μ.

Vormindex 9.59.

Sporulatietijd 40—42 uur.

Bij de sporulatie is steeds een duidelijk restlichaam voorhanden.

4e vorm (Waworuntu 1924).

Lang ovale, lichtgele, soms kleurlooze (galblaas), nu en dan boonvormige oocysten.

Micropyle niet scherp begrensd.

Lengte 32—42 μ, breedte 18—22 μ.

Vormindex 9.53.

Sporulatietijd 42—46 uur.

Er is *nooit* een restlichaam aanwezig.

De lengte der merozoieten is voor *E. perforans* 5—6.9 μ. voor *E. stiedae* en 4e vorm 8—10 μ. De merozoieten van den 3en vorm kon Waworuntu wegens technische moeilijkheden niet van die van de andere vormen gescheiden krijgen en dus niet juist meten.

Uit de bovenstaande maten en tijden is duidelijk het soortverschil te zien met het rattencoccidium en kan men gemakkelijk nagaan de weinige overeenkomst in de volgende factoren.

1. Vorm en grootte der oocysten.
2. Kleur der oocysten.
3. Aanwezigheid van een micropyle.
4. Aan- of afwezigheid van een restlichaam en de normale grootte er van.
5. Gemiddelde vormindex.
6. Sporulatietijd.
7. Grootte der merozoieten.

Beziet men de oocysten der vier vormen van de konijncoccidia onder het microscoop, hetgeen door mij ook kon geschieden, dan valt direct het verschil op met de oocyste van het rattencoccidium.

b. De oocysten van het rattencoccidium werden behalve aan ratten, ook aan andere knaagdieren gevoerd om eventueel ook experimenteel tot vaststelling van de soortspecifiteit te komen.

Als proefdieren werden gebruikt:

1. Muizen.
2. Caviae.
3. Konijnen.

1. De muizen waren gewone laboratoriummuizen. De techniek van het infecteeren is in het betreffende hoofdstuk te vinden. Uit de tabel zijn duidelijk de tijden te lezen, waarop de faeces der diertjes door middel van de keukenzoutmethode werden onderzocht voor het infectieëxperiment en daarna, alsmede de resultaten hiervan.

TABEL III.

Muis	Datum infectie	Infectie materiaal	Onderzoek der faeces met keukenzoutmethode					
			voor de infectie			na de infectie		
			10-11-'23	20-11-'23		28-11-'23	29-11-'23	3-1-'24
253 w.	20-11-'23	rattencocc. stam Utrecht	neg.	neg.		neg.	neg.	neg.
254 „			„	„		„	„	„
255 „	21-11-'23		„	„		„	„	„
256 „			„	„		„	„	„
			20-11-'23	28-11-'23		5-1-'24	6-1-'24	10-1-'24
264 „	28-11-'23	rattencocc. stam Utrecht	neg.	neg.		neg.	neg.	neg.
265 „			„	„		„	„	„
266 „			„	„		„	„	„
267 „	29-11-'23		„	„		„	„	„
268 „			„	„		„	„	„
269 „			„	„		„	„	„
					6-2-'24	14-2-'24	15-2-'24	20-2-'24
319 „	6-2-'24	rattencocc. stam Ilpendam			neg.	neg.	neg.	neg.
320 „					„	„	„	„
321 „					„	„	„	„
322 „					„	„	„	„
323 „					„	„	„	„

w. = witte tamme muis.

Hieruit blijkt dus, dat het rattencoccidium niet in staat was deze 10 muizen te besmetten.

Later werd uit Ilpendam een stam van het rattencoccidium verkregen, waarin vrij veel ronde vormen zich vertoonden. Een vijftal andere tamme muizen hiermede gevoerd, bleven eveneens vrij van coccidiosis, zooals bovenstaande tabel eveneens doet zien.

Alhoewel men feitelijk kan betoogen, dat het niet vaststaat, dat de muizen niet immuun waren voor *E. falciformis* en ik persoonlijk de leemte in het experiment voel, moet ik echter mededeelen, dat *E. falciformis* niet in voldoende mate ter voedering kon worden verkregen. Daarbij

zou de immuniteit van 15 muizen tegelijk een zeer opvallend verschijnsel zijn.

2. Het verloop van de infectieproeven van caviae met het rattencoccidium blijkt genoegzaam uit onderstaande tabel.

TABEL IV.

Cavia	Datum Infectie	Infectie materiaal	Onderzoek der faeces met keukenzoutmethode					
			voor de infectie			na de infectie		
			5-1-'24	28-1-'24	6-2-'24	14-2-'24	18-2-'24	20-2-'24
880	6-2-'24	Rattencocc. stam Ilpendam	neg.	neg.	neg.	op 6-2-'24 gestorven (pneumonie)		
881			"	"	"	neg.	neg.	neg.
883			"	"	"	"	"	"
884			"	"	"	"	"	"
885			"	"	"	"	"	"
886			"	"	"	"	"	"
887			"	"	"	"	"	"
888	13-2-'24	Rattencocc. stam Utrecht	"	"	"	"	"	"
986			"	"	"	"	"	"
987			"	"	"	op 11-2-'24 gestorven (pneumonie)		

3. De konijntjes, welke met het rattencoccidium werden gevoerd waren coccidiumvrij opgefokt, zooals aangegeven in Hoofdstuk II.

Verder geeft de tabel voldoende inlichtingen. Aangezien eenige konijntjes voor het experiment ten gevolge van verschillende oorzaken dood gingen, werd met het toedienen van geïnfecteerde melk gewacht, totdat er een tiental voldoend sterke jonge diertjes te samen waren.

TABEL V.

Konijn	Datum infectie	Infectie materiaal	Onderzoek der faeces met keukenzoutmethode					
			voor de infectie			na de infectie		
			5-2-'24	9-2-'24	11-2-'24	19-2-'24	21-2-'24	22-2-'24
1	11-2-'24	Rattencoccidium Stammen Utrecht en Ilpendam dooreen	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
2	12-2-'24		„	„	„	„	„	„
3	13-2-'24		„	„	„	gestorven aan slik pneumonie (10-2-'24)		
4	14-2-'24		„	„	„	neg.	neg.	neg.
5			„	„	„	„	„	„
6			„	„	„	„	„	„
7			„	„	„	„	„	„
8			„	„	„	gestorven (geen bekende oorzaak) 10-2-'24		
9			„	„	„	neg.	neg.	neg.
10			„	„	„	„	„	„

N.B. De gestorven konijnen werden eveneens op ontwikkelingsvormen van het rattencoccidium onderzocht, met negatief resultaat.

Uit bovenstaande experimenten blijkt, dat het mij *niet* gelukte het rattencoccidium over te brengen op een groot aantal muizen, caviae en konijnen.

Het overbrengen van het rattencoccidium van *Mus rattus* op *Mus norvegicus* gelukte steeds, ook omgekeerd, terwijl de overbrenging van deze soorten op de tamme bonte rat mede steeds tot stand kwam, behoudens een zeldzaam geval, waarbij immuniteit moest worden aangenomen of een onbekende factor in het spel was.

De toevallige vondst van **Rudovsky** (1922) van coccidien bij een wilde rat *(Mus norvegicus)* opende voor hem niet zonder reden de mogelijkheid, dat ratten deel kunnen hebben aan de coccidiosisverbreiding onder de konijnen.

Dat dit niet zonder reden gebeurde, werd veroorzaakt door het feit, dat **R.**, behalve flagellaten, amöbencysten en

trichocephalis-eieren ook *Eimeria stiedae* en *Eimeria falciformis* in de ingewanden der ratten vond.

De vormen der gamogonie kon **Nöller** bij zijn cricetus-varieteit van *E. falciformis* nooit in de *Lieberkühnsche* klieren waarnemen.

R. beeldt zijne *E. falciformis*-stadium bij de rat *wel* in het epitheel dier klieren af.

Hetgeen **Rudovsky** zegt in verband met zijn soortdeterminatie van *E. stiedae* en *E. falciformis* bij de wilde rat *(Mus norvegicus)* gevonden, acht ik niet sterk overtuigend.

> „Die Bestimmung der Oozysten nach ihrer Zugehörigkeit erfolgte nicht blosz morphologisch durch Grösszenmessung sondern auch biologisch (Weiterentwicklung des Oozysteninhaltes in Flüssigkeit bei Luftzutritt).
>
> Die Bestimmung lediglich nach Gestalt und Grösze der Oozyste, wie es meistens geschieht, dürfte nicht genügen.
>
> Die auszerordentlichen Grösszen und Formschwankungen der Oozysten (E. stiedae ist mehr eiförmig, E. falciformis nähert sich der Kugel: die Längendifferenz kann 4 μ und weniger ausmachen, in der Breite braucht gar kein Unterschied zu sein), das gleichzeitige Vorkommen verschiedener Arten von Eimeria machen die biologische Untersuchung notwendig.
>
> Ich beobachtete in einem Falle das Vorkommen von E. stiedae und falciformis zur selben Zeit in den Faeces eines Kaninchens, sah auch die Sporulation *so dasz kein Zweifel war* bezüglich der Zugehörigkeit der Oozysten zu 2 Arten von Eimerien."

Het hierin uitgedrukte voornemen om op verschillende manieren aan te toonen dat hij nu werkelijk met *E. stiedae* en *E. falciformis* te maken had, bracht **R.** m.i. niet geheel ten uitvoer. Zijn sporulatieproeven zijn meer een demonstratie van het weerstandsvermogen van oocysten voor verschillende desinfectievloeistoffen dan dat zij op eenige manier aantoonen de kermerken, waaraan oocysten van verschillende *Eimeria*soorten bij de sporulatie te identificeeren zouden zijn.

R. merkt verder o.a. op, dat zijn *E. falciformis(?)* vooral bij jonge ratten voorkwam, wat ook door mij voor het rattencoccidium is gevonden (Hoofdstuk VI).

Bij zijn onderzoek ging **R.** nog na, waarmede konijnen van arme menschen te *Weenen* gevoerd werden.

Hij vond o.a., dat deze diertjes ook hooi kregen, afkomstig van een 5tal paardenhandelaars. Hij onderzocht nu het hooi uit afgelegen hoeken in de stallen van die handelaars en verder van een melkerij waar *konijntjes* reeds 2 generaties volkomen *gezond* (ook coccidienvrij?) waren, doch waar **R.** wel een rat met *E. stiedae* had gevangen.

Bij de paardenhandelaars werden geen konijntjes gehouden, doch had men wel enorme last van ratten, waarvan **R.** echter geen enkele kon bemachtigen. In dat hooi vond hij werkelijk coccidienoocysten vergezeld van rattenharen, welke we steeds in de faeces van ratten aantreffen. Volgens **R.** waren deze oocysten van *E. stiedae*.

De in het hooi gevonden oocysten waren 32 μ lang en 17 μ breed.

Verder vond hij kleine oocysten 16 μ breed en 20—22 μ lang, met een duidelijke indeuking aan de pool.

R. meende, dat deze laatsten wel tot een andere *E.* soort zouden behooren.

Van een pathogene werking zoowel van *E. falciformis* als van *E. stiedae* bij ratten kon **R.** niets bemerken.

Om de juistheid van zijne diagnose te bewijzen deed **R.** de volgende proeven. Hij gaf:

1. *E. falciformis(?)* van een uitgegroeide rat aan een even oud dier, dat na 6 dagen gedood werd.
2. *E. falciformis* van dezelfde rat aan twee oude ratten, welke na 8 weken gedood werden.
3. *E. falciformis(?)* aan een konijn, dat echter aan tympanitis dood ging.
4. *E. stiedae* van een konijn aan twee volwassen ratten, waarvan de eene na 18 dagen en de andere na 2 maanden gedood werd.
5. *E. stiedae* van de rat, sub 4 (op welken dag?) aan een konijn.

Hoewel **R.** het niet speciaal vermeldt, lijkt het mij toe uit het opschrift van zijne verhandeling, dat hij voor zijne proeven exemplaren van *Mus norvegicus* gebruikte.

Bij infectieproef 1 zag **R.** na 5 dagen de faeces wat dunner worden. Na sectie op den 6den dag waren in verschil-

lende darmepitheelcellen merozoieten van*E. falciformis* te zien.

Bij proef 2 kon **R.** na 2 weken eenige cysten in de faeces der geïnfecteerde ratten aantoonen.

Hij geeft niet aan ook gedurende die twee weken de faeces te hebben onderzocht.

Proef 3 mislukte wegens dood van het proefdier. Coupes van den dikken darm gaven sporadisch coccidienvormen te zien.

Van experiment 4 zag **R.** bij rat 1 na 11 dagen oocysten en na 18 dagen in darmcoupes intracellulaire coccidienvormen; bij rat 2 op den 13den dag oocysten.

In experiment 5, waarbij *E. stiedae* uit rattenfaeces aan een konijntje werd gevoerd gedurende een week, zag **R.** na 9 dagen oocysten in de faeces.

Uit mijne opmerkingen is gebleken, dat ik den vondst *E. falciformis* en *E. stiedae* bij ratten *(Mus norvegicus)* door **Rudovsky** niet bewezen acht, wegens gebrek aan morphologische beschrijving van de oocysten en de ontwikkelingsvormen, waardoor vergelijking van de bij ratten gevonden coccidien met de coccidien parasiteerende bij muis en konijn mogelijk wordt gemaakt.

Verder maakte **R.** bij zijne proeven gebruik van *E. falciformis(?)* bij *de rat* door hem gevonden.

Overbrengingsproeven van zijne *E. falciformis* soort op muizen werden niet verricht, wat m.i. in de determinatie van de bij de rat gevonden *E. falciformis* een groote leemte is.

Voornamelijk echter acht ik *de proeven* van **R.** *daarom* in 't geheel niet bewijzend, omdat nergens blijkt, dat er met eenige zekerheid kan worden aangenomen, dat de door hem gebruikte proefdieren coccidienvrij waren *vóór* het begin der experimenten.

In Hoofdstuk III heb ik aangetoond, dat zelfs *opsporingsmethoden* nu en dan in den steek laten bij het aantoonen van oocysten, hoeveel te meer moet men dan voorzichtig zijn met de resultaten van een eenvoudig microscopisch onderzoek van faeces levendpreparaten.

Daartegenover staat natuurlijk, dat **Rudovsky** de tegenwoordig in gebruik zijnde methoden nog niet *kon* kennen.

Om experimenteel over de proeven van **R.** een eigen oordeel te kunnen vellen werden de reeds vermelde voederproeven met het rattencoccidium bij coccidienvrije konijntjes door mij verricht.

Daarnaast werden nog door mij tamme en wilde ratten *(M. norvegicus)* volgens onderstaand staatje met *E. stiedae E. perforans,* 3de en 4de vorm **(Waworuntu)** allen afkomstig van konijnen gevoerd, eenige malen achtereen met in alle gevallen een negatief resultaat, zoodat deze bevindingen geheel verschillen met die, welke **R.** bij zijne proeven bedoeld heeft.

TABEL VI.

Rat	Datum Infectie	Infectie materiaal	Onderzoek der faeces met keukenzoutmethode					
			voor de infectie			na de infectie		
			4-1-'24	12-1-'24	20-1-'24	28-1-'24	30-1-'24	6-2-'24
	20-1-'24							
	21-1-'24							
	22-1-'24							
290t.r.			neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
291t.r.			"	"	"	"	"	"
289t.r.		E. stiedae E. perforaus	"	"	"	"	"	"
287M.n.			"	"	"	"	"	"
			5-2-'24	8-2-'24		16-2-'24	20-2-'24	27-2-'24
	8-2-'24							
297t.r.	11-2 '24	3e en 4e vorm (Waw)	neg.	neg.		neg.	neg.	neg.
298t.r.	14-2-'24		"	"		"	"	"
299t.r.			"	"		"	"	"
300t.r.			"	"		"	"	"
296M.n.			"	"		"	"	"

t.r. = tamme bonte rat.
M.n. = Mus norvegicus.

Ook **Waworuntu** kon met dezelfde konijncoccidien geen besmetting bij twee ratten opwekken.

Uit dit hoofdstuk is m.i. theoretisch en experimenteel genoegzaam de soortspecifiteit van het rattencoccidium door mij beschreven, gebleken.

Slechts één onderzoeker, en wel **Ohira** (1912) heeft aan een *Eimeria* gevonden bij ratten, een naam gegeven en wel *E. Miyairii.*

Ik was niet in de mogelijkheid (Hoofdstuk I) om deze verhandeling in handen te krijgen. Alleen was, zooals reeds gemeld, het referaat van **Fukuhara** voor mij toegankelijk.

Gezien het ontbreken van elke morphologische aanduiding van het coccidium in dit referaat, kan dit eveneens geen licht verschaffen.

Reichenow (1920) in zijne coccidienoverzicht in het handboek **Prowazek-Nöller** noch **Wasielewski** (1924) in zijne nieuwere bewerking der coccidien vermelden **Ohira's** werk. Daarbij komt nog dat **Ohira** zijn publicatie in 't Japansch schreef.

In dit verband verwijs ik naar eene opmerking van de bekende Japansche onderzoeker **Koidzumi** (1921), voorkomende in een verhandeling over termietenprotozoa:

> „But these (publicaties over termietenprotozoa) were written in Japanese and were therefore inaccessible to most zoologists and I am, moreover, uncertain wether the names can be regarded as having any status in international nomenclature."

Daarom beschreef K. zijne vroegere reeds gepubliceerde nieuwe soorten weder in 't *Engelsch.*

Voor zoover niet gebleken is dat de *E.* soort van **Ohira** van genoemden schrijver behalve een naam niet tevens een beschrijving ontving, kan ik zooals uit het voorgaande blijkt het door mij beschreven rattencoccidium als een nieuwe *Eimeria*soort beschouwen en stel ik voor haar naar den onderzoeker, die het coccidium het eerst bij ratten in Nederland vond, *Eimeria nieschulzi* te noemen.

HOOFDSTUK VI

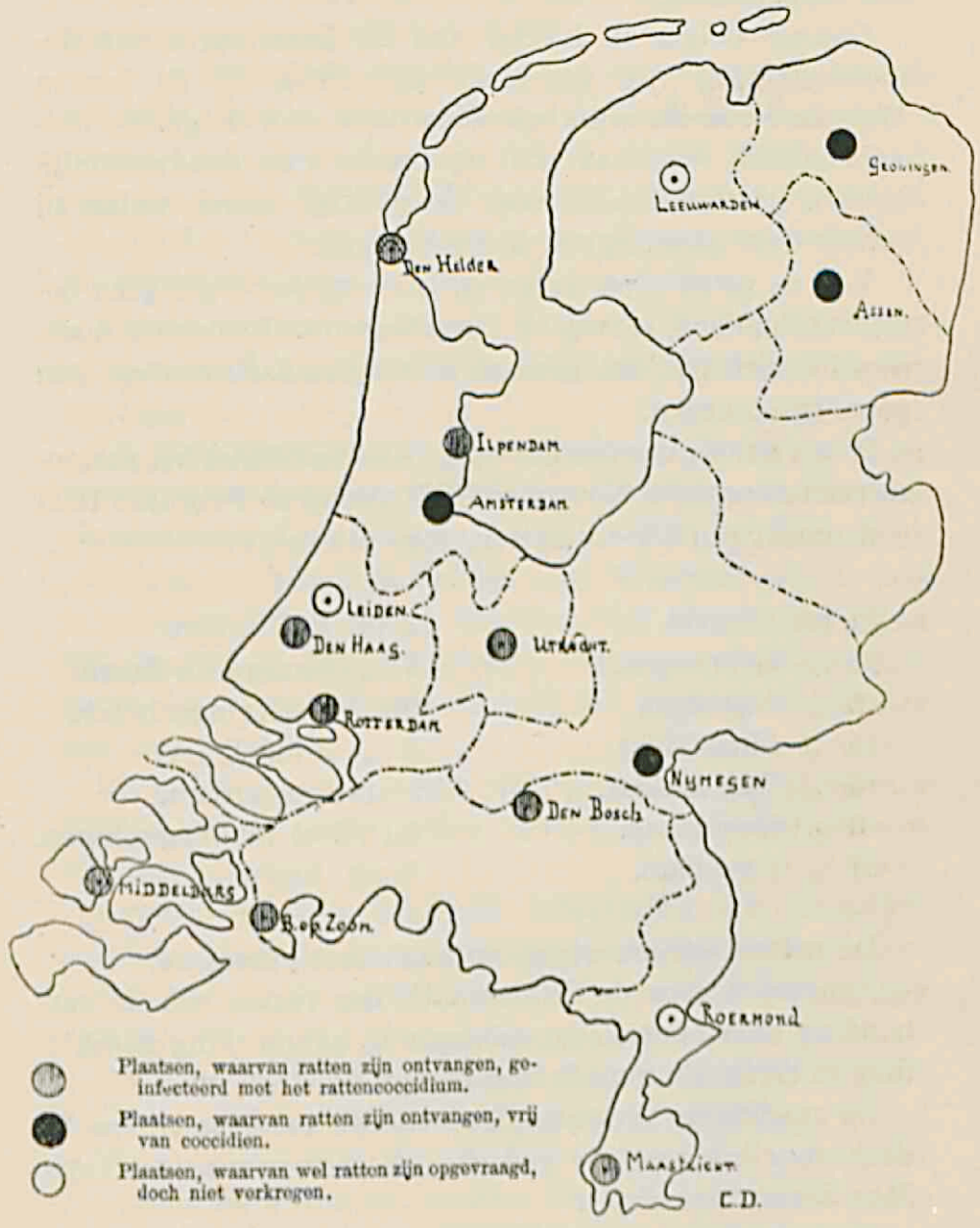
VERSPREIDING VAN HET RATTENCOCCIDIUM IN NEDERLAND.

Zooals onder het Hoofdstuk „Materiaal en Techniek" reeds is medegedeeld, zorgde de heer Wals uit Den Ilp (gem. Ilpendam) met zeer groote welwillendheid voor een zending ratten uit zijne gemeente op het tijdstip, dat door mij reeds anderhalve maand (half November—December 1923) tevergeefs getracht was om uit de omgeving van Utrecht een aantal wilde ratten dood of levend in handen te krijgen.

Aangezien genoemde heer mij zoo behulpzaam tegemoet kwam, besloot ik te trachten uit verschillende streken van ons land wilde ratten op te vragen en te onderzoeken, om zoodoende mij eenigszins een inzicht te vormen in de eventueele verspreiding in Nederland van het in dit proefschrift behandelde rattencoccidium.

Daartoe wendde ik mij d.d. 22 Januari j.l. tot de Directeuren van Gemeentereiniging van Groningen, Leeuwarden, Assen, Nijmegen, Roermond, Maastricht, Bergen op Zoom, 's-Hertogenbosch, Middelburg, Rotterdam, Den Haag, Leiden en den Helder. Voor Amsterdam zeide de heer **Peverelli**, arts, verbonden aan het Hygiënisch Instituut, mij zijne hulp toe. Hij was zoo vriendelijk mij 16 stuks dikke darmen van *Mus rattus* te doen toekomen.

Aangezien echter het jaargetijde schijnbaar invloed uitoefende op het zich vertoonen der wilde ratten, koesterde ik niet veel hoop zendingen uit bovengenoemde gemeenten te ontvangen. Met genoegen echter mocht ik constateeren, dat op 19 Februari j.l. reeds door mij waren ontvangen



Tekstfiguur H.

rattenzendingen uit: Groningen, Nijmegen, Maastricht, Den Helder, Den Haag, Rotterdam, Bergen op Zoom, 's-Hertogenbosch, Middelburg. Ook uit Assen werden ratten toegezonden.

Gaarne betuig ik hierbij aan de Directeuren van Gemeentereiging van genoemde gemeenten en de heeren **Wals** en **Peverelli** mijn beleefden dank voor de groote welwillendheid, waarmede zij mij hunne hulp daadwerkelijk hebben geschonken en voor de noodige spoed, welke zij achter deze aangelegenheid hebben gezet.

Van de gemeenten Assen en Leeuwarden werd geen bericht ontvangen, terwijl de Directeuren te Leiden en Roermond berichtten, dat geen of zeer sporadisch een rat kon gevangen worden.

In het geheel werden door mij in verband met het rattencoccidium vanaf 9 November 1923 tot op 25 Februari 1924 onderzocht een 135-tal ratten, respectievelijk:

11 uit Utrecht.	12 uit Rotterdam.
10 „ Groningen.	7 „ Bergen op Zoom.
2 „ Nijmegen.	10 „ 's Hertogenbosch.
14 „ Maastricht.	2 „ Middelburg.
5 „ Den Helder.	16 „ Amsterdam.
8 „ Den Haag.	6 (witte) uit Wageningen.
27 „ Ilpendam.	5 uit Assen.

De ratten werden direct na aankomst geseceerd.

Aangezien voor de determinatie der ratten ook de verhouding staart- en lichaamslengte in aanmerking komt, is deze in de tabellen mede opgenomen.

De zendingen bestonden gedeeltelijk uit *Mus rattus* L., doch voor het grootste gedeelte uit *Mus norvegicus* (syn. *Mus decumanus Pall*).

De lage maten geven bij de exemplaren *Mus norvegicus* te kennen, dat het jonge dieren waren. Na de sectie werden de faeces van het rectum microscopisch onderzocht in een versch preparaat.

Daarna werd een gedeelte der faeces uit blinden darm

en rectum door middel van de keukenzoutmethode gecontroleerd.

Voor de ratten uit den Helder, Middelburg en Assen werd de glycerine-centrifugemethode gebruikt, toen hiervan de superioriteit was gebleken.

De onderstaande tabellen geven een overzicht van de gezondene ratten, de soort, het geslacht, de bovengenoemde maten en de bevinding van het faecesonderzoek. Van de ratten uit Utrecht werd dit niet opgenomen in deze tabellen, omdat vóór de bewerking van dit proefschrift reeds de coccidieninfecties waren waargenomen.

Uit de tabellen is te lezen, dat het rattencoccidium gevonden werd overwegend bij jonge exemplaren van *Mus norvegicus*.

De mogelijkheid bestaat natuurlijk, dat ik, indien bij het opsporen der oocysten gebruik was gemaakt van de glycerinemethode, meer coccidiumdragers had gevonden.

Ook is het mogelijk, dat het felle vriesweer van invloed is geweest op het aantal infecties. Het is immers bekend, dat meestal bij onze huisdieren, welke aan weidegang gebonden zijn, coccidiosis optreedt bij veel vochtigheid in den zomer.

De negatieve uitkomsten van de zending Groningen is uit den ouderdom der ratten te verklaren, wellicht die van Amsterdam ook.

Experimenteel is door mij aangetoond, dat coccidiuminfecties bij ratten kort duren (4—5 dagen).

Een chronische infectie werd door mij nooit waargenomen.

Dit kan natuurlijk op de uitkomsten van een onderzoek als het mijne toevallig van invloed geweest zijn.

Mijne meening is, dat op den duur overal het rattencoccidium zal gevonden worden. Dat deze conclusie niet als te boud moet worden aangezien, moge m.i. steun vinden in de verspreidheid der vindplaatsen.

Het kaartje (tekstfiguur H.) geeft een goed overzicht hiervan.

Dat **Krediet** (1921) bij zijn onderzoek van 20 ratten

(soort ?) geen coccidiumoocysten aantrof, is m.i. meer te wijten aan eventueelen ouderdom der dieren, dan aan de afwezigheid van het coccidium te Leiden.

Trouwens staat ook nog niet vast of de gebruikte opsporingsmethode (**Bayer**) de door mij aangewende (keukenzout en glycerine) maar eenigermate equivaleert. Merkwaardig mag zeker genoemd worden dat ook **Brug** (1919) bij zijn onderzoek over de *Entamoeba* van de rat geen coccidien vond, evenals **Moll** (1918), bij zijn parasitologisch onderzoek in Winconsin van 25 ratten *(Mus norvegicus)*.

Met nadruk wijs ik op het feit, dat door mij geen enkele maal *E. falciformis* noch *E. stiedae* bij wilde ratten is geconstateerd, terwijl **Rudovsky** bij de 99 onderzochte ratten 35 exemplaren besmet vond met *E. falciformis* en 4 met *E. stiedae.*

TABEL VII.

Rat	No.	Soort	Geslacht	Lich.lengte	Staartlengte	Negatief	Positief	
							zonder keukenzoutmethode	met keukenzoutmethode
	23-1-'24 zending den Ilp							
„	I	M.n.	ml.	22½	18½	—		—
„	II	„	„	21	17	—		—
„	III	„	„	17	13			+ +
„	IV	„	„	16	12			+
„	V	„	„	16½	13	—		—
„	VI	„	„	22	17½	—		—
„	VII	„	„	22	17	—		—
„	VIII	„	„	20	15½	—		—
„	IX	„	„	23	19	—		—
„	X	„	„	19½	17	—		—
	26-1-'24 zending den Ilp							
„	XI	M.n.	ml.	28	22	—		—
„	XII	„	„	27	19½	—		—
„	XIII	„	„	20	18	—		—
„	XIV	„	„	26	21½	—		—
„	XV	„	„	20	16	—		—
„	XVI	„	„	21	16	—		—
„	XVII	„	„	20	16	—		—
„	XVIII	„	„	18	13	—		—
	1-2-'24 zending Groningen							
„	XIX	M.n.	ml.	22	18	—		—
„	XX	„	„	22	18½	—		—
„	XXI	„	„	23	19	—		—
„	XXII	„	„	22	18¾	—		—
„	XXIII	„	„	24	20	—		—
„	XXIV	„	„	20	16	—		—
„	XXV	„	„	19	17	—		—
„	XXVI	„	„	20	17½	—		—
„	XXVII	„	„	25	21	—		—
„	XXVIII	„	„	21	18	—		—

(Vervolg) TABEL VII.

Rat	No.	Soort	Geslacht	Lich.lengte	Staartlengte	Negatief	Positief	
							zonder keukenzoutmethode	met keukenzoutmethode
	1-2-'24 zending Amsterdam uit het Hygiënisch Instituut; ingewanden van Mus rattus No. XXIX—XXXXIV					—		—
	2-2-'24 zending den Haag							
„	XXXXV	M.n.	ml.	20	18	—		—
„	XXXXVI	„	„	22	19	—		—
„	XXXXVII	„	„	23	19	—		—
„	XXXXVIII	„	„	20	18	—		—
„	XXXXIX	„	„	19	16		+	+ +
„	L	„	„	18½	15	—		—
„	LI	„	„	23	19½	—		—
„	LII	„	„	21	19		+	+
	2-2-'24 zending Rotterdam							
„	LIII	M.n.	ml.	22½	19	—		—
„	LIV	„	„	23½	21½	—		—
„	LV	„	„	23½	20	—		—
„	LVI	„	„	21	18	—		—
„	LVII	„	„	22	20	—		—
„	LVIII	„	„	22	17½	—		—
„	LIX	„	„	20	17	—		—
„	LX	„	„	12½	9½		+ +	
„	LXI	„	„	12½	10		+ +	
„	LXII	„	vr.	12	9½		+ +	
„	LXIII	„	„	12	9		+ +	
„	LXIV	„	ml.	10	7	—		+
	2-2-'24 zending Maastricht							
„	LXV	M.n.	ml.	17	15		+ +	
„	LXVI	„	„	14	11½		+ +	
„	LXVII	„	„	17	13	—		—
„	LXVIII	„	„	16	14	—		—

(Vervolg) TABEL VII.

Rat	No.	Soort	Geslacht	Lich.lengte	Staartlengte	Negatief	Positief	
							zonder keukenzoutmethode	met keukenzoutmethode
„	LXIX	M.n.	ml.	19	16½	—		—
„	LXX	„	„	20	17½	—		—
„	LXXI	„	„	18	16	—		—
„	LXXII	„	„	21	14	—		—
„	LXXIII	„	„	19	16	—		—
„	LXXIV	„	„	21	18	—		—
„	LXXV	„	„	19	16	—		—
„	LXXVI	„	„	19	16½	—		—
„	LXXVII	„	„	19½	17	—		—
„	LXXVIII	„	„	14	10½		+	
	4-2-'24 zending Bergen op Zoom							
„	LXXIX	M.n.	ml.	15	11	—		—
„	LXXX	„	„	14½	11			+
„	LXXXI	„	„	20	15½	—		—
„	LXXXII	„	„	21½	18	—		—
„	LXXXIII	„	„	25	21	—		—
„	LXXXIV	„	„	22	19	—		—
„	LXXXV	„	„	24	20½	—		—
	7-2-'24 zending 's Hertogenbosch							
„	LXXXVI	M.n.	ml.	23½	21	—		—
„	LXXXVII	„	„	22	19½	—		—
„	LXXXVIII	„	„	22	19½			+
„	LXXXIX	„	„	19	15	—		—
„	XC	„	„	17	14¾	—		—
„	XCI	„	„	20	17¼	—		—
„	XCII	„	„	26	22½	—		—
„	XCIII	„	„	24	20¼	—		—
„	XCIV	„	„	22½	17½	—		—
„	XCV	„	„	24½	19½	—		—

(Vervolg) TABEL VII.

Rat	No.	Soort	Geslacht	Lich.lengte	Staartlengte	Negatief	Positief	
							zonder keukenzoutmethode	met keukenzoutmethode
	9-4-'24 zending Nijmegen							
„	XCVI	M.n.	ml.	21	17	—		—
„	XCVII	„	„	21	17	—		—
	13-2-'24 zending Wageningen							
	6 bonte ratten No. XCVIII t/m CIII					—		—
	14-2-'24 zending den Ilp							
„	CIV	M.n.	ml.	23½	20½	—		—
„	CV	„	„	20	25½	—		—
„	CVI	„	„	25½	21	—		—
„	CVII	„	„	23½	18½	—		—
„	CVIII	„	„	25	20½	—		—
„	CIX	„	„	20	15½	—		—
„	CX	„	„	23	20	—		—
„	CXI	„	„	26	21½	—		—
„	CXII	„	„	25	21	—		—
	15-2-'24 zending Middelburg							
„	CXIII	M.n.	ml.	20	16½	—		+
„	CXIV	„	„	23	19½	—		—
	19-2-'24 zending den Helder							
„	CXV	M.n.	ml.	22	18	—		—
„	CXVI	„	„	20	17½	—		—
„	CXVII	„	„	16	16	—		+
„	CXVIII	„	„	14	13½	—		+ +
„	CXIX	„	„	13	13	—		—
	23-2-'24 zending Assen							
„	CXX	M.n.	ml.	26½	23½	—		—
„	CXXI	„	„	23	20	—		—
„	CXXII	„	„	23½	19½	—		—
„	CXXIII	„	„	22	18	—		—
„	CXXIV	„	„	23½	19	—		—

RECAPITULATIE

Bij wilde ratten (Mus norvegicus en Mus rattus) komt in Nederland een coccidium voor, waarvan de endogene ontwikkelingsvormen gelocaliseerd zijn in het dundarmkanaal en verder in blinden darm en colon.

De oocysten van dit coccidium hebben een biconische vorm of zijn ook wel eivormig en toegespitst naar beide polen. (Plaat I, fig. 2a, 2b en 3).

Ronde exemplaren komen zelden voor. De lengten en breedten varieeren resp. van 18—26 μ en van 14—20 μ.

Gemiddelde vormindex 0.84 (Tabel II).

Cystemembraan is dubbelgecontoureerd.

In gunstige gevallen is zoowel aan den binnen- als aan den buitenkant van de oocyste nog een begrensde zône te zien (Plaat II, fig. 27).

De kleur van de cystemembraan is op optische doorsnede geelachtig. Het medium, waarin de protoplasma-bol zweeft, is meer kleurloos.

Een micropyle kan *niet* worden waargenomen.

Sporogonie:

Voor het bestudeeren is gebruik gemaakt van oocysten, verzameld met de suikermethode (Sheather). Voordeelen; intact blijven der oocysten, helder gezichtsveld, geen beïnvloeding sporulatietijd.

Na een ½ uur is het protoplasma van de versche oocyste tot een bol samengetrokken. (Plaat I, fig. 4).

De sporulatie verloopt dan verder *in groote trekken*, zooals door Metzner (1903) voor *E. stiedae* is aangegeven.

Na ruim een dag verschijnt dwars door den sporont een heldere streep (Plaat I, fig. 5), welke misschien wijst op een chromosomenconjugatie na de bevruchting (Reichenow 1921). Veelal is het, alsof een klein lichaampje de sporont verlaat (Plaat II, fig. 6 en 7). (Reductiedeeling?).

De sporont wordt spoedig onregelmatig (Plaat II, fig. 9) en treden aan vier hoeken lichte korrels op, waarna de vorm verder meer rechthoekig wordt, om over te gaan in het z.g. „Buckel"- of „insnoeringsstadium". (Plaat II, fig. 12—13).

De insnoeringen verdiepen zich en we zien nu *vier dochterbollen* gevormd (Plaat II, fig. 14), waarna in elken bol een lichte korrel verschijnt (Plaat II, fig. 15), die den top uitbeeldt van de *stompe* doorzichtige pyramide, die zich aan elken bol vormt. (Plaat II, fig. 16).

Deze pyramiden trekken zich weder iets terug (Plaat II, fig. 17),

en is het door onderzoeker geobserveerde *„pseudopyramidenstadium"* afgeloopen.

Dan strekken de pyramiden zich weer en vormen het reeds lang bekende (Pfeiffer) *„pyramidenstadium"*. Plaat II, fig. 18 en 19).

Bij terugtrekken der pyramiden kon het uitstooten van het „lichaampje van Schneider" niet worden waargenomen, *eens slechts*, en dan nog zeer onvolkomen (Plaat II, fig. 20), evenals de verbinding, welke eenigen tijd zou blijven bestaan tusschen bedoeld lichaampje en de terugtrekkende pyramide (Plaat II, fig. 21).

Na *afronding der sporoblasten* (Plaat II, fig. 22) krijgen we strekking en meer ovaal worden (Plaat II, fig. 23, 24 en 25) totdat er symptomen optreden van de vorming der *sporozoieten* in de *sporocysten*. (Plaat II, fig. 26—27).

De geheele sporulatie is in circa 3½ dag volbracht.

Zoowel bij de deeling in sporoblasten als in sporozoieten, treedt een *restlichaam* op. Bij de laatste deeling is het belangrijk grooter (Plaat II, fig. 24 en 29).

De sporozoieten verlaten in den gastheer binnen 1 uur de sporocyste, daarna de oocyste en dringen in een epitheelcel. (Plaat III, fig. 35).

De sporozoieten zijn in het bezit van twee duidelijk omschreven reservestofvacuolen. Daartusschenin ligt de kern, opgebouwd uit een kernmembraan, een centrisch of excentrisch gelegen binnenlichaam en uit chromatine als brokjes tegen den binnenwand van de kernmembraan liggend. (Plaat III, fig. 31 t/m 34).

Achter de groote achterste vacuole is bij de kleuring van Heidenhain steeds een donkere korrel te zien, welke bij de kleuring van Delafield zich als een verdikking van de sporozoietmembraan voordoet.

Het protoplasma van het vooreinde is bijna structuurloos. (Plaat III, fig. 31 en 32). Gemiddelde lengte en breedte resp. 13.4 μ en 2¼ μ.

Schizogonie en *Gamogonie*.

Na drie dagen is reeds de 1e schizogoniegeneratie aanwezig (bundels en vrij merozoieten). De bundels zijn als een sinaasappel geconstrueerd of spiraalvormig gewonden). Plaat III, fig. 43). Restlichaam is niet opgemerkt.

De *merozoieten* zijn zeer veelvormig en varieeren in lengte van 7.5 tot ruim 26 μ en in breedte van 1.5—1.8 μ, met alle mogelijke tusschenvormen.

Dat de verschillende grootten zouden wijzen op geslachtelijke differentiatie, is nergens uit op te maken. Het bestaan van alle tusschenvormen maakt haar zelfs onwaarschijnlijk (vergelijke Schellack 1913).

De lange merozoieten bezitten veelal onder de kern een aantal korrels (niet meer dan vier; volutine?).

De *schizonten*, *micro-* en *macrogametocyten* komen met de nieuwere onderzoekingen (Nieschulz, Waworuntu) over andere Eimeria-soorten overeen. (Plaat III, fig. 36 t/m 41, 66 t/m 71 en 75 t/m 79).

De vrije *microgameten*, lang gem. 5¾ μ, breed 0.7 μ hebben 2 vrije zweepdraden en op de plek, waar deze ontspringen, een korrel (kleuring Heidenhain). (Plaat III, fig. 72 t/m 74).

Bij de H.-kleuring blijkt het microgametenlichaam niet homogeen van structuur te zijn.

De overheerschende kernbouw van schizonten, merozoieten, macrogametocyten en macrogameten is een binnenlichaam, met een daaromheen kap- of halvemaanvormig, soms ringvormig, gerangschikt chromatinecomplex, verder een kernsapzône en een onduidelijke kernmembraan. (Plaat III, fig. 39, 55, 65).

De ontwikkelingsduur van sporozoiet tot oocyste neemt precies 8 dagen in beslag.

Het rattencoccidium kon niet op andere knaagdieren t.w. *muis*, *cavia* en *konijn* (zie tabellen) worden overgebracht.

Wel kon dit van *Mus norvegicus* op *Mus rattus* en omgekeerd en van beide op de tamme witte en bonte rat.

Door experimenteel onderzoek (infectieproeven) en vergelijking der morphologische eigenschappen moet het rattencoccidium worden onderscheiden van de andere bekende knaagdiercoccidien en als een *nieuwe* soort worden aangezien.

Voorgesteld wordt de naam *Eimeria nieschulzi n.sp.*

Ohira (1912) gaf een door hem bij ratten gevonden Eimeria den naam *E. Miyairii*.

De in het Japansch geschreven publicatie was echter niet toegankelijk voor onderzoek en uit het referaat van Fukuhara is niet op te maken of deze soort morphologisch gekarakteriseerd is.

Rudovsky (1922) zegt bij wilde ratten (*Mus norvegicus*) gevonden te hebben *E. stiedae* en *E. falciformis*. Bij mijn materiaal kon ik dit niet.

Eveneens konden de resultaten van zijne proeven, welke trachtten te bewijzen, dat de coccidien van de wilde rat op het konijn overgaan, en omgekeerd, niet bevestigd worden.

Het ontbreken van een goede morphologische beschrijving van de door R. bij *Mus norvegicus* gevonden coccidien en het absoluut afwezig zijn van waarborgen, dat de gebruikte proefdieren coccidienvrij waren, geven de proeven van R. een zeer betrekkelijke waarde. (R. kon de opsporingsmethoden nog niet kennen).

Onderzoeker kon het rattencoccidium *niet* op konijnen overbrengen evenmin als de bekende konijncoccidia op wilde ratten (*Mus*

rattus en *Mus norvegicus*), zoodat R.'s bewering, dat de wilde rat zeer waarschijnlijk optreedt als oorspronkelijke gastheer van de konijncoccidien en verder ook als verspreider ervan, door hem niet kan bevestigd worden.

Een systematisch onderzoek der voornaamste opsporings- en verzamelmethoden voor coccidien (Nöller-Otten 1921, Schuchmann-Kieffer 1922, Vajda 1922, Sheather 1923), deed zien, dat voor den praktijk de *keukenzoutmethode* van Nöller-Otten ruimschoots voldoet en goedkoop en gemakkelijk werkt en dat de *waterglasmethode* van Schuchmann-Kieffer geen voordeelen biedt.

Voor fijner diagnostisch werken is de *suikermethode* van Sheather doch vooral de *glycerinemethode* van Vajda (centrifuge) aan te bevelen. (Tabel I).

Deze laatste geeft wel het beste, tot nu toe bereikbare resultaat, terwijl zoowel de suikeroplossing als de glycerine media zijn, waarin de oocysten zeer weinig te lijden hebben.

Bij onderzoek aan ongunstig materiaal (veel oude ratten) en in ongunstig jaargetijde (winter) kon toch aangenomen worden, dat het rattencoccidium in Nederland zeer verspreid is, omdat alle jonge wilde ratten zoowel *M. rattus* als *M. norvegicus* geïnfecteerd bleken.

SUMMARY

In wild rats (Mus norvegicus and Mus rattus), the author found a coccidium, the development-stages of which are localized in the small intestine and further in the caecum.

The oöcysts of this coccidium have a biconic shape or are sometimes egg-shaped and tapered to both polis. (Pl. I, fig. 2a, 2b and 3).

Round specimens seldom occur.

Length and breadth are varying resp. between 18—26 μ and 14—20 μ.

The average shape-index is 0,84 (Table II).

The cyst-wall consists of two layers.

Moreover, when occasion serves, at the outside as well as at the inside of the wall a limited zone may be seen, so that it seems as if there are four layers. (Plate II, fig. 27).

The cyst-membrane is yellowish in optical section.

The medium in which the protoplasm-globule floats is more colourless.

A micropyle is not to be seen.

Sporogony.

For this study, oöcysts are taken, gathered with the „sugar-floatation-method (Sheather).

Advantages; oöcysts remain intact, clear field of observation, no influence of sporulation-time.

After half an hour, the protoplasm of the new oöcyst has contracted into the shape of a globule (Plate I, fig. 4).

The sporulation continues on the whole as Metzner (1903) has indicated for *E. stiedae*.

After a little more than one day a clear line appears right across the sporont along the length-axe (Plate I, fig. 5) which perhaps points to a chromosomes-conjugation after the fertilization. (Reichenow 1921).

Very often it is as if a little body leaves the sporont (Plate II, fig. 6 and 7) (nuclear reduction?).

The sporont soon becomes irregular (Plate II, fig. 9) and bright granules appear at four corners; after this the outline becomes more right-angular, and grows into the so-called „Buckel"- or „stringed"-stage (Plate II, fig. 12—13).

The grooves deepen and now we see that four daughter-globules have been formed (Plate II, fig. 14) after which a bright granule

appears in each globule (Plate II, fig. 15), which builds up the top of the obtuse-angled, transparant pyramid, which is formed on each globule (Plate II, fig. 16).

These pyramids diminish a little (Plate II, fig. 17) and the *„pseudopyramid-stage"* observed by author is finished.

Then the pyramids increase and form the *„pyramid-stage"*, well known for already a long time (Pfeiffer) (Plate II, fig. 18—19).

During the diminishing proces of the pyramids the throwing off of the „body of Schneider" could not be observed, *only once* and that very insufficiantly (Plate II, fig. 20) just as the communication, which is said to hold for some time between the body mentioned before and the diminishing pyramid (Plate II, fig. 21).

After the sporoblasts having become more spherical (Plate II, fig. 22) we observe growing more lengthwise and a tendency to assume the oval (Plate II, fig. 23, 24, 25) till symptoms appear that sporozoites arise in the sporocysts (Plate II, fig. 26—27).

The entire sporulation is accomplished in about three days and a half.

As well as along with the partition into sporoblasts as in sporozoites a residue remains.

With the last partition it is considerably larger (Plate II, fig. 24 and 29).

In the host the sporozoites leave the sporocyst within one hour, then the oöcyst and enter an epithelial-cell. (Plate III, fig. 35).

The sporozoites possess two clearly visible vacuols for reserve-food. Between it lies the nucleus, consisting of a nuclearmembrane, a centric or excentric situated inner-body, and chromatin, lying against the inner-wall of the nuclearmembrane like so many small pieces. (Plate III, fig. 31 t/m 34).

Behind the large vacuole lying at the back when using the staining of **Heidenhain** a dark granule is always to be seen, which with the staining of **Delafield** has this effect; a thickening of the sporozoite-membrane.

The protoplasm at the fore-most end has hardly any structure at all. (Plate III, fig. 31—32).

Average length and breadth resp. 13.4 μ and 2¼ μ.

Schizogony and gamogony.

After three days the first schizogony-generation has already accomplished (bundles and free merozoites).

The bundles are constructed like an orange or wound up spiral-like (Plate III, fig. 43).

Residue is not observed.

The merozoites have many forms and vary in length from 7.5—26 μ and breadth from 1.5—1.8 μ with all possible intermediary shapes.

Nothing leads us to draw the conclusion that the differences in size might point to sexual differentiation.

The existance of all these intermediary shapes makes it even improbable (c.f. Schellack 1913).

The long merozoites very often possess under the nucleus a numbre of granules (not more than four; volutin?).

The schizonts, micro- and macrogametocyts agree with the latest investigations about other *Eimeria*-species (Nieschulz, Waworuntu) (Plate III, fig. 36—41, 66—71, 75—79).

The free microgametes, length av. 5¾ μ, breadth 0.7 μ have two free flagella and on the spot, where they begin, there is a granula (staining Heidenhain) (Plate III, fig. 72—74).

When experimenting with H.-staining, it proves that the microgamete-body is not of a homogeen structure.

The predominant structure of the nucleus of schizonts, merozoites macrogametocytes and macrogametes is like this: an inner-body, lying round this a chromatin-complex, built up in the form of a roof, crescent, or sometimes of a ring; further we find an indistinct nuclearmembrane (Plate III, fig. 39, 55, 65).

The period of development from sporozoite to oöcyst takes exactly 8 days.

The rat-coccidium cannot be transferred to other rodent-animals, as mouse, cavia and rabbit (c.f. tables).

It was possible however from Mus norvegicus to Mus rattus and vice versa and from both to the tame white and spotted rat.

By experimental investigations (infectiontests) and a comparison of the morphological qualities the rat-coccidium must be distinguished from the other well-known rodentia-coccidia and must be looked upon as a new species.

We suggest the name: „*Eimeria nieschulzi*" n.sp.

Ohira (1912) called an Eimeria found by him in rats; *E. Miyairii*. However the publication, written in the Japan language was not to be had for inquiry and whether this species has morphological characteristics cannot be gathered from the summary of Fukuhara.

Rudovsky (1922) says, he found in wild rats (Mus norvegicus) E. stiedae and E. falciformis. My material did not show them.

Also the results of his tests which tried to prove that the coccidia of the wild rat pass on to the rabbit and vice-versa could not be affirmed.

As R. does not give any morphological description of the coccidium found in *Mus norvegicus* and as there are no guarantees that the test-animals he took were without coccidia the investigations of R. have a very relative value.

(R. could not yet known the detection-methods).

Author could not transfer the rat-coccidium on to rabbits, nor could he do this with the well-known rabbit-coccidia to wild rats

(M. rattus and M. norvegicus), so that R.'s statement that the wild rat most probably acts as original host of the rabbit-coccidia and further also as spreader of same cannot be affirmed.

A systematic investigation of the principal detection- and gathering-methods for coccidia (Nöller-Otten 1921, Schuchmann-Kieffer 1922, Vajda 1922, Sheather 1923) showed that for practical purposes the „salt-method" of Nöller-Otten is more than sufficiant, moreover cheap and easy and that the „waterglass-method" of Schuchmann-Kieffer offers no advantages.

For more exact diagnostic purpose the „sugar-method" of Sheather, but especially the „glycerine-method" of Vajda (centrifuge) is to recommended (Table I).

The lather certainly offers the best result obtained up to now, while the sugar-solvation and the glycerine are media in which the oöcysts will not easily suffer from damage.

When using for investigation unfavourable material (many old rats) and in unfavourable season (winter) it could still be taken for granted that the rat-coccidium in Holland is spread all over the country, because all young wild rats, M. rattus as well as M. norvegicus proved to be infected.

LITTERATUUR-OVERZICHT

Allen, J. A. (1922), The application of Vajdas methode to the examination of fox faeces.
Journal of the Amer. Vet. Med. Assoc. New. Ser. Vol. 15, nr. 3, Blz. 349—353.

Balbiani (1884), Leçons sur les sporozoaires. Paris 1884.

Baranski (1879), Psorospermien der Haussäugethiere.
Oesterr. Vierteljahrsschrift für Wissenschaftl. Veterinärkunde. Bd. LI. 1879.

Blieck, L. de en J. B. Douwes (1920), Coccidien infectie bij het rund.
Tijdschrift voor diergeneeskunde. Deel 47, Blz. 139—148.

Brug, S. L. (1919), De Entamoeba van de rat.
Geneesk. Tijdschrift voor Ned.-Indië. Deel 59, nr. 4, Blz. 577—592.

Brumpt, E. (1922), Précis de Parasitologie. 3e éd. pag. 127—134.

Brugge en Heinke (1921), Ueber das Vorkommen von Coccidien beim Meerschweinchen.
D.t.W. Blz. 41.

Castellani, A. and A. Chalmers (1913), Manual of tropical medicine. 2e ed. Blz. 419 t/m 429.

Clarke, J. Jackson (1895), A study of coccidia met with in mice.
Quaterly Journal of Micr. Sc. Vol. 37. N.S.P. 277—303.

Cole, L. J. en Hadley (1910), Blackhead in Turkeys. A study in avian coccidiosis.
Agric. exp. station. Rhode Islands State College. Kingston Bulletin 141.

Doflein, F. (1916), Lehrbuch der Protozoenkunde.
Blz. 815—882.

Douwes, J. B. (1920), Coccidien van het schaap en het varken.
Tijdschrift voor diergeneesk. Deel 47.

Douwes, J. B. (1921), Bijdrage tot de kennis van darmprotozoen bij huisdieren in het bijzonder bij schaap en varken.
Proefschrift V.H. Utrecht.

Eimer, Th. (1870), Ueber die ei-oder kugelförmigen sogenannte Psorospermien der Wirbelthiere. Würzburg, 1870.

Fantham, H. B. (1910), Espermimental studies on avian coccidiosis, especially in relation to young grouse, fowls and pigeons.
Proc. Zool. Soc. of London. Blz. 708.

Fiebiger, J. (1913), Studien über die Schwemmblasencoccidien der Gadus arten (Eimeria gadi n.sp.) Arch. f. Protistenk. Bd. 31 S. 95 t/m 137.

Fülleborn, F. (1920), Neuere Methode zum Nachweis von Helmintheneiern.
Arch. f. Sch. u. Tropenhyg. Bd. 24. S. 174—176.

Fülleborn, F. (1922), Bemerkungen zu der Arbeit von Dr. M. Hobmaier und cand. med. vet. P. Taube über „Die Kochsalzmethode bei Untersuchung auf Haustierparasiten".
B.t.W. Jg. 38 no. 7. S. 74—75.

Galli-Valerio (1905), Einige Parasiten von Arvicola nivalis.
Zool. Anz. Bd. 28. Blz. 519—523.

Idem (1919), Notes de Parasitologie et technique parasitologique III.
Schweizer Archiv f. Tierheilkunde. Bd. 61. Blz. 294.

Idem (1922), Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologische Technik no. 3. Eimeria sciurorum n.sp.
Centralbl. f. Bact. Paras. u. Inf. 2te Abt. Bd. 56. S. 344—348.

Idem (1923), Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik no. 6. Ueber einige Darmparasiten von Arctomis marmota.
Centralbl. f. Bact. Paras. u. Inf. 1te Abt. Orig. Bd. 91. H. 2. S. 120—126.

Grassi, B. (1888), Signigicato patologico dei protozoi parassiti del l'uomo.
Atti della Reale Accademia dei Lincei. Anno CCLXXXV. 1888. Vol. IV 1e Sem. P. 83 t/m 89.

Hadley, Th. (1910), Studies in avian coccidiosis III. Coccidiosis in the English sparrow and other birds.
Centralbl. f. Bakt. Paras. und Inf. 1te Abt. Orig. Bd. 56. S. 522.

Hadley, Th. (1911), Eimeria avium: A morphological study.
Arch. f. Protistenk. Bd. 23. S. 7—51.

Hall, M. C. (1916), Nematode parasites of mammals of the orders Rodentia, Lagomorpha and Hyracoidea.
Proc. of the U.S. National Museum. Blz. 32.

Hartmann, M. en C. Schilling (1917), Die pathogenen Protozoen.
Berlin. Blz. 389—407.

Hobmaier, M. und cand. med. vet. P. Taube (1921), Die Kochsalzmethode bei Untersuchung auf Haustierparasiten.
B.t.W. Jg. 37, no. 44. S. 521—522.

Hobmaier, M. (1922), Erwiderung auf die vorstehende Ausführung von Prof. Fülleborn.
B.t.W. Jg. 38, no. 7. S. 75.

Hutyra, F. und F. Marek (1923), Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. 2ter Teil.

Ihle, J. E. W. (1920), Eenige hoofdzaken der zoologische nomenclatuur.
Tijdschr. voor diergeneesk. Dl. 47. Blz. 758—762.

Kauffmann (1847), Analecta ad tuberculorum et entozoorum cognitionem. Diss. inaug. Berolini, p. 18.

Kofoid, C. A. and M. A. Barber (1919), Rapid method for detection of ova of intestinal parasites in human stools.
Journal Amer. med. Ass. Vol. 71, no. 19. P. 1557—1561.

Koidzumi, M. (1921), Studies on the intestinal protozoa found in the termites of Japan.
Parasitology. Vol. 13, no. 3. Blz. 244.

Kolle, W. und A. v. Wassermann (1913), Handbuch der pathogenen Microorganismen. Bd. 7. S. 711—724.

Krediet, G. J. (1921), Over het voorkomen van Protozoencysten en ontwikkelingsvormen van coccidien in den darm van mensch en enkele dieren.
Ac. pr. Leiden.

Lee-Mayer (1910), Grundzüge der Mikroskopischen Technik für Zoologen und Anatomen, 4te Aufl. Berlin, 1910.

Léger, L. et E. Hesse (1922), Coccidies d'oiseaux palustres. Le genre Jarrina. n.g. (Note).
C.R. hebd. des Séances de l'Ac. des Sc. 174, P. 74.

Léger, L. et A. Ch. Hollande (1922), Coccidie de l'intestin de l'anguille.
C.R. hebd. des Sc. de l'Ac. des Sc. P. 999—1002.

Lerche, M. (1921), Die Coccidiose des Schafe.
Archiv f. Protistenk. Bd. 42. H. 3. S. 380—399.

Leuckart, R. (1879—1886), Die Parasiten des Menschen und die von ihnen herrührenden Krankheiten. 2te Aufl. Leipzig und Heidelberg. S. 254—287.

Leuckart, R. (1886—1901), Die Parasiten des Menschen u.s.w. Bd. II. 2te Aufl. Winter Leipzig.

Lieberkühn, N. (1854), Ueber die Psorospermien.
Müller's Archiv Jg. 1854. S. 7.

Lühe, M. (1900), Ergebnisse der neuesten Sporozoenforschung.
Centralbl. f. Bakt. Paras. und Inf. Bd. 27. S. 367—385.

Mayer, P. (1920), Zoomikrotechniek. Ein Wegweiser für Zoologen und Anatomen.

Metzner, R. (1901), Untersuchungen an Megastoma entericum Grassi aus dem Kaninchendarm.
Zeitschr. f. wissensch. Zoologie. LXX. Blz. 299.

Idem (1903), Untersuchungen an Coccidium cuniculi. 1r Teil.
Arch. f. Protistenk. 2ter Bd. S. 13—73.

Moll, A. M. (1918), Animal parasites of rats at Madison Wisconsin.
Journal of parasitology. Vol. 4. P. 89.

Moroff, Th. und **J. Fiebiger** (1905), Ueber Eimeria subepithelialis n.sp.
Arch. f. Protistenk. Bd. 6. S. 167—175.

Nederveen, H. J. van (1923), Coccidien bij het gezonde rund.
Tijdschr. voor vergel. geneesk. Dl. IX, Afl. 1—2. Blz. 151—160.

Neveu-Lemaire (1908), Parasitologie humaine. P. 187 t/m 194.

Idem (1912), Parasitologie des animaux domestiques. P. 212—228.
Lamarre Paris.

Nieschulz, O. (1921), Beiträge zur Kenntnis der Gattung Eimeria I, Ueber das Taubencoccid.
Archiv f. Protistenk. Bd. 44. S. 71—82.

Idem (1922), Over de benaming van de verschillende ontwikkelingsstadia der coccidien.
Tijdschr. voor diergeneesk. Dl. 49, afl. 8.

Idem (1923), Ueber Hasenkokzidien (Eimeria leporis n.sp.).
D.t.W. Jg. 31. Blz. 245—247.

Idem (1924), Bijdrage tot de morphologie van het geitencoccodium. Tijdschr. voor diergeneesk. Dl. 51, afl. 1. Blz. 19—26.

Idem (1924a), Over een geval van Eimeria-infectie bij een kat. (Eimeria felina n.sp.). Tijdschr. voor diergeneesk. Dl. 51, afl. 4.

Nöller, W. (1920), Kleine Beobachtungen an parasitischen Protozoen (zugleich vorläfige Mitteilung über die Befrüchtung und Sporogonie von Lankesterella minima Chaussat). Archiv f. Protistenk. Bd. 44. S. 169—189.

Nöller, W. und cand. med. vet. Otto Frenz (1922), Zur Kenntnis des Ferkelkokzids und seiner Wirkung. D.t.W. Jg. 30, no. 1. S. 1—4.

Nöller, W. und L. Otten (1921), Die Kochsalzmethode bei der Untersuchung der Haustierkokzidien. B.t.W. Jg. 37, no. 41. S. 481—483.

Ohira (1913), Ein Beitrag zur Kokzidienforschung. Ueber ein bei Ratten gefundenes Kokzidium (Eim. Miyairii). Mitt. d. med. Gesellsch. Tokio Bd. 26. H. 17. Ref.: Fukuhara. Centralbl. f. Bakt. Paras. und Inf. Abt. 1. Bd. 58.

Olt, A. und D. A. Ströse (1914), Die Wildkrankheiten und ihre Bekämpfung. Neudamm, 1914.

Otten, L. (1922), Die Kochsalzmethode bei der Untersuchung der Haustierkokzidien. Inaug. Diss. Berlin.

Pachinger, A. (1886), Mitteilung über Sporozoen. Zool. Anzeiger. Bd. 9. Blz. 471—472.

Pfeiffer, L. (1891), Die Protozoen als Krankheitserreger sowie die Zellen und Zellkernparasitismus derselben bei nicht bacteriellen Infektionskrankheiten des Menschen. Blz. 44—69. Jena. 1891.

Pfeiffer, R. (1892), Beiträge zur Protozoen-Forschung (mit microphotogrammen). 1tes Heft. Die Coccidienkrankheit der Kaninchen. Berlin, 1892.

Prell, H. (1921), Zur Theorie der sekretorischen Ortsbewegung, I. Die Bewegung der Cyanophyceen. Archiv f. Protistenk. Bd. 42. S. 99—157.

Quiart, J. (1910), Parasitologie. P. 196—205.

Railliet, A. (1895), Traité de Zoologie médicale. Paris, 1895.

Rautmann (1915), Ein Beitrag zur Kokzidiose der Hasen. B.t.W. Jg. 23. S. 193—194.

Reich, F. (1913), Das Kaninchencoccid. Eimeria stiedae. Archiv f. Protistenk. Bd. 28. S. 1—44.

Reichenow, E. (1921), Die Hämococcidien der Eidechsen, I. Teil. Archiv f. Protistenk. Bd. 43. S. 179—291.

Idem, Die Coccidien. Handbuch der pathogenen Protozoen von Prowazek-Nöller. Bd. 3. S. 1136—1277. A. Barth, Leipzig.

Rieck, M. (1889), Sporozoen als Krankheitserreger bei Hausthieren. Deutsche Zeitsch. f. Thiermedicin und vergl. Pathologie. Bd. 14. S. 52—95.

Rubner, M., M. von Gruber und M. Ficker, Handbuch der Hygiene. 5ter Bd. 3te Abt. S. 135—145.

Rudovsky, Fr. (1922), Die Kokzidiose der Wanderratte (Mus decumanus Pall) und ihre Beziehung zur Kaninchenkokzidiose. Centralbl. f. Bakt. Par. und Inf. 1te Abt. Orig. Bd. 87. S. 427.

Idem (1923), Bericht über die wissenschaftliche Sitzung am 19. März 1923 von der Gesellschaft der Tierärzte, in Wien. W.t. Monatsschrift Jg. X März 1923. S. 137—144.

Schaudinn, Fr. (1900), Untersuchungen über die Generationswechsel der Coccidien. Zool. Jahrb. Abt. Anatomie und Ontogenie der Thiere. Bd. 13, S. 197—294.

Idem (1902), Studien über Krankheitserregende Protozoen. I. Cyclospora caryolitica. Arb. a.d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 13. S. 378.

Schellack, C. und E. Reichenow (1913), Coccidien-Untersuchungen. I. Barrouxia schneideri. Arb. a.d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 44. H. 1. S. 30.

Schellack, C. (1914), Coccidien-Untersuchungen. II. Die Entwicklung von Adelina dimidiata, einem coccidium aus Scolopendra cingulata Latr. Arb. a.d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 45. S. 269—317.

Schewiakoff, W. von (1894), Ueber die Ursache der fortschreitenden Bewegung der Gregarinen.
Zeitschr. f. wissensch. Zoologie. Bd. 58. S. 340—355.

Schuchmann und Kieffer (1922), Ueber den Nachweis von Parasiteneiern im Kote der Hausthiere (Vorläufige Mitteilung).
B.t.W. Jg. 38, no. 17. S. 220—221.

Idem (1922b), Ueber den Nachweis von Parasiteneiern im Kote der Haustiere.
B.t.W. Jg. 38, no. 31. S. 357—360.

Schouten, S. L. (1905), Reinkulturen aus einer unten dem Mikroskop isolierten Zelle.
Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk. und f. mikrosk. Technik. Bd. XXII. Jg. 1905. S. 10.

Sheather, A. Leslie (1923), The detection of worm-eggs in the faeces of animals, and some experiments in the treatment of parasitic Gastritis in cattle.
The Journal of comp. Pathol. and therap. Vol. XXXVI. Prt. 2. P. 71—90.

Idem (1923b), The detection of intestinal Protozo and mange parasites by a Floatation technique.
Journal of comp. pathol. and therap. Vol. XXXVI. Part. 4. P. 266.

Simond, P. L. (1897), L'évolution des sporozoaires du genre coccidium.
Annales de l'Institut Pasteur. Tom. 11. nr. 6.
P. 545—576.

Sluiter, C., N. H. Swellengrebel en J. E. W. Ihle (1921), De dierlijke parasieten van den mensch en onze huisdieren.
3e dr. Blz. 89 t/m 99.

Sokolow, B. (1912), Studien über Physiologie der Gregarinen.
Archiv f. Protistenk. Bd. 27. S. 260—315.

Stieda, L. (1865), Ueber die Psorospermien der Kaninchenleber.
Virchow's Arch. f. pathol. Anat. u.s.w.
Bd. 32. S. 132—140.

Vadja, Th. (1922), A new method for detecting the eggs of parasites in faeces.
Journal of the Amer. vet. med. assoc. N. S. Vol. 14. nr. 5. P. 534.

Voorhoeve, H. C. (1924), Glycogeenkleuring volgens Vastarini-Cresi. Tijdschr. voor Geneesk. 68e Jrg. 1e helft, no. 12. Blz. 1291—1295.

Waldenburg, L. (1867), Zur Entwicklungsgeschichte der Psorospermien.
Archiv f. pathol. Anat. u.s.w. Bd. 40. S. 435—456.

Wasielewski, Th. v. (1904), Studien und Mikrophotogramme zur Kenntnis pathogenen Protozoen. I. Barth. Leipzig.

Idem (1924), Fortschritte der Coccidienforschung in: Ergebnisse der Hygiene, Bacteriologie, Immunitätsforschung und experimenteller Therapie. Bd. 6. S. 305—350. Berlin, J. Springer.

Waworuntu, Fr. (1924), Bijdrage tot de kennis van het konijnencoccidium. Proefschr. V.H., Utrecht.

Wenyon, C. M. (1907), Observations on the Protoza in the Intestine of Mice.
Arch. f. Protistenk. Suppl. I. P. 169—202.

Idem (1923), Coccidiosis of cats and dogs and the status of the Isospora of man.
Annals of trop. Med. and parasit. Vol. 17. nr. 2. P. 231.

Züblin, F. (1908), Beiträge zur Kenntnis der roten Ruhr des Rindes. Schweizer Archiv f. Tierheilk. Bd. 3. S. 123.

VERKLARING DER PLATEN

PLAAT I.

(Figuren 3, 4, 5 geteekend naar het levend preparaat. Vergrooting 3600. Zeiss Aprochrom. 1,5 mm. Comp. ocul. 12. Zeiss teekenapparaat. Reproductie verkleining ± $^5/_7$).

Photogr. 1. Eieren van *Hepaticola hepatica* in den lever van een rat (uit Hall).

„ 1a. Ontwikkelingsvormen van *E. zürni* (uit Züblin).

„ 2. Gedeelte van het microscopisch gezichtsveld met oocysten van het rattencoccidium, waaraan de sporulatie bestudeerd is.

„ 2a. Oocyste van het rattencoccidium met duidelijke kern.

„ 2b. Oocyste met lichte streep door de sporont heen aan het begin van de sporulatie.

Fig. 3. Versche oocyste van het rattencoccidium uit rattenfaeces.

„ 4. Oocyste met tot een bol (sporont) teruggetrokken protoplasma.

„ 5. Lichte streep, dwars door den sporont heen aan het begin van de sporulatie (fig. 2b).

PLAAT II.

(Voor de teekeningen gelden dezelfde voorwaarden als voor fig. 3, 4 en 5 van Plaat I).

Fig. 6. Aan twee tegenover elkaar liggende plaatsen van den sporont treden lichte plekken op.

„ 7. Dezelfde toestand als voor. Het *soms* optredende, den sporont verlatende (?) lichaampje.

„ 8. De lichte plekken zijn verdwenen. Dit is ook bijna het geval met het vorenbedoeld lichaampje.

„ 9. Optreden van vier lichtere protoplasmakorrels en onregelmatig worden van den sporont.

„ 10. Meer rechthoekig worden van het voorgaande stadium.

„ 11. De lichte korrels gaan weer verdwijnen.

„ 12. Begin van het „Buckelstadium" of „Insnoeringsstadium".

„ 13. De heldere kappen op de insnoeringen gevormd.

„ 14. De sporont verdeeld in vier sporoblasten.

„ 15. Op elk der sporoblasten is een heldere korrel voor den dag getreden.

Fig. 16. Het „Pseudopyramidenstadium".
„ 17. Het „Pseudopyramidenstadium", eenigszins teruggevormd.
„ 18. Begin van het pyramidenstadium. In een der pyramiden behalve de topkorrel een paar andere korrels.
„ 19. Volkomen gevormd „pyramidenstadium".
„ 20. Teruggang van het „pyramidenstadium". Onderaan in de oocyste is een lichaampje te zien, dat opgevat zou kunnen worden als het uitgestooten „lichaampje van Schneider".
„ 21. Een *zeer zelden* voorkomende verbinding tusschen het vorenbedoelde „lichaampje" en een terugtrekkende pyramide.
„ 22. De sporoblasten bestaande uit fijne granula zijn weer rond geworden.
„ 23. De granula der sporoblasten beginnen iets grover te worden. De sporoblasten zelf meer ovaal.
„ 24. In de sporoblasten treden lichtere korrels op.
„ 25. De sporoblasten nemen meer „amandelvorm" aan.
„ 26. In de sporoblasten komen symptonen voor van vorming van een restlichaam en van deeling.
„ 27. Lichtere plekken in de sporoblasten (cysten) duiden op de vorming der „vacuolen" van de sporozoieten.
„ 28. Vorenstaand stadium duidelijker.
„ 29. Beëindigde sporulatie.

PLAAT III.

(Behalve fig. 30 zijn alle figuren geteekend naar uitstrijkpreparaten voorzoover niet vermeld gekleurd met haematoxylin v. Delafield. Vergrooting 3600. Zeiss Aprochr. 1.5 mm. Comp. oculair 12 en Zeiss teekenapparaat. Verkleining bij reproductie ± $^5/_7$).

Fig. 30. Oocyste rattencoccidium met twee sporocysten en restlichaam.
„ 31, 32. Sporozoieten rattencoccidium (kleuring v. Heidenhain).
„ 33, 34. „ „ („ „ Delafield).
„ 35. Ingedrongen sporozoiet na ± 1 dag (kleuring van Heidenhain).
„ 36. Eénkernige schizont.
„ 37, 38. Tweekernige schizonten.
„ 39. Vier „ „ .
„ 40. Negen „ „ .
„ 41. Veel „ en tweekernige schizonten in epitheelcel.
„ 42. Uit elkaar gestreken bundel niet volwassen merozoieten.
„ 43. Bundel bijna ontwikkelde lange merozoieten.

Fig. 44. Doorsnede van dergelijken vorenstaanden bundel met stand der doorsnede bij op- en neerwaartsche beweging van den tubus.
„ 45. Onvolwassen merozoiet.
„ 46. Waarschijnlijke kerndeeling in lange merozoiet.
„ 47. Kerndeeling (?) in kleine merozoiet.
„ 48 t/m 65. Merozoieten.
„ 57. Extracellulaire schizogonie (?).
„ 66 t/m 71. Microgametocyten.
„ 72 t/m 74. Microgameten (kleuring van Heidenhain).
„ 75 en 76. Macrogametocyten.
„ 77. Propje met waarschijnlijk afgestorven microgameten in de pas gevormde membraan van een oocyste.
„ 78 en 79. Macrogameten.
„ 80. Copula met terugtrekkende kernuitlooper.



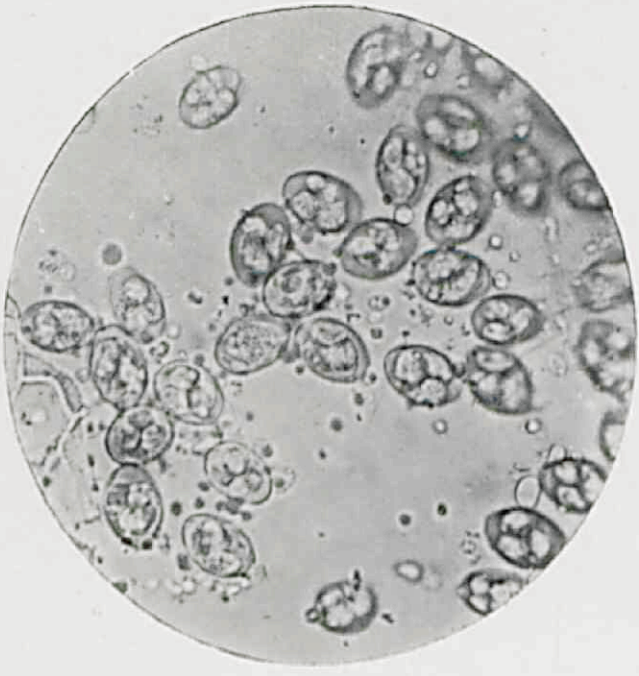
1



1a



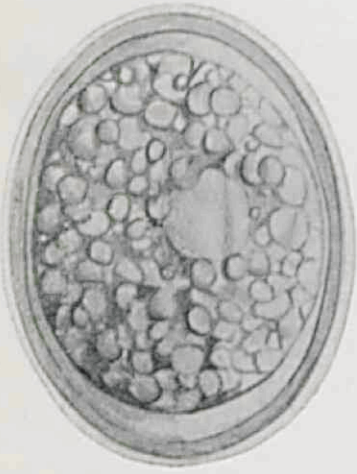
2a



2



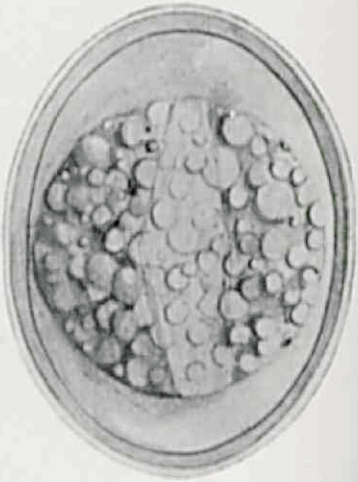
2b



3

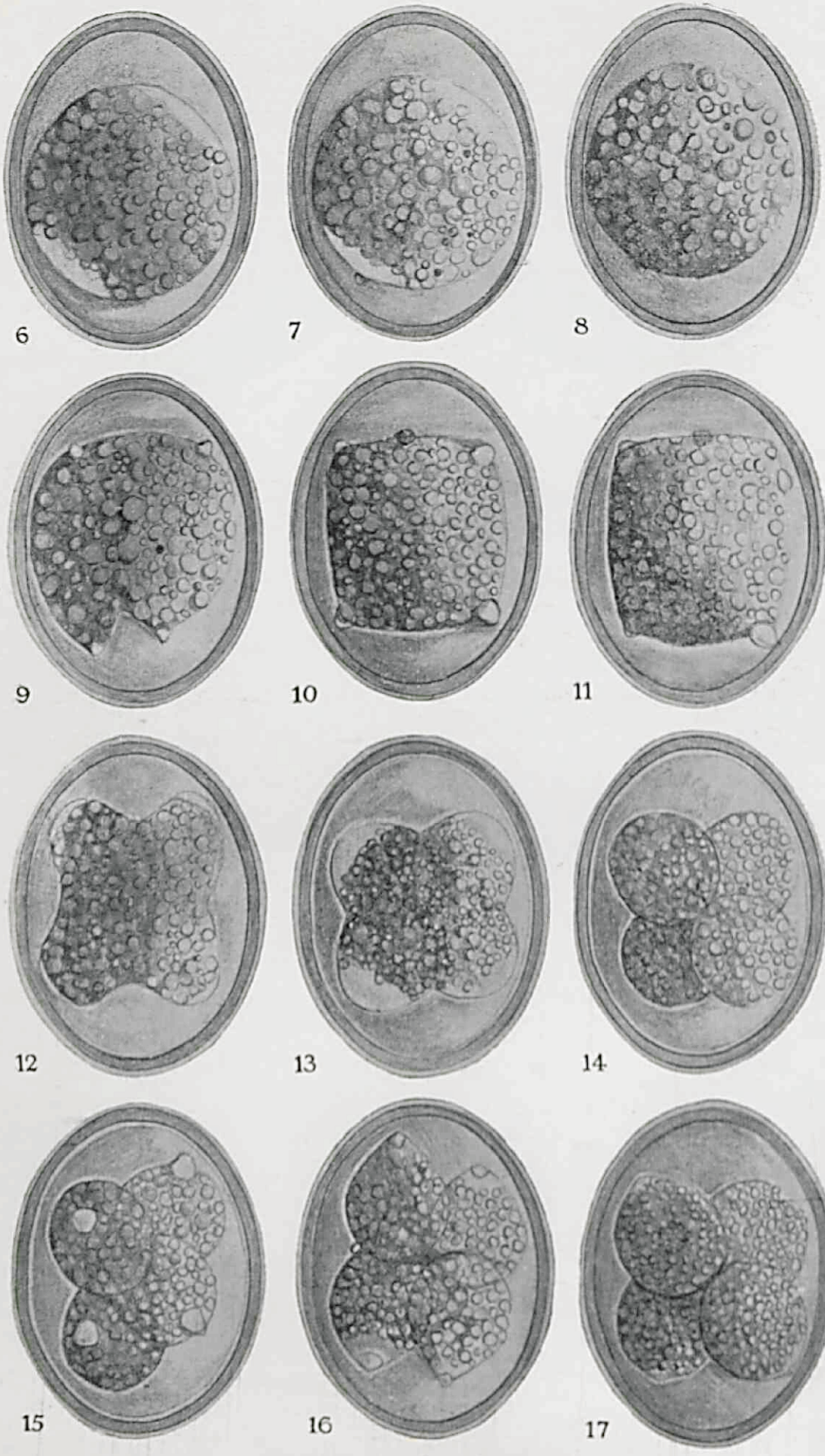


4

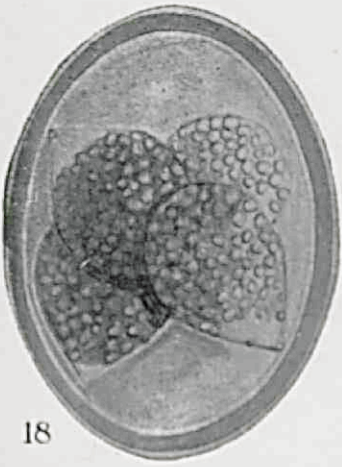


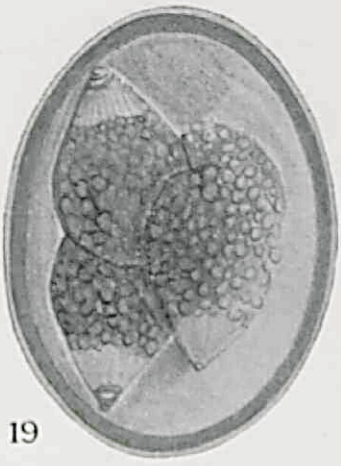
5

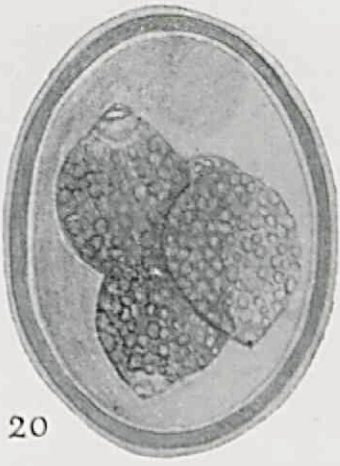
DIEBEN. GET.

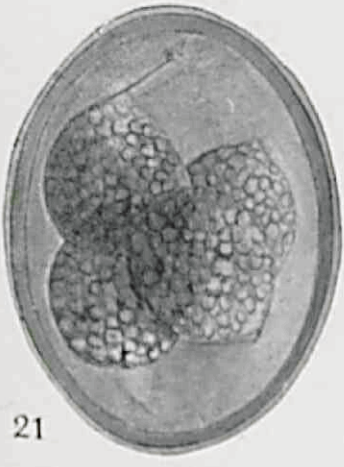


DIEBEN. GET.


18

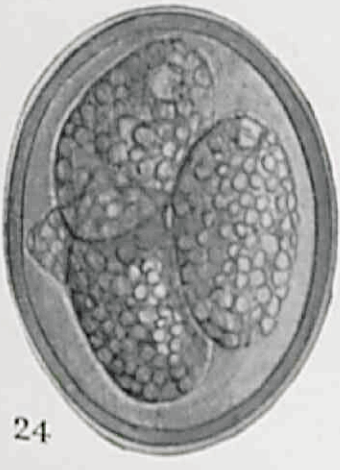

19

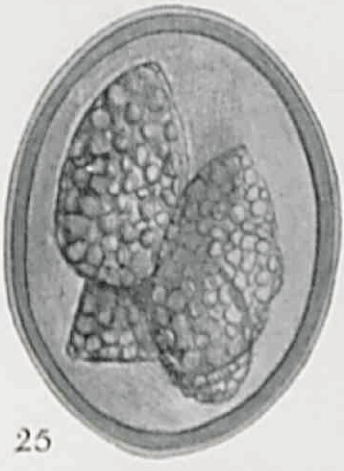

20


21


22


23

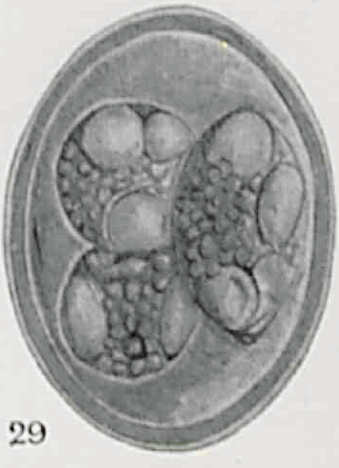

24

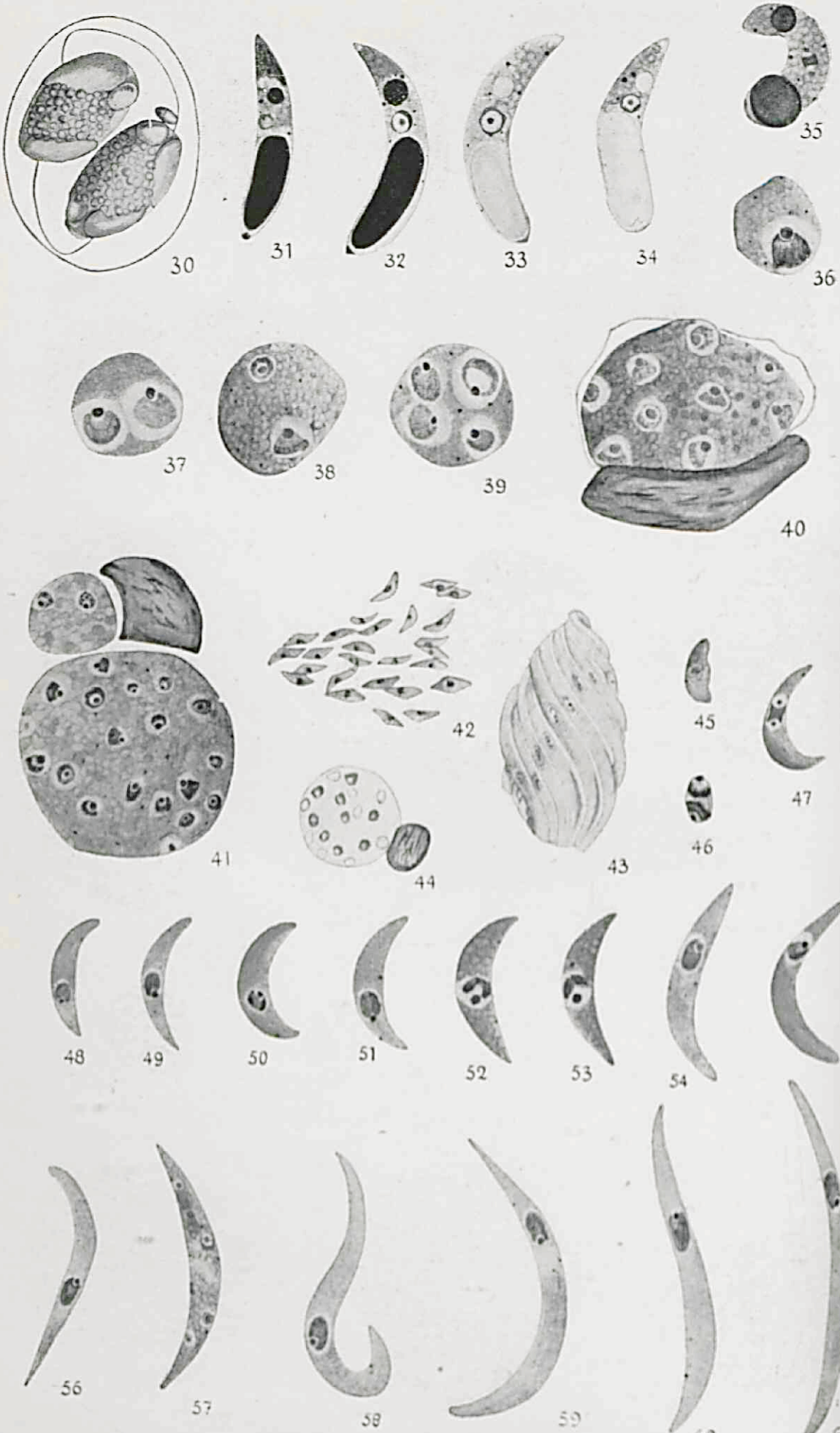

25


26

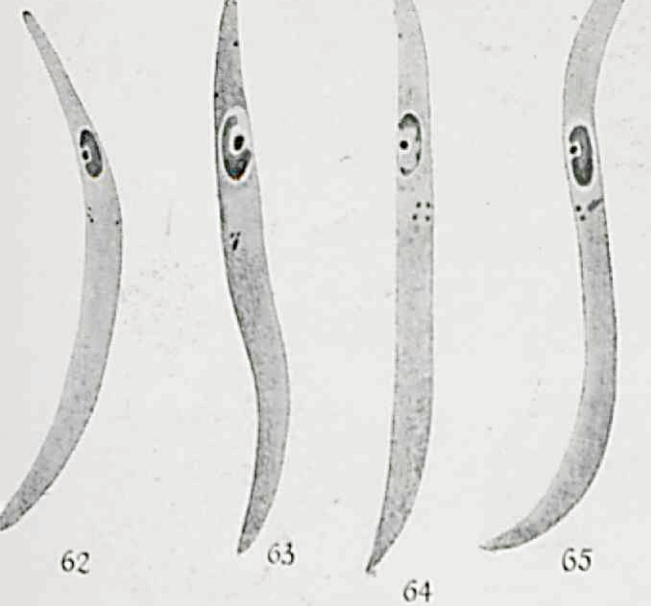

27


28


29


30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61

DIEBEN. GET.


62

63

64

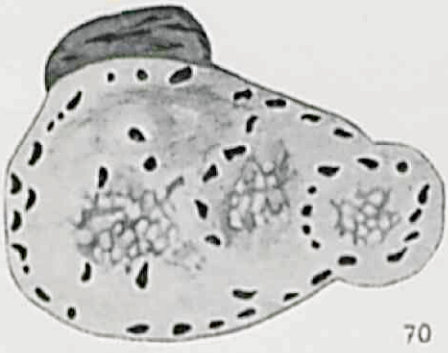
65

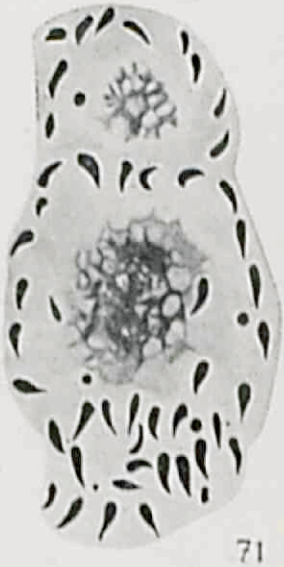

66


67


68


69


70


71


72


73


74

75


76


77


78


79


80

STELLINGEN

I.

Dat naast verschillende steekvliegen, ook andere Arthropoda de surra mogelijk overbrengen, is nog nader in Indië na te gaan.

II.

De bewijsgronden, waarop gebaseerd wordt, dat de rol der Stomoxidae bij de verspreiding van de surra van minder beteekenis zou zijn dan die der Tabanidae, zijn m.i. niet overtuigend.

III.

Experimenten hebben tot op heden de theorie van Schat over de ontwikkeling van Trypanosoma evansi in Stomoxys calcitrans niet kunnen ontzenuwen.

IV.

Het is van groot belang om te onderzoeken of in Indië de intra-palpebrale reactie voor de surra een diagnostische waarde heeft.

V.

Men heeft in Indië steeds in het oog te houden dat de verschijnselen van Coryza gangraenosa bovum soms klinisch het beeld kunnen geven van Pestis bovum.

VI.

De meeningen (proefschrift Soeratmo), dat het verbod van het afslachten van voor de fokkerij nog geschikte

koeien, in Indië achterwege moet blijven, en dat het verbod van uitvoer van fokdieren uit een zekere streek aan de bevolking moet worden overgelaten, zijn zoowel voor de Kedoe als voor de rest van Java's fokstreken niet in het belang van de veeteelt.

VII.

In veerijke streken van Indië is partieele en totale embryotomie in gevallen van verkeerde ligging, misvormingen of relatief tegroot zijn van de vrucht bij de Inlandsche koe af te raden.

VIII.

Het kan niet genoeg herhaald worden, dat de financieele regeling bij de malleus-bestrijding in Indië sterk verouderd is.

IX.

De borstziekte der varkens komt zeer waarschijnlijk niet meer in die mate in Nederland voor, als het debiet aan borstziekte-serum zou doen vermoeden.

X.

Wijziging van het pluralisme (veeteelt, hygiëne, bestrijding besmettelijke ziekten, etc.) in de instructie van den gouvernements-veearts in Nederlandsch-Indië zou zoowel den Veeartsenijkundigen Dienst, als de bevolking en niet in 't minst den dierenarts zelf ten goede komen.

BIBLIOTHEEK
DIERGENEESKUNDE
UTRECHT