



Bijdrage tot de kennis van het konijnen-coccidium

<https://hdl.handle.net/1874/283414>

29

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN
HET KONIJNEN-COCCIDIUM

nt

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT



3627 5224

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN
HET KONIJNEN-COCCIDIUM

27590.

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN HET KONIJNEN-COCCIDIUM

PROEFSCHRIFT

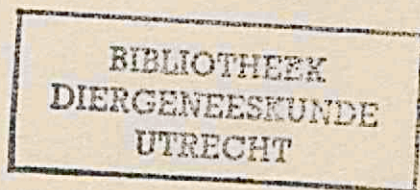
TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE VEEARTSENIJKUNDE

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 VER-
DEDIGEN TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DEN SENAAT
OP DINSDAG 5 FEBRUARI 1924, DES NAMIDDAGS

TE 4 UUR, DOOR

FRITZ KAREL WAWORUNTU

DIERENARTS, GEBOREN TE SONDER (MINAHASSA), NOORD-CELEBES



1924

DRUKKERIJ „LAURENS COSTER“, Fa. SCHOTANUS & JENS, UTRECHT



Aan mijn Vader en Moeder.

Bij de voltooiing van mijn proefschrift, neem ik gaarne de gelegenheid te baat, U, Hoogleraren, Conservatoren, Prosectoren en Assistenten der Veeartsenijkundige Hoogeschool, mijne groote erkentelijkheid te betuigen voor het ontvangen van het onderwijs, zoowel theoretisch als practisch, in de vakken behorende tot het gebied der diergeneeskunde.

U, Hooggeleerde De Blieck, hooggeachte promotor, betuig ik in het bijzonder mijn dank, voor den steun, welke gij bij het samenstellen van dit proefschrift aan mij hebt verleend. Alsook voor de groote belangstelling, welke gij steeds in den gang van mijn onderzoekingen hebt getoond.

Gaarne onderschrijf ik de woorden van mijn collega Kaligis, als hij U den persoon noemt, waaraan wij de mogelijkheid van voortzetting van onze studie in Nederland aan de Veeartsenijkundige Hoogeschool te danken hebben.

Waarom Gij niet degene, die het onderwijs aan de Inlandsche Veeartsenschool te Buitenzorg tot een dusdanig peil opvoerdet, dat aansluiting aan de Veeartsenijkundige Hoogeschool met vruchtbaar resultaat mogelijk werd?

U, Hooggeleerde Krediet betuig ik gaarne mijn oprechten dank voor de belangstelling, welke ik steeds van Uw zijde gedurende mijn verblijf in Holland heb mogen ondervinden. Naast professor De Blieck zijt Gij het geweest, die krachtadig mede hielp het onderwijs aan de Inlandsche Veeartsenschool te Buitenzorg in opbouwenden zin te reorganiseeren.

Het is mij aangenaam U, Zeergeleerde Leurink hier te kunnen bedanken, voor de kiemen, welke Gij mij gelegd hebt voor den zin naar wetenschappelijk onderzoek. De tijd gedurende welken ik van U en de andere Oud-Leeraren der Inlandsche Veeartsenschool onderwijs mocht ontvangen, zal voor mij steeds een gewichtige blijven.

Zeergeleerde Nieschulz, U vooral ben ik zeer veel dank verschuldigd voor het protozoologisch onderricht, dat Gij mij gaaft. Te midden Uwer drukke werkzaamheden, waart gij steeds bereid mij van Uw uitgebreide kennis op het gebied der protozoologie mede te deelen. Uw raadgevingen en wenken op het gebied der techniek kwamen mijn onderzoek zeer te stade. De uren, gedurende welke ik onder U mocht werken in de Tropische Afdeling, zullen mij steeds tot een aangename herinnering zijn.

Ten slotte een woord van dank aan allen, die mij behulpzaam zijn geweest bij de bewerking van dit proefschrift.

INHOUD

Bladz.

Inleiding	11
Hoofdstuk I. Algemeene beschouwingen van de voor- naamste coccidia.	
a. Plaats van de <i>Coccidia</i> in het protozoölogisch systeem . . .	13
b. De ontwikkelingscyclus der coccidia	15
c. Literatuuroverzicht.	16
Hoofdstuk II. Techniek.	
a. Verzamelmethoden.	22
b. Infectie-techniek	24
c. Natiefpreparaten.	25
d. Dauerpreparaten.	26
Hoofdstuk III. Komen bij het konijn twee soorten coccidia voor?	
a. Bevindingen van andere onderzoekers	31
b. Eigen onderzoekingen	34
Hoofdstuk IV. Zijn darm- en levercoccidia identisch? .	
Hoofdstuk V. Zijn de <i>E. stiedae</i> en de <i>E. perforans</i> in de ontwikkeling cytologisch van elkaar te onderscheiden?	
a. Schizogonie.	52
b. Gamogonie	58
c. Sporogonie.	69
Hoofdstuk VI. Zijn de konijnencoccidia-gastheerspecifiek?	
a. Literatuur	72
b. Eigen onderzoekingen	73
Hoofdstuk VII.	
a. Ziekteverloop.	78
b. Therapie	83
Verzameling der teekeningen en photogrammen	88
Literatuur	91

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

1917

INLEIDING

Protozoen als ziekteverwekkers bij mensch en dier zijn van groote beteekenis niet alleen in de tropen en landen met subtropisch klimaat, doch ook voor de landen met koeler klimaat, waar met de onderkenning van de malaria, trypanosomiasen, piroplasmosen, coccidiosen en andere protozoaire-ziekten, deze ziekteverwekkers al meer en meer de aandacht der medici en diergeneeskundigen hebben getrokken.

Voor Nederland is naast de piroplasmosis de coccidiosis vooral van veterinaire beteekenis, de laatste in het bijzonder bij pluim- en kleinvee. Het is een protozoaire ziekte, die hoofdzakelijk jonge dieren aantast en in fokkerijen groote schade en verliezen aanricht.

Tot voor den oorlog was deze ziekte hier te lande weinig bestudeerd en werd er weinig aandacht aan geschonken. Na den oorlog kwam met het stijgen der levensvoorwaarden, de pluim- en kleinveeteelt naar voren en begon zij meerdere waardeering te verkrijgen.

Waar vooral onder dit jonge vee coccidiosis groote sterfte kan geven, ja zelfs in die mate, dat den fokker het verder fokken onmogelijk wordt, is een nauwkeurig onderzoek van deze ziekte noodzakelijk.

Een grondige kennis van de biologie van de parasieten is voor de diagnose en therapie der door haar opgewekte ziekte en in het bijzonder voor de bestrijding ervan onmisbaar.

In mijn onderzoek heb ik mij slechts bepaald tot de studie van de bij de konijnen voorkomende coccidia.

Van deze coccidiën zijn nog vele vragen onopgelost. Nog altijd is niet uitgemaakt of de bij denzelfden gastheer voor-

komende *Eimeria perforans* en *Eimeria stiedae* tot één en dezelfde soort behooren. De localisatie van elk dezer coccidia, als ook de ontwikkelingscyclus is ondanks de uitgebreide literatuur niet geheel bekend. In mijn onderzoekingen heb ik gepoogd de volgende vragen te beantwoorden:

1. Komen bij het konijn twee soorten coccidia voor?
2. Zijn lever- en darmcoccidia identiek?
3. Zijn de *Eimeria stiedae* en de *Eimeria perforans* in de ontwikkeling cytologisch te onderscheiden?
4. Is het konijnen coccidium *gastheer* specifiek?
5. Is coccidiosis te genezen?

Buiten deze vragen hadden het ziekteverloop en de verbetering der techniek op het onderzoek van coccidia mijne aandacht.

HOOFDSTUK I.

ALGEMEENE BESCHOUWINGEN VAN DE VOORNAAMSTE COCCIDIA.

a. *Plaats van de Coccidia in het protozoölogisch systeem.*

Coccidia zijn parasietische protozoen, behoorende tot de klasse der sporozoën. Deze parasieten vermenigvuldigen zich geslachtelijk, gevolgd door sporenvorming waaraan nog een ongeslachtelijke vermeerdering kan vooraf gaan (generatiewisseling).

In deze klasse zijn ondergebracht:

I. *Coccidiomorpha* Doflein.

II. *Gregarinida* . . Schneider em. Doflein.

De *Coccidiomorpha* zijn nader verdeeld in:

1. orde *Coccidia* (Bütschli).

2. orde *Haemosporidea* (Danilewski em. Schaudinn).

De orde van de *Coccidia* bevat twee onderorden:

1' de *Eimeridea*.

2' de *Adeleidea*.

De eerste onderorde, die van de *Eimeridea* is het belangrijkste, daar in het geslacht *Eimeria* en *Isospora*, de pathogene coccidia van mensch en huisdieren voorkomen.

In het geslacht *Eimeria* komen zooals gezegd de meeste pathogene coccidia voor. Deze zijn:

De *E. stiedae* (Lindemann) voorkomende bij hazen en konijnen.

„ *E. perforans* (Leuckart) eveneens bij konijnen.

„ *E. zürni* (Rivolta) bij het rund.

- De *E. falciformis* (Eimer) muis.
 „ *E. tenella* (Railliet en Lucet) bij hoenders.
 „ *E. fauri* (Moussu en Marotel) bij het schaap.
 „ *E. debliki*, Douwes, bij het varken.
 „ *E. arloingi*, Marotel, bij de geit.
 „ *E. leporis*, Nieschulz, bij de haas.
 „ *E. wenyoni*, Dobell, bij den mensch.
 „ *E. oxyspora*, Dobell, bij den mensch.
 „ *E. schneidersi*, Dobell, bij den mensch.
 „ *E. truncata* (Railliet en Lucet) bij de gans.
 „ *E. pfeifferi* (Labbé) bij de duif.
 „ *E. gadi* (Fiebiger) bij zeeviſſchen.
 „ *E. subepithelialis* (Moroff e. Fiebiger) bij karpers.

Uitgezonderd bovengenoemden komen ook nog bij andere dieren eimeria's voor, die van minder belang zijn.

In het geslacht *Isospora* hebben we de volgende pathogene soorten:

- De *I. hominis* (Rivolta) bij den mensch.
 „ *I. bigemina* (Stiles) bij hond en kat.
 „ *I. lacazei* (Labbé) bij zangvogels.

Bovengenoemde coccidia zijn hoofdzakelijk intracellulaire parasieten, die in epitheliaal weefsel parasiteeren. Zij maken een zeer gecompliceerde ontwikkeling in het lichaam van hun gastheer door, waarna zij als resistente vormen — oöcysten genaamd — worden uitgescheiden. De vele vormen, die zich bij deze ontwikkeling voordoen, doet de vraag rijzen, welke vorm wij als het coccidium, m.a.w. als de parasiet beschouwen moeten. Vroeger werden steeds de kogelige of eivormige vormen als de volwassen parasiet beschreven. Men sprak dan ook van coccidia als men de uitgescheiden resistente oöcysten bedoelde. Reichenow beschouwt echter als de parasiet de bewegelijke wormvormige individuen, d.z. de merozoieten en de sporozoieten, en de andere vormen als ontwikkelingsvormen.

b. De ontwikkelingscyclus der Coccidia.

De ontwikkeling der coccidia kenmerkt zich door een generatiewisseling. De vermenigvuldiging gaat in twee perioden, de ongeslachtelijke (schizogonie) en de geslachtelijke (gamogonie), die gevolgd wordt door de sporogoni. Als voorbeeld zal de ontwikkelingscyclus worden genomen van de „*Eimeria schubergi*” een bij de duizendpoot *Lithobius forficatus* parasiteerend coccidium. Dit coccidium dat behoort tot de *Eimeridea*, werd door Schaudinn en ~~Siedlecki~~ (1900) nauwkeurig bestudeerd en de ontwikkelingscyclus hiervan in een schema vastgelegd. Volgens dit schema verloopt de ontwikkeling van alle coccidia behorende tot de *Eimeridea*.

Ontwikkelingscyclus van de Eimeria schubergi.

De met het voedsel opgenomen oöcysten komen in het darmkanaal, waar door de inwerking van de darmsappen de sporozoieten vrijkomen. Zij verlaten door de mycropyle de cysten en dringen in de epitheelcellen, waar ze den vorm van een ronden kogel aannemen, die groeit op kosten van de cel. In deze vormen, schizonten genaamd, beginnen de kernen zich te deelen, komen meer aan de oppervlakte en rangschikken zich daar. Wanneer talrijke kernen gevormd zijn, valt de schizont in een groot aantal wormvormige individuen, die een eigen beweging hebben, uiteen. Dit zijn de „merozoieten”.

De merozoieten dringen op hun beurt in andere epitheelcellen en herhalen de cyclus van de moedercel. Deze vermenigvuldiging, die een ongeslachtelijke is, heet de „schizogonie”. In dit stadium heeft de vermenigvuldiging van den parasiet in het darmkanaal plaats. De schizogonie herhaalt zich eenige malen en dan zien we, dat uit de schizonten merozoieten gevormd worden, waaruit geslachtelijk gedifferentieerde individuen zich ontwikkelen, dus merozoieten, die zelf reeds geslachtelijk gedifferentieerd moeten zijn. Hiermede begint de tweede periode, die van de geslachtelijke vermenigvuldiging.

De vrouwelijke merozoiet dringt in een epitheelcel en onder vorming van een reservestof, ontwikkelt zij zich

tot een rijpe vrouwelijke geslachtscel, die macrogameet heet.

De mannelijke merozoiet dringt eveneens in een epitheelcel en bij haren groei deelt zich de kern in talrijke kernen, waaruit later de mannelijke gameten zich ontwikkelen. Deze gameten, die voor het grootste gedeelte uit chromatine bestaan, zijn kleine slanke gegeeselde individuen. Ze heeten „microgameten” en de moedercel „microgametocyt”.

De bevruchting geschiedt verder aldus:

Gelijk bij de metazoën zien we, dat voor de bevruchting de vrouwelijke cel de bevruchtingsheuvel uitsteekt, waardoor de microgameet binnen dringt. De macrogameet vormt tijdens dit proces een tweede membraan, om het binnendringen van andere microgameten te verhinderen. Bij de bevruchting versmelten de beide kernen (Schaudinn), waarna de bevruchtingsspoel gevormd wordt. Na het verdwijnen van de spoel zien we de vorming van de kern. De macrogameet heet nu „oöcyst” en de verdere ontwikkeling, die nu verder exogeen plaats vindt, heet de „sporogonie”. In de sporont treedt een tweede kerndeeling op, waardoor we 4 kernen krijgen, de „sporoblasten”. De sporoblasten vormen een sterke membraan om zich heen en heeten „sporocysten”. Nog eenmaal zien we een deeling in de sporocysten onder vorming van een restlichaam in elke sporocyst en de sporozoïeten zijn gevormd. De sporogonie is hiermede afgelopen.

Worden de oöcysten door een gastheer met het voedsel opgenomen, dan opent zich onder invloed van de darmsappen de micropyle; de sporozoïeten verlaten hun omhulsel en dringen in het darmslijmvlies, om de cyclus opnieuw te beginnen.

c. Literatuur-overzicht.

De eerste opgave, betrekking hebbende op coccidia, dateert volgens Dobell van het jaar 1674. Deze Engelsche onderzoeker, die een grondige studie maakte van de ongepubliceerde brieven van Antonius van Leeuwenhoek (1632—1723) kwam tot de conclusie, dat ruim $1\frac{1}{2}$ eeuw vóór Hake de coccidia reeds door Van Leeuwenhoek werden gezien. In zijn 7de brief, d.d. 19 October 1674 (zie *The Parasitology* Dl. 14:

„The discovery of the Coccidia” by Dobell), beschrijft Van Leeuwenhoek het onderzoek van gal afkomstig van rund, schaap en konijn, en de „eyronde deeltgens”, die hij hierin waarnam. Uit dezen brief concludeerde Dobell, dat de „eyronde deeltgens”, in de gal van het rund en schaap trematodeneieren moesten zijn geweest, nl. die van de *Fasciola hepatica* en de kleinere ovale lichamen in de gal der konijnen de oöcysten der *Eimeria stiedae*. Van een vergissing met andere cellen kan geen sprake zijn, daar Van Leeuwenhoek die lichamen noch bij kalveren en lammeren zag, noch bij twee jonge konijnen, die hij ook nog had onderzocht.

Eerst in 1839 verscheen daarna van de hand van Hake een publicatie van de levercoccidiosis bij konijnen. De coccidienhaarden in de lever classificeerde hij als kankergezwellen en de oöcysten voor een bijzonder soort etterlichamen, die het bestanddeel vormden van gezwellen en zouden ontstaan uit veneuse capillairen. Latere onderzoekers verwarden deze cysten met pathologisch veranderde epitheelcellen der galgangen of leverparenchym (Handfield Jones, 1846), weer anderen met worm- of andere entozoën-eieren, waarvan de volwassen exemplaren niet bekend waren.

Remak (1845) wees op de overeenkomst tusschen deze lichamen en de door Müller en Retzius beschreven „psorospermien” der visschen, welke later door Bütschli als „Myxosporidien” werden geïdentificeerd. Kaufman (1847) steunde deze meening op grond van zijn waarnemingen, dat de eivormige lichamen die hij in het water bewaarde, zich in vier stukken deelden en een psorospermien-achtig aanzien kregen. Ook Lieberkühn (1854) sloot zich bij deze meening aan. Een „gregarine” deelt zich volgens hem in ronde lichamen. De moedercel barst en de vrijkomende ronde lichamen vormen de z.g. Müllersche psorospermien. Hij bracht aldus die lichamen tot een deelingsvorm van de toen nog niet goed bestudeerde gregarinen.

Het was ook weer Remak, die dezelfde psorospermien in het darmkanaal intracellulair aantoonde.

Kort daarop deed Klebs dezelfde waarneming.

Waldenburg (1867) en later Rivolta, de eersten, die met gesporuleerd materiaal experimenteerden, bevestigden de waarnemingen van Remak en Klebs. Zij constateerden, dat voor het gelukken van de infectie noodzakelijk is, dat de eivormige lichamen in vieren gedeeld zijn, terwijl de éénkogelige vormen ongehinderd het darmkanaal passeeren.

Na deze laatste onderzoekers vonden ook anderen de z.g. psorospermien in verschillende organen. Finck vond ze in de darmfollikels bij katten (waarschijnlijk *Isospora*), Virchow bij honden, Kjelberg en Eimer in het darmkanaal bij menschen, Gübler en Dressler in de lever van een man en Lindemann in een menschennier.

Eerst Stieda (1865) sprak het vermoeden uit, dat de voor psorospermien gehouden lichamen in de lever ontwikkelingsstadia moeten zijn van een parasiet, waarvan de volwassen vormen nog onbekend zijn. Uit zijn nauwkeurige waarnemingen en teekeningen kunnen we opmaken, dat Stieda toen reeds de macrogameten en gesporuleerde oöcysten zag.

Andere gezichtspunten kreeg men eerst toen Eimer (1870) de z.g. „psorospermien” bij de muis vond. Naast de bekende vormen vond hij in het darmkanaal van een spontaan gestorven muis talrijke halvemaan-vormige lichaampjes soms tot een bundel vereenigd (merozoieten), die hij voor de vrije „gregarinen” hield. Volgens de door Eimer opgestelde ontwikkelingscyclus zouden de vrije gregarinen veranderen in amoboide cellen, die in het darmepitheel dringen, zich daar verder ontwikkelen om dan tot rust te komen.

Schneider (1875) meende, dat de door Eimer beschreven halvemaan-vormige lichaampjes niets te maken hebben met de z.g. psorospermien van darm en lever. Hij dacht eerder met een ander geslacht te doen te hebben, dat hij „*Eimeria*” noemde.

In 1879 voerde Leuckart de geslachtsnaam „*Coccidium*” voor deze parasiet in. Naar dezen onderzoeker wijkt het *coccidium* cytologisch absoluut af van de toen bekende psorospermien. De in de darm voorkomende noemde hij een bijzondere soort,

afwijkende en door de grootte en door den korten sporulatietijd. Het darmcoccidium noemde hij de „*Coccidium perforans*”, de vorm in de lever de „*Coccidium oviforme*.”¹⁾

De eerste overzichtelijke indeeling van de *Coccidia* gaf Schneider in 1881.

De door Eimer beschreven „Sichelkeime” waarvoor hij in 1875 het geslacht *Eimeria* had opgesteld, plaatste hij onder de „*Monosporidia*”, daar hij ze als cysten alleen uit één spoor bestaande, beschouwde. De exogene ontwikkelingsstadia, het coccidium van Leuckart, stelde hij in een andere groep, de „*Oligosporidia*” op grond van het feit, dat deze bij de sporogonie een beperkt aantal (4) sporen vormden. Tot de 3de groep, de „*Polysporidia*” rekende hij die *Coccidia* die meer sporen vormden.

Naar dit systeem werden de toen bekende coccidia ingedeeld, tot R. Pfeiffer (Berlijn 1890) achter de generatiewisseling van de coccidia kwam.²⁾ Pfeiffer kwam tot de conclusie, dat de door Eimer beschreven „Sichelkeim-Bündel” uiteenvallen in talrijke „Sichelkeime”, die allen in het darmslijmvlies dringen en aanleiding geven tot de vorming van nieuwe coccidia. Hij zegt: „Wenn nun auch der Beweis, dass die endogene Sicheln sich ohne weiteres in junge Coccidien umwandeln durch directe Beobachtungen nicht zu bringen ist, so spricht doch vieles für diese Annahme”.

Pfeiffer nam dus een endogene vermenigvuldiging aan. Ook van de exogene ontwikkeling gaf hij een goede beschrijving.

L. Pfeiffer (Weimar 1891) bevestigde de bevindingen van R. Pfeiffer. De door Schneider als „*monosporidae*” beschreven konijnencoccidia beschouwde ook hij als een vermenigvuldigingsvorm bij de endogene ontwikkeling. Volgens R. en L. Pfeiffer zouden de optredende sterke infectie en de belangrijke veranderingen in de aangetaste organen hiervoor een bewijs zijn.

¹⁾ Het synoniem „*Coccidium*” bleef langen tijd bestaan, moest later zooals Lühe (1902) het vaststelde, voor den ouderen naam „*Eimeria*” wijken.

²⁾ Eerst in 1892 beschreven. Zie literatuur-opgave.

Labbé (1896) vond in denzelfden gastheer, zoowel de sporen (oöcysten) als de merozoieten-bundel, betwijfelde echter toch de mogelijkheid van eene generatiewisseling, doch dacht eerder aan een dubbele infectie met *Eimeria* en *Coccidium*.

De door R. Pfeiffer geopperde generatiewisseling van de coccidia werd door de proeven van Simond (1897) bevestigd. Deze onderzoeker experimenteerde met absoluut coccidiavrij opgefokte konijnen en sloot zoo de mogelijkheid van een dubbele infectie uit.

Hij vond in het darmkanaal dezer dieren op den 10en dag na de infectie zoowel cysten met merozoieten als ook de oöcysten in grooten getale. Met deze proef was de generatiewisseling van de coccidia bewezen.

Ook voor de ontwikkeling van de coccidia bracht Simond nieuwe gezichtspunten. Hij wees n.l. op een bijzonder soort cyste, waarin eigenaardige zweepvormige chromatinerijke individuen zich ontwikkelden, afwijkende van de andere bekende vormen. Hij noemde ze „chromatozoiten”.

Door de ontdekking van deze kiemen, die andere onderzoekers ook bij andere coccidia-soorten aantoonde, kreeg men een ander inzicht in de ontwikkeling der coccidia, want het vermoeden, dat men hier met een mannelijk gedifferentieerden vorm te maken had, lag voor de hand.

In 1899 verscheen van de hand van Schaudinn en ~~Sted-~~
~~leekie~~ eene verhandeling van de ontwikkelingscyclus der *Eimeria schubergi*, het bij de *Lithobius forficatus* voorkomend coccidium. De door ~~beide~~ ^{beide} onderzoekers voor dit coccidium vastgestelde ontwikkelingscyclus droeg niet alleen veel bij voor de latere onderzoekingen van andere pathogene coccidia, doch gaf ook Grassi de richting aan voor het oplossen van het malaria-probleem.

Over de konijnencoccidia verschenen na Simond verschillende publicaties. Metzner (1903) gaf de eerste nauwkeurige beschrijving van de sporulatie, die voor hem, Schaudinn, aan de hand van zijn preparaten voor de *Eimeria schubergi* had vastgesteld.

Hij vervolgde door middel van een vochtige kamer, gemonteerd op een verwarmde objecttafel, de sporulatie van het eenkogelige stadium tot de gevormde sporozoieten. Hij gaf de volgende korte samenvatting:

Na eenige kerndeelingen snoeren zich uit de eenkogelige sporont vier kleinere kogeltjes af, die elk een kern bevatten. Steeds blijft een restlichaam achter. De kogeltjes nemen den vorm eener pyramide aan, waarbij een klein lichaampje, het z.g. „Schneidersche Körperchen” wordt uitgestooten. In het volgende stadium trekt de pyramide zich terug, rondt zich af, waarna de oöcyste weder vier kogeltjes bevat, de sporoblasten.

Deze worden elliptisch, de kernen deelen zich met de vorming van twee sporozoieten in elke sporoblast, die nu sporocyst heet. Om de sporocyst vormt zich een sterke membraan. Aan de toegespitste pool bevindt zich eene micropyle en in elke sporocyst een restlichaam.

Onder gunstige omstandigheden en voldoende toetreding van lucht voor de zuurstofwerking is volgens Metzner de sporulatie binnen 60 uur voleindigd, zoowel voor de *stiedae* als voor de *perforans*. Metzner stelde verder vast, dat eerst door de inwerking van *duodenaalsap* de micropyle vrij wordt, waarna de sporozoieten eerst de sporocysten, daarna de oöcyste verlaten.

Met *pancreatin. pur.* verkreeg hij hetzelfde resultaat.

Proeven met maagsap vielen negatief uit.

Met dit experiment bewees hij, dat het product van het pancreas een noodzakelijke factor is voor het vrijmaken der sporozoieten.

De endogene ontwikkeling der konijnencoccidia, in het bijzonder die van de *Eimeria stiedae*, werd door Wasielewski (1903) en Reich (1913) beschreven.

Op hunne onderzoekingen zal in hoofdstuk III dieper worden ingegaan.

HOOFDSTUK II.

TECHNIEK.

a. Verzamelmethoden.

Het principe van de hier te behandelen verzamelmethoden is, van faecesmateriaal de oöcysten, die hierin eventueel mochten voorkomen, van de grovere voedselresten te scheiden en deze cysten op een kleine oppervlakte te verzamelen. Dit wordt bereikt door de faeces met een vloeistof te vermengen van een hooger specifiek gewicht, waardoor de soortelijk lichter geworden oöcysten naar de oppervlakte van het mengsel stijgen, terwijl de faeces bestanddeelen achterblijven.

De verzamelmethode is vooral toe te passen, indien voor faeces, waarin oöcysten slechts sporadisch aanwezig zijn, een nauwkeurig onderzoek wordt gewenscht.

1. *Keukenzout-methode volgens Nöller en Otten.*

Het verzamelen der oöcysten geschiedt als volgt:

Het te onderzoeken materiaal wordt met eene geconcentreerde keukenzoutoplossing in een mortier goed dooreengerood en dan gefiltreerd door een fijne gazen zeef. Over de achtergebleven grovere deelen giet men dan nog wat keukenzoutoplossing na. In faeces waar lichtere plantendeeltjes verwacht worden, filtreere men nogmaals door een dunmazige metalen koffiefilter. Het filtraat brengt men over in Erlmeyerkolffjes met een nauw toeloopende hals. Na een uur brengt men een öse van de bovenste vloeistoflaag op een voorwerpglas en bekijkt bij kleine vergrooting. In zwak positief materiaal bedekke men deze druppel niet met een dekglasje, aangezien de enkele oöcysten, die in den druppel mochten voorkomen, anders moeilijk zijn te vinden.

2. *Waterglas-methode.*

Schuchmann en Kieffer gebruikten voor het onderzoek van faeces op wormeieren waterglas in de verhouding van 1 deel waterglas op 2 deelen water. Voor het verzamelen van oöcysten geeft deze methode ook zeer bevredigende resultaten. Het voordeel van deze methode is, dat we op de vloeistofoppervlakte minder verontreiniging van heel fijne voedseldeeltjes krijgen, gelijk bij de keukenzoutmethode het geval is.

De behandeling van het materiaal geschiedt als bij de keukenzoutmethode.

3. *Suiker-methode.*

De keukenzout- en waterglasmethoden hebben ondanks het voordeel dat ze goedkoop zijn, het groote nadeel, dat bij een lang verblijf in deze oplossingen de oöcysten schrompelen en doodgaan. Ook kan met de afgezogen coccidia niet direct worden geïnfecteerd, daar de sterk geconcentreerde zoutoplossingen de sporozoieten in de darmen dooden. Met het voedsel vermengd weigeren de dieren de opname ervan. Met den slokdarmsonde ingebracht zien we ook bij de keukenzoutmethode weleens NaCl intoxicatie optreden, die vooral bij kippen doodelijk verlopen. Ik zocht dan ook reeds in het begin van mijn proeven naar stoffen, die deze nadeelen niet bezitten. Ik gebruikte o.a. suiker, hetgeen zeer goede uitkomsten gaf.

Het materiaal wordt eerst met ongeveer de tienvoudige hoeveelheid water goed vermengd en als bij de vorige methoden gefiltreerd, waarna een gelijke hoeveelheid goed verzadigde suikeroplossing wordt toegevoegd. We zien, dat een groot voordeel van de suikermethode is, dat in het kolfje zoo goed als geen voedseldeeltjes met de oöcysten naar de oppervlakte stijgen en wij met de bovenste vloeistoflaag direct infecteeren kunnen. De sporulatie der oöcysten verloopt op deze oppervlakte eveneens normaal en schrompeling gelijk we bij de vorige methoden kunnen constateeren treedt niet op.

Om te verhinderen, dat er gisting in de suikeroplossing optreedt, waardoor de oöcysten degenereeren, voegt men aan de oplossing wat boorzuur of een mespunt thymol toe.

b. Infectie-techniek.

Verzamelen en bewaren der oöcysten voor eene kunstmatige infectie.

Voor het verzamelen der oöcysten deed ik het volgende:

De oöcysten werden volgens de keukenzout- of waterglas-methode verzameld. Na een uur werd de bovenste vloeistof-laag met een spuitje opgezogen, de inhoud van het kolfje met een staafje goed doorgeroerd en opnieuw aangevuld. Dit werd nog twee malen herhaald, waarna de opgezogen vloeistof met de viervoudige hoeveelheid water werd vermengd en minstens 15 minuten gecentrifugeerd. (± 2500 toeren per m.) Op de bodem der centrifugebuisjes kreeg ik een sediment. De bovenste vloeistof werd voorzichtig weggegoten, de buisjes opnieuw met water aangevuld en goed geschud. Dan werd opnieuw gecentrifugeerd.

Het centrifugaalslib bevatte in groote massa oöcysten, waarmee dan kunstmatig geïnfecteerd kon worden door dit of met wat water vermengd door middel van een gummiëkatether direct in de slokdarm in te brengen of met het voedsel te vermengen. Dit materiaal kan maandenlang in de ijskast worden bewaard.

Heeft men geen centrifuge bij de hand, dan brengt men de vloeistof over in een trechtertje van filtreerpapier, dat te voren met water vochtig is gemaakt; zoowel keukenzout als waterglas loopt niet door, daar het zout aan de buitenkant van het trechtertje uitkristaliseert. Men plaatst het trechtertje daarom in een potje met water, zoodanig dat de vloeistof-lagen op hetzelfde niveau komen. Door osmose wordt de zoutoplossing minder geconcentreerd. Af en toe wordt het water in het potje ververscht, dan laat men de vloeistof in het trechtertje doorloopen en vult nog eenmaal water bij, om de laatste zoutresten te verwijderen.

De suikerverzamelmethode voor coccidia heeft, zooals reeds eerder besproken is, het groote voordeel, dat we met de bovenste vloeistoflaag direct infecteeren kunnen. Voor het infecteeren van muizen, ratten en caviae, worden de dieren, na een dag vasten, voedsel met het opgezogen materiaal vermengd, verstrekt. Konijnen doet men beter door middel van spuit en gummi catether de oöcysten in de slokdarm te spuiten.

Het bewaren van oöcysten-houdende faeces geschiedde als volgt:

Het materiaal werd zoo dun en los mogelijk uitgestreken op groote petrischalen belegd met een laag vochtige watten, waarop filtreerpapier. Vaste keutels werden voordien in een mortier met wat boorwater of water waarin wat thymol is toegevoegd (gaat rotting tegen), fijn gewreven. De petrischalen werden niet geheel gesloten, om de noodzakelijke zuurstof-toevoer niet te verhinderen en in een broedstoof gebracht op 22—26°, waarin de oöcysten prachtig sporuleeren. De vochtige watten geven waterdampdruppeltjes aan den onderkant van het deksel, waardoor een vochtige warmte wordt onderhouden.

Het verdient aanbeveling, om de watten eens in de 4 dagen met wat boor- of thymolwater te bevochtigen, teneinde uitdroging en beschimmelen te voorkomen.

c. Natiefpreparaat.

1. Onderzoek van faeces op oöcysten.

Van het te onderzoeken materiaal werd op de gebruikelijke wijze een natiefpreparaat vervaardigd. Een partikeltje mest werd met druppeltje water op een voorwerpglas vermengd en met een dekglasje bedekt. Door het laatste heen en weer te schuiven verwijdt men de grove deeltjes en verkrijgt men de verlangde dikte, waarna het preparaat bij sterk gedempt licht werd bekeken.

Voor natiefpreparaten van oöcysten, waarin ik de sporulatie bestudeerde, werd gebruik gemaakt van Oost-Indische inkt, die te voren met een weinig water was verdund. Ik nam een druppel hiervan op het voorwerpglas en vermengde die met

het materiaal, dat daarna met een dekglas werd bedekt. Het preparaat maakte ik zoo dun mogelijk.

In deze preparaten zag ik buitengewoon mooi de dubbele contour, de micropyle en de innerlijke structuur, doordat de Oost-Indische inkt het licht in de omgeving van de oöcysten dempt en slechts de oöcysten het licht goed doorlaten.

2. *Het bestudeeren der beweging van merozoieten en microgameten.*

Voor dit doel ging ik als volgt te werk. Ik nam heldere serumagar, die na verwarming in platte, dunne petrischalen werd uitgegoten en daarna snel voor het grootste gedeelte hieruit verwijderd, waarop de petrischalen in de thermostaat op $37\frac{1}{2}$ — 39° C. geplaatst werden. Op den bodem der petrischalen bleef een dun laagje agar over, waarop wat darmsap of een stukje darmslijmvlies van een pas gedood geïnfecteerd konijn werd gebracht. Hierop legde ik een verwarmd dekglasje en het preparaat werd bekeken met de olie-immersie. De beweging der merozoieten en microgameten was in dit preparaat goed te volgen. In de thermostaat teruggebracht, bleven deze vormen nog na een uur beweging vertoonen. Heeft men geen serum-agar, dan kan ook gewone heldere agar worden gebruikt, mits we het darmsap met wat peritoniaalvocht of vocht uit de voorste oogkamer vermengen.

Deze agarmethode is practischer en kan bij het gemis van een deugdelijke verwarmde objecttafel dezen zeer goed vervangen.

d. *Dauerpreparaten.*

1. *Het vervaardigen van uitstrijkjes.*

Uitstrijkjes worden als volgt vervaardigd. Men knipt een klein stukje van het te onderzoeken darmmateriaal uit, wrijft dit zacht en snel eenige malen over een dekglasje, dat men met de bestreken kant op de fixatievloeistof laat vallen, zoodanig dat ze erop drijven. Na afloop van het vervaardigen dezer uitstrijkjes worden de dekglasjes met een pincet in de

fixatievloeistof met de bestreken kant naar boven gekeerd. Uitdroging van het preparaat moet worden vermeden.

De dunne inhoud van coccidiahaarden in den lever werd met een fijn penseeltje voorzichtig op dekglasjes uitgestreken en onmiddellijk gefixeerd. Ook kan een haardje van het omgevende leverparenchym worden losgeprepareerd, daarna opengeknipt en gelijk het darmmateriaal worden uitgestreken. Bij deze methode ziet men echter in de preparaten geen mooie merozoieten bundels.

Om goede preparaten van vrije merozoieten en microgameten te verkrijgen, deed ik het volgende:

Onmiddellijk nadat een konijn lijdende aan coccidiosis gedood was, werd de buikwand geopend en in de darmwand een opening gemaakt, waaruit de darminhoud door de nog aanwezige peristaltiek werd uitgedreven. Een weinig hiervan werd met een druppeltje serum over een absoluut vetvrij dekglasje uitgestreken en gefixeerd in warme fixatievloeistof. De uitstrijkjes moeten natuurlijk zoo dun mogelijk zijn.

2. *Fixatie.*

De uitstrijkjes of weefselstukken werden gefixeerd met fixatievloeistof volgens Schaudinn, bestaande uit 2 deelen gconcentreerd sublimaat en 1 deel absolute alcohol, waaraan nog 2 % ijsazijn toegevoegd was.

Voor een snelle fixatie werd deze fixatievloeistof verwarmd. De Schaudinn'sche fixatievloeistof heeft dit voordeel boven die van Bouin (formaline-pikrinezuur), dat we hiermede aangenamer kunnen werken en de alcohol, die voor het uitwassen van de formaline-pikrinezuur noodig is, besparen.

De uitstrijkjes fixeerd ik minstens een half uur, waarna zij tien minuten in jood-alcohol kwamen voor het verwijderen van de sublimaat, daarna in stroomend water (20 min.), dat de jodium uitspoelde. Alvorens te kleuren is het aan te bevelen, de uitstrijkjes eenige uren in alcohol 70 % te harden.

3. *Kleurmethoden.*

Voor het kleuren der preparaten werden de kleurstoffen

gebruikt, welke meestal bij het protozoen-onderzoek aanwending vinden.

Haemaluin volgens Mayer.

Deze kleurmethode is het eenvoudigst en geeft voor het gewone onderzoek heel goede resultaten. Coupes of uitstrijkjes komen 20 tot 25 minuten in deze oplossing en kunnen dan worden afgespoeld. Men kan ook een uur of langer kleuren en dan met zoutzure alcohol of zoutzure glycerine-alcohol (Reichenow) differentieeren. Deze laatste differentiatie-vloeistof is de meest geschikte, daar door het mindere zoutzuurgehalte het proces langzamer gaat, doch vooral omdat het gevaar voor een te sterke ontkleuring en uitdroging (glycerine) tijdens de controle onder de microscoop gering is. Tijdens het differentieeren controleert men af en toe een preparaat onder de microscoop. Is de structuur der epitheelcelkernen goed zichtbaar, dan worden de preparaten gedurende minstens 1 kwartier in stroomend water uitgespoeld. Dan komen zij door de alcoholreeks en xylol in canadabalsem.

Voor een nauwkeurige cytologische studie zijn echter de Delafield'sche haematoxiline en de Heidenhain'sche ijzerhaematoxiline-kleuring aangewezen.

Voor al met deze laatste kleurstof treden de kernstructuren buitengewoon scherp op. Een nadeel van deze kleurmethode is, dat alle celinsluitsels zich intensief zwart kleuren, zoodat we, alvorens deze kleuring aan te wenden ons in de preparaten eerst orienteeren moeten met haemaluin of Delafield. Haemaluin kleurt alles blauw, doch merken wij toch in binnenlichaam, chromatine, volutin en protoplasma der parasieten intensiteitverschil in kleur. Delafield, welke ook blauw kleurt, heeft dit voordeel, dat ze volutin echter rood kleurt.

Haematoxilin volgens Delafield.

Fraaie kernstructuren zien we ook bij de aanwending van Delafield volgens de volgende methode. De preparaten worden

eerst minstens 12 uur gehard in alcohol 70 % en komen daarna in een sterk verdunde oplossing van Delafield. Ik gebruikte een verdunning van 1 deel Delafield op 30 deelen aq. dest., waarin de preparaten 3 tot 5 dagen bleven. Zij worden sterk overkleurd en dan gedifferentieerd in zoutzure glycerine-alcohol. Na flink uitgespoeld te zijn, komen zij in canadabalsem na passage van de alcoholreeks en xylol.

IJzerhaematoxyline volgens Heidenhain.

De uitstrijkjes worden eerst in versch bereide 4 % ijzer-aluinoplossing gedurende minstens 1 uur in de broedstoof van $37\frac{1}{2}^{\circ}$ gebeitst, waarna zij even met gedestilleerd water worden gespoeld en in de Heidenhain oplossing komen. Hier blijven zij 1 tot 12 uren. Het differentieeren geschiedt met 2 % ijzeraluin.

Merozoieten en jonge schizonten ontkleuren veel eerder dan de andere ontwikkelingsvormen, zoodat wij in één preparaat dan ook niet alle stadia kunnen bestudeeren.

Het beste is dan ook de door Nöller aangegeven „Zeit-färbung” te volgen, bestaande in: 1 uur beitsen in ijzeraluin in de broedstoof bij 37° , even met aq. dest. afspoelen en dan 1 uur kleuren, eveneens in de broedstoof. Dan de uitstrijkjes afspoelen en differentieeren in een 2 % ijzeraluin oplossing gedurende $3\frac{1}{2}$ — $4\frac{1}{2}$ minuten (d.i. voor amoeben).

Voor coccidia bepaalde ik den differentiatietijd tusschen 1 en $5\frac{1}{2}$ minuut). Onder gestadig bewegen der petrischaal onderbreekt men al naar gelang het aantal preparaten, het differentieeren. In deze preparaten van verschillende differentiatietijd hebben we meer kans de ontwikkelingsvormen te zien, zooals we die voor een cytologisch onderzoek wenschen.

Voor het verkrijgen van goede microgameten preparaten kleure men zeer dunne uitstrijkjes na 2—4 uren beitsen in 4 % ijzeraluin minstens 6—12 uren in Heidenhain. Men differentieere met een 2 % ijzeraluinoplossing en niet langer dan $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ m. Op die wijze is het mij gelukt de microgameten met hunne geesels in het gekleurde preparaat aan

te toonen, hetgeen vóór mij nog geen onderzoeker is mogen gelukken.

IJzerhaematoxiline preparaten kleurde ik steeds na met congorood of verdunde 1 % eosineoplossing.

Het plasma der epitheelcellen en ontwikkelingsvormen der parasieten nemen deze kleurstoffen op, waardoor de omtrekken en de kernen beter te voorschijn komen.

Coupees worden op de gewone histologische methode vervaardigd en volgens de hiervoren behandelde kleurmethode gekleurd.

HOOFDSTUK III.

KOMEN BIJ HET KONIJN TWEE SOORTEN COCCIDIA VOOR?

a. Bevindingen van andere onderzoekers.

Met de waarneming van Leuckart, dat in de darmen naast de *Eimeria stiedae* ook een kleinere vorm voorkomt, die hij de *Coccidium perforans* noemde, ontstond de vraag, of dit coccidium tot een andere soort dan de in den lever voorkomende behoort. Het soortverschil zou volgens Leuckart morphologisch gekenmerkt zijn door het aanzienlijk verschil in grootte dezer twee parasieten en biologisch door de localisatie.

Naast een gelijktijdig voorkomen van lever- en darmcoccidiosis zou hij ook gevallen hebben waargenomen, waarbij of slechts de darmen of slechts de lever door de parasieten waren aangetast. De darmcoccidia zouden uitsluitend de *Coccidium perforans* zijn. Tot de onderzoekers, die het met Leuckart eens waren, behoorden Rieck, later Railliet en Lucet, die het soortverschil zagen in het ontbreken van het restlichaam bij de gesporuleerde oöcysten van de *Eimeria stiedae*. R. Pfeiffer bestreed deze meening en meende, dat de grootte der cysten zoo varieerend was, dat hieruit geen conclusies kunnen worden getrokken.

Hieronder de afmetingen, die verschillende onderzoekers voor de *stiedae* of *perforans* vonden:

	E. stiedae:				E. perforans:			
Leuckart (1879-'86)	32	—37	l.	15 —20	br.	24	l.	12— br.
Labbe (1896)	36	—49	„	18 —28	„	24—36	„	11—13 „
Metzner (1903)	28	—42.5	„	14 —28	„			
Hadley (1911)	21.7	—40.08	„	15.03—25.05	„			

		E. stiedae :	E. perforans :
Reich	(1913)	18.2—11.7 l.	
Reichenow	(1921)	28 —40 „	16—25 br. 16—23 l. 12—16 br.
Nieschulz	(1922)	28 —45 „	19—31 „

Metzner en Reich kwamen, wat betreft het ontbreken van het restlichaampje bij de levervorm, tot andere uitkomsten. Dit lichaampje konden zij n.l. in de cysten steeds aantoonen; in vele gevallen was echter de ligging tusschen de sporocysten zoo ongunstig of was het zoo klein, dat ze moeilijk was aan te toonen.

Labbé, Wasielewski en Hadley merkten op, dat bij een deel der oöcysten het restlichaampje ontbreekt. Reichenow plaatste zich op het standpunt, dat het ontbreken van dit lichaampje het soortverschil niet aangeeft. In de gesporuleerde oöcysten van de *Eimeria stiedae* vond hij steeds een restlichaampje, soms echter zoo klein ($2-3 \mu$), dat ze nauwelijks kon worden opgemerkt. Evenals de laatstgenoemde onderzoekers zag hij soms cysten, waar van dit lichaampje geen spoor te zien is. Hij komt dan ook tot de conclusie, dat het hier een kwestie van „afstamming” der oöcysten is. Er zijn coccidiastammen met en zonder restlichaampje. Zoo zullen zij, die geen restlichaampje bij de gesporuleerde oöcysten zagen, te doen hebben gehad met een „restlichaamlooze” stam. Of de oöcysten van de darmen of van de lever afkomstig zijn, heeft hier geen invloed.

Lucet gaf nog een ander kenmerk op. waardoor de *Eimeria perforans* zich van de *Eimeria stiedae* onderscheidt, n.l. de kleur, die bij de laatste geel is, terwijl de perforans kleurloos schijnt.

Reichenow, een voorstander van de soortverscheidenheid, geeft als duidelijk onderscheidingsteeken aan, de vorm der cysten. Hij geeft hierover de volgende beschrijving:

„De *Eimeria stiedae* is elleptisch of eivormig, naar de pool, waar de micropyle zit, toegespitst. De *Eimeria perforans* daarentegen is nooit eivormig. Van de elliptische stiedae

onderscheiden zij zich, doordat zij meer walsvormig zijn met vier afgeronde hoeken. Ze zijn van onregelmatiger vorm en hebben geen volmaakt geometrisch figuur. De micropyle is bij de *Eimeria stiedae* afgeplat en scherp begrensd; bij de *Eimeria perforans* meer gelijkmatig afgerond en eerst bij de sterkste vergrooting en goede belichting aan te wijzen als een lichtere plek in de membraan."

Als soort kenmerk voert hij verder den sporulatietijd aan, die, zooals reeds door Leuckart was opgemerkt voor de *Eimeria perforans* korter is.

In zijn samenvatting betreffende de soortkenmerken der *Eimeria perforans* en *Eimeria stiedae*, in Prowazek-Nöllers „Handbuch der Pathogene Protozoen", neemt hij de volgende hoofdverschillen van beide vormen aan:

Eimeria stiedae.

Oöcysten gemiddeld $28 - 40 \mu$ lang, $16 - 25 \mu$ breed. Sterk geel gekleurd, aan een pool afgeplat, elliptisch of naar de afgeplatte pool sterker toegespitst. Aan de afgeplatte pool een groote duidelijke micropyle. Kortste sporulatietijd in faeces 70 uur. De cysten hebben naast 4 sporen van $14 - 18 \mu$ lengte meestal een restlichaam van verschillende grootte.

Zelden ontbreekt dit.

Eimeria perforans.

Oöcysten $16 - 23 \mu$ lang, $12 - 16 \mu$ breed, gemiddeld 20 bij 14μ . Kleurloos, onregelmatige vorm, geen afplatting aan de pool, micropyle nauwelijks zichtbaar. Kortste sporulatietijd 48 uur. De rijpe cysten hebben, naast vier sporen van $10 - 12 \mu$ lengte, steeds een duidelijk zichtbaar restlichaampje.

Experimenten om het soortverschil der beide *Eimeria*'s aan te toonen, deed o.a. Metzner, die oöcysten, afkomstig uit de galblaas, na eene operatie in het duodenum van coccidiavrije konijnen inspoot. In alle gevallen verkreeg hij steeds eene darminfectie en schaarde hij zich aan de zijde dergenen, die

geen soortverschil aannemen. Experimenten, die Lucet later verrichtte, hadden echter andere uitkomsten.

Per os werden konijnen met oöcysten uit de galblaas afkomstig, gevoerd. De dieren stierven allen tusschen den 23sten en 35sten dag aan levercoccidiosis. Dit experiment bij 10 andere dieren verricht, gaf steeds hetzelfde resultaat. Zij stierven binnen genoemden tijd, toonden groote veranderingen in den lever, terwijl de darmen vrij bleven.

Op de proeven van Lucet zal ik later terug komen, zulks in verband met bevindingen bij mijn eigen onderzoekingen.

b. Eigen Onderzoekingen.

Teneinde het gevaar te ontwijken met coccidia te experimenteren uit een en denzelfden stam, werd voor het onderzoek materiaal genomen van dieren van verschillende plaatsen afkomstig. Het materiaal werd verkregen uit de fokkerij van proefdieren van het Instituut voor Parasitaire en Infectie ziekten, mede uit ter onderzoek aan dit Instituut en het Pathologisch Instituut ingezonden zieke dieren en cadavers. Ook verschaftte een poelier mij 159 darmen van wilde konijnen, welke ik aanwendde voor een vergelijkend onderzoek.

In de faeces van konijnen kon ik de volgende vormen van coccidia onderscheiden, die soms allen naast elkaar voorkwamen. Van den 4den vorm zag ik slechts eenmaal een spontane reine infectie.

1ste vorm.

Eivormige oöcysten, naar de mycropyle-pool scherper toeloozend, kruikvormig. Ook elliptische, mycropyle afgeplat, duidelijk zichtbaar en begrensd. Kleur groen- of goudgeel. Afmetingen: 28—44 μ lengte, 21—30 μ breedte, gemiddelde grootte 37.4—25.5. Gemiddelde vormindex 0.68. Sporulatietijd versch ontlastte faeces 55 tot 60 uur bij 22 tot 24° C. Bij de sporulatie wordt een restlichaam gevormd (fig. 9, tafel 2).¹⁾

¹⁾ In faeces die eenigen tijd bewaard zijn, kunnen deze oöcysten de buitenste membraan verliezen, waarbij de afplatting van de micropyle verdwijnt en de cyste kleurloos wordt.

2de vorm.

Oöcysten walsvormig, sommige onregelmatig van vorm, nooit ovoid, naar de micropyle-pool onmerkbaar smaller wordende en afgerond. Geen of slechts moeilijk waar te nemen micropyle. Kleurloos.

Afmetingen: 15—30 μ lengte, 11—18 μ breedte, gemiddelde grootte 23.5—14.6. Gemiddelde vormindex 0.62. Sporulatietijd versch ontlastte faeces bij 22 tot 24° C. 24 tot 27 uur. Bij de sporulatie wordt een restlichaam gevormd (fig. 7, tafel 2).

3de vorm.

Zuiver eivormige oöcysten, naar de micropyle pool toe langzaam toegespitst, micropyle niet afgeplat, zichtbaar als een onduidelijk zwart streepje. De kleur is lichtgeel.

Afmetingen: lengte 25—32 μ lengte, 16—20 μ breedte, gemiddelde grootte 29.7—16.4. Gemiddelde vormindex 0.59. Sporulatietijd versch ontlastte faeces bij 22—24° C. 40—42 uur. Bij de sporulatie wordt een restlichaam gevormd (fig. 8, tafel 2).

4de vorm.

Oöcysten lang ovaal, ook walsvormig, enkele boonvormig, naar de micropyle langzaam toegespitst en afgerond. Micropyle niet afgeplat, niet scherp begrensd, dubbele contour hier duidelijk zichtbaar. Kleur is lichtgeel. Uit de galblaas afkomstige oöcysten zijn kleurloos.

Afmetingen: 32—42 μ lengte, 18—22 μ breedte. Gemiddelde grootte 36.9—19.8. Gemiddelde vormindex 0.53. Sporulatietijd versch ontlastte faeces bij 22 tot 24° C. 42—46 uur. Bij de sporulatie wordt *nooit* een restlichaam gevormd (fig. 10, tafel 2).

In de onderstaande tabel een overzicht van de metingen die werden verricht.

100 Cysten. . .	Lengte in μ	Breedte in μ	Grootste oöcyste	Kleinste oöcyste	Gemiddelde grootte	Kleinste en grootste vormindex	Gemiddelde vormindex	Sporulatietijd 22 tot 24° C.
1ste vorm (<i>E. stiedae</i>) . . .	28—44	21—30	44—29	28—22 ¹⁾	37.4—25.5	0.65 0.70	0.68	55—60 uur
2de vorm (<i>E. perforans</i>) ²⁾ .	15—30	11—18	30—16	15—11	23.5—14.6	0.58 0.65	0.62	24—27 uur
3de vorm . . .	25—32	16—20	32—18	25—17	29.7—16.4	0.56 0.61	0.59	40—42 uur
4de vorm . . .	32—42	18—22	42—21	32—18	36.9—19.8	0.50 0.55	0.53	42—46 uur

¹⁾ Van de 100 oöcysten zag ik slechts 2 van deze afmeting.

²⁾ Reichenow geeft als maximale lengte 23 μ aan. Ik mat echter ook grotere oöcysten die zonder eenigen twijfel tot de *perforans* behoorden (kleunloos, geen micropyle, sporulatietijd 27 uur, meestal lang walsvorming, met een vormindex van 0.58).

Voor een nauwkeurige bestudeering en bepaling van den sporulatietijd werden slechts die faeces voor het onderzoek aangewend, die versch gedeponeerd waren of afkomstig van de blindedarm van een pas afgemaakt konijn.

Zooals in de techniek is aangegeven werden heele vaste keutels te voren in eene mortier met een *weinig* water gewreven, in petriscalen uitgestreken en in de broedstoof gezet.

Indien ik moet afgaan op de groote morphologische verschillen dezer vier beschreven vormen, t.w. vorm, grootte het al of niet aanwezig zijn van eene duidelijk begrensde micro-pyle, de kleur en de duur der sporulatie, dan kan ik niet anders aannemen, dan dat er in de konijnendarm niet *twee* doch *vier* coccidiavormen voorkomen, waarvan de *Eimeria stiedae* en de *Eimeria perforans* de klassieke zijn.

Dat de genoemde 3de en 4de vorm tusschenvormen zijn van de *Eimeria stiedae* acht ik uitgesloten, daar zij, afgezien van de sporulatietijd te veel in grootte, vorm en kleur verschillen.

De morphologische verschillen dezer vier vormen waren zoo groot, dat het mij geen moeite kostte, ze in faeces, waar ze allen naast elkaar voorkwamen, van elkaar te onderkennen.

Met alle vier vormen werden infectieproeven verricht bij konijnen, die absoluut vrij waren van deze parasieten. Aan gezien volgens mijn onderzoekingen *elk* konijn, al zij het in zeer geringe mate, geïnfecteerd is, moesten voor mijne experimenten coccidiavrije dieren worden opgefokt. Hiervoor werden drachtige konijnen in bodemlooze kisten geplaatst, voorzien van turfstrooisel en stroo, dat elken dag werd verscht. Vijf dagen na de worp werden de hokken opnieuw elken dag van versch turfstrooisel voorzien, op den 11den dag de jonge dieren van de moeder verwijderd en verder met melk, later met gekookte wortelen groot gebracht.

Op die wijze beschikte ik over coccidiavrije dieren, waarmee de volgende experimenten werden verricht.

Experiment 1.

Konijn Nos. 980 en 981 (drie weken oud).

Gevoerd met materiaal, bevattende 96 % *stiedae* en 4 % *perforans*.

Op den 3den dag diarrhee. 5den dag faeces bijna normaal. 7den dag hevige diarrhee. Op den avond van den 7den dag enkele *perforans* oöcysten. Op den 8en dag *perforans* oöcysten.

Op den avond van den 9den dag ook enkele *stiedae*.

Op den 10den dag talrijke oöcysten van de *stiedae*, ook *perforans*.

Gedood op den 13den dag (No. 980).

Sectie en bevindingen.

Darmslijmvlies sterk ontstoken en gezwollen. Darminhoud vol oöcysten, merozoieten, macrogameten en andere ontwikkelingsvormen. De oöcysten kwamen morphologisch overeen met het infectiemateriaal, terwijl ook de *stiedae* overwegend in aantal was.

De lever vertoonde macro- en microscopisch geen veranderingen. In de gal konden geen oöcysten en merozoieten worden aangetoond.

Uitstrijkpreparaten werden gemaakt van het slijmvlies in de onmiddellijke omgeving van de ductus choledochus uitmonding en 8, 15, 20, 40, 50 cM. hiervan verwijderd.

Op 15 cM. werden de eerste oöcysten, merozoieten en andere ontwikkelingsvormen waargenomen.

Proefdier 981 op den 17den dag na de infectie gedood. Het dier was sterk vermagerd. Darmcoccidiosis, lever vrij. In het darmslijmvlies werden $\pm 6-8$ cM. van de ductus choledochus uitmonding de eerste ontwikkelingsvormen aangetroffen.

Experiment 2.

Konijn Nos. 982 en 983 (drie weken oud).

Van een spontaan gestorven konijn met 10 % *perforans* en 90 % *stiedae* werden de oöcysten volgens de keukenzoutmethode verzameld, uitgewassen en gedurende 30 uur op

24° C. geplaatst, teneinde alleen de *perforans* te laten sporuleeren. Hiermede werd gevoerd konijn 982.

Op den 3den dag had het dier hevige diarrhee.

Op den 5den dag stierf het. In het darmslijmvlies ± 40 cM. van de pyloris gedegenereerde merozoieten. Geen oöcysten.

Konijn 983 werd geïnfecteerd met een kleinere hoeveelheid van het vorige materiaal, dat in de ijskast was bewaard.

Op den 7den dag enkele oöcysten van de *perforans*.

8sten dag talrijke oöcysten van de *perforans*.

9den dag ook enkele *stiedae*.

10den dag talrijke oöcysten *perforans* en *stiedae*. ($\pm 95\%$ *perforans*, 5% *stiedae*.) Op den 14den dag afgemaakt.

Sectie en bevindingen.

Het darmslijmvlies was hyperaemisch, gezwollen. Op 12 cM. van de ductus choledochus uitmonding de eerste ontwikkelingsvormen. Oöcysten van de *perforans* kwamen morphologisch overeen met het infectiemateriaal. Gal oöcystenvrij, ook geen merozoieten bevattend. De lever, in dunne schijfjes gesneden, vertoonde macro- en microscopisch geen enkele haard.

Dat hier, naast de *perforans*, ook de *stiedae* voorkwam, is hierdoor te verklaren, dat de *stiedae* in de ijskast, hoewel langzaam, toch verder sporuleerde. Ongesporuleerd materiaal, dat ik later 12 dagen in de ijskast bewaarde, bleek bij onderzoek reeds volkomen gesporuleerd te zijn.

Experiment 3.

Konijn Nos. 984 en 985 (drie weken oud).

Sterk oöcystenhoudend materiaal, afkomstig van spontaan gestorven konijn uit de fokkerij, waarin behalve de *perforans* en de *stiedae* ook de 3de vorm voorkwam, werd gedurende 40 uur op 24° C. gehouden. Na 40 uur waren de *perforans* en de derde vorm volkomen gesporuleerd, met welk materiaal geïnfecteerd werd.

Naast dezelfde ziekteverschijnselen als beschreven in

experiment 2, verschenen op den 7den dag de eerste oöcysten van de *perforans*.

Op den 8sten dag waren deze talrijk. Op den 9den dag verscheen, naast de *perforans* de 3de vorm in groote hoeveelheid, op den 10den dag kwamen ze allen in groot aantal naast elkaar voor.

Proefdier 984 werd op den 10den dag afgemaakt.

Sectie en bevindingen.

De pathologisch-anatomische veranderingen waren gelijk aan die bij de vorige sectie. Ook hier konden geen ontwikkelingsvormen in de onmiddellijke nabijheid van de ductus choledochus uitmonding worden gevonden. Gal en lever waren vrij van oöcysten, merozoieten en parasietenhaarden.

Proefdier 985 stierf op den 12den dag na de infectie.

Wegens vergevorderde rotting werd geen onderzoek ingesteld.

Experiment 4.

Konijn No. 986 t/m. 989 (ruim 2 weken oud).

Een lever met jonge nog niet verkaasde haarden, waarin uitsluitend de bovenvermelde 4de vorm van coccidia, werd met kwartszand en wat thymol zacht tot een dunne brei stukgewreven, op de bekende manier uitgestreken en op 24° C. broedstoof-temperatuur gezet. Na 42 uur waren 90 % der oöcysten gesporuleerd, deze met keukenzout verzameld, uitgewassen en hiermede geïnfecteerd konijnen 986 t/m. 989.

Proefdier 986 vertoonde het gewone ziektebeeld. Op den 10den dag waren in de faeces talrijke oöcysten van het 4de type. Op den 11den dag afgemaakt.

Sectie en bevindingen.

Pathologisch-anatomische veranderingen gelijk aan de reeds bovenvermelde. Slijmvlies in de omgeving ductus choledochus uitmonding bevat geen ontwikkelingsvormen. Een nauwkeurig

microscopisch onderzoek van gal en lever leverde niets positiefs op.

Proefdier 987 op den 23sten dag na de infectie afgemaakt.

Sectie en bevindingen.

Weinig oöcysten in de faeces. De eerste ontwikkelingsvormen ± 10 cM. van de galganguitmonding. Gal en lever parasieten vrij.

Proefdier 988 stierf op den 8sten dag na de infectie. No. 989 werd met creoline behandeld, genas, doch bleef in geringe mate oöcystendrager.

Met bovenstaande experimenten en metingen werd aangetoond:

1. dat in de konijnendarm 4 coccidiavormen voorkomen, of voor kunnen komen;
2. dat de sporulatietijd voor elken vorm verschillend is;
3. dat de incubatietijd van de *perforans* korter is, dan die van de andere drie vormen;
4. dat uit de lever stammende oöcysten ook *darmcoccidiosis* kunnen veroorzaken.

In verband met dit laatste punt, doet zich de vraag voor of *lever* en *darmcoccidia* dan indentisch zijn.

Deze aangelegenheid zal in het volgende hoofdstuk worden behandeld.

HOOFDSTUK IV

ZIJN DARM- EN LEVERCOCCIDIA INDENTISCH?

Voor de beantwoording dezer vraag is een goed inzicht van de pathogenese dezer ziekte noodzakelijk. Verder moet dan ook in de eerste plaats worden nagegaan, langs welken weg de leverinfectie plaats vindt en de plaats, waar de sporozieten de oöcysten verlaten. In dit verband werden de volgende proeven verricht:

Experiment 5.

Om de infectie op de meest natuurlijke wijze te doen plaats hebben, werden de proefdieren na een dag vasten, sterk oöcysten houdend materiaal, waaraan tevens wat norit was toegevoegd, op dunne schijven koolraap verstrekt.

Gevoerd werden konijn No. 873 en No. 874. Proefdier No. 873 werd 2 uur later afgemaakt en de darminhoud, daar waar het zwarte norit voorkwam, onderzocht. Ik kwam daarbij tot de volgende bevindingen:

Op 12 cM. van de Vatersche papil de oöcysten nog in hun omhulsel, niet de minste verandering vertoonend.

Op 20 cM. eveneens.

Op 40 cM. enkele sporozieten uit de sporocyste, enkele oöcysten leeg.

Op 60 cM. leege oöcysten.

Op het eind van de dunne darm leege oöcysten.

Proefdier 874 op den 13den dag afgemaakt. Uitstrijkjes van de onmiddellijke omgeving der Vatersche papil bevatten geen ontwikkelingsvormen. Op 12 cM. idem. Op 20 cM. de

eerste ontwikkelingsvormen, merozoieten, macrogameten, microgameten, rijpe oöcysten.

Experiment 5 werd nogmaals herhaald. Het dier werd ditmaal door middel van de slokdarmsonde geïnfecteerd met een groote hoeveelheid oöcysten en na $2\frac{1}{2}$ uur afgemaakt. Het resultaat bleef gelijk.

Uit dit experiment kon worden geconcludeerd, dat de leverinfectie *niet* plaats kan hebben door *sporozoieten*, die in het duodenum na het verlaten van de oöcyste de ductus choledochus inkruipen, zooals andere onderzoekers het aannemen. De anatomische ligging van de Vatersche papil pleit trouwens tegen deze infectie modus. De galgang-uitmonding bij het konijn is nl. nog geen cM. achter de sluitspier der pyloris gelegen en vóór dat het pancreassap, dat een noodzakelijke factor is voor het vrijkomen der sporozoieten, zijne werking heeft uitgeoefend, zijn de oöcysten reeds het duodenum gepasseerd.

Naar mijn meening geschiedt de leverinfectie dan ook niet door *sporozoieten*, doch heeft deze plaats door *merozoieten*. Voor deze opvatting geven de volgende proeven en waarnemingen bewijsmateriaal.

Van alle afgemaakte dieren, lijdende aan coccidiosis, werden steeds preparaten van het darmslijmvlies op bepaalde afstanden vervaardigd, gekleurd en nauwkeurig onderzocht op ontwikkelingsvormen. Bij alle dieren, die alleen lijdende waren aan *darmcoccidiosis*, werden al naar den graad van infectie, het slijmvlies aangetast gevonden, hoogstens tot eene afstand van 8—12 cM. van de Vatersche papil (zie experiment 1 t/m. 4). In al deze gevallen was de lever vrij. Bij levercoccidiosis werd echter, behoudens die gevallen, dat de haarden reeds verkaasd of verkalkt waren, zonder eenige uitzondering, merozoieten, schizonten en andere ontwikkelingsvormen aangetroffen in het duodenaalslijmvlies in de onmiddellijke nabijheid van deze papil. In mijn vorige experimenten werd reeds melding gemaakt over het afwezig zijn van ontwikkelingsvormen in het slijmvlies van het eerste gedeelte van het duodenum.

Om de voortschrijding der infectie in de richting van de ductus choledochus nog nader te bestudeeren, werden de volgende proeven verricht:

Experiment 6.

Konijn No. 1001 (twee weken oud).

Gevoerd door middel van slokdarmsonde met groote hoeveelheid sterk positief materiaal, zoowel stiediae als perforans bevattend.

Gedood op den 3den dag. Vanaf de Vatersche papil werd een 60 cM. lang stuk darmslijmvlies op afstanden van 5 cM. onderzocht.

Konijn No. 1002 (twee weken oud).

Gelijk het vorige geïnfecteerd. Gedood op den 5den dag. Preparaten vervaardigd als boven.

Konijn No. 1003 (twee weken oud).

Matig geïnfecteerd met hetzelfde materiaal. Afgemaakt op den 7den dag.

Konijn No. 1004 (drie weken oud).

Matig geïnfecteerd met hetzelfde materiaal. Gedood op den 9den dag.

Konijn No. 1005 (drie weken oud).

Matig geïnfecteerd met hetzelfde materiaal. Gedood op den 15den dag.

Bij al de laatstgenoemde proefdieren werd het slijmvlies op bepaalde afstanden onderzocht.

Bevindingen:

Bij *konijn 1001* werden de eerste schizonten aangetroffen op een afstand van ± 40 cM. van de pyloris. Het spreekt vanzelf, dat het zoeken naar deze eerste schizonten uiterst moeilijk was, daar de schizogonie toch nog in het beginstadium verkeerde. De eerste merozoieten werden eerst gezien ± 45 cM. van de pyloris. De lever vertoonde macro- noch microscopisch de minste verandering en in de gal waren geen merozoieten.

Konijn No. 1002. De eerste ontwikkelingsvormen op ± 20 cM. van de pyloris.

Lever en gal vrij.

Konijn No. 1003. De eerste ontwikkelingsvormen op ± 12 cM. van de pyloris.

Lever en gal vrij.

Konijn No. 1004. De eerste ontwikkelingsvormen op ± 15 cM. van de pyloris.

Lever en gal vrij.

Konijn No. 1005. De eerste ontwikkelingsvormen $\pm 6-8$ cM. van de pyloris.

In al deze gevallen kon ondanks nauwkeurig zoeken in het darmslijmvlies in de onmiddellijke omgeving van de Vatersche papil geen ontwikkelingsvormen der parasieten worden aangetoond, hetgeen overtuigend is voor mijne bewering, dat de infectie voortschrijdt in de richting van de pyloris.

Hoogstwaarschijnlijk zullen de merozoieten, evenals vele andere darmparasieten, de eigenschap hebben, zich tegen de darmperistaltiek in voort te bewegen.

Dat de lever, bij het lang bestaan eener darminfectie langs dezen weg geïnfecteerd raakt, zeggen mij ook de volgende waarnemingen. Van een zevental op de markt van verschillende eigenaren gekochte 6 weken oude konijnen, bleken bij de sectie 5 darm- en levercoccidiosis te hebben. De inhoud der hardjes in de lever was dun, geel, pusachtig en bevatte de parasieten in alle stadia van ontwikkeling. Van alle 5 werden na het constateeren der hardjes het slijmvlies in de omgeving van de Vatersche papil onderzocht. Uit deze papil liet zich ook een druppel licht geel exudaat drukken, dat eveneens werd onderzocht. In alle preparaten, dus ook die van het slijmvlies in de omgeving van de Vatersche papil vond ik, hoewel spaarzaam, de ontwikkelingsvormen.

Van het 6de konijn, dat wèl darmcoccidiosis had, doch in de lever macroscopisch geèn haarden vertoonde, werd de gal

microscopisch onderzocht en vond ik daarin *talrijke* merozoieten. De Vatersche papil en hare omgeving waren eveneens geïnfecteerd. In uitstrijkjes en coupes van de lever mocht het mij niet gelukken merozoieten of andere ontwikkelingsvormen te vinden. In dit laatste geval had ik waarschijnlijk te doen gehad met het *begin* der leverinvasie door de merozoieten.

Naderhand werd bij alle dieren die bleken aan levercoccidiosis geleden te hebben, steeds hetzelfde onderzoek verricht en slechts in die gevallen, dat de infectie tot stilstand was gekomen (verkaasde haarden), werd het eerste gedeelte van het duodenum parasietenvrij bevonden.

Naast de leverinfectie langs den ductus cholodochus, zou nog een andere mogelijkheid van infectie *modus* zich kunnen voordoen en wel die van uit de darmen langs haematogenen of lymphogenen weg (via de ductus thoracicus).

Indien deze *modus* van infectie mogelijk is, dan zouden we veel meer gevallen van levercoccidiosis te zien krijgen; verder zouden we dan bij jonge dieren *onder* de 4 weken ook levercoccidiosis moeten vinden. Volgens mijn ervaring komt levercoccidiosis slechts voor bij dieren *boven* dien leeftijdsgrens na een *chronische darmcoccidiosis*.¹⁾

Verder zou, indien bloedvaten en lymphanen als infectiewegen konden optreden, ook de perforans in den lever voor moeten komen.

Dat de sporozoieten eerst na het passeeren van het duodenum de oöcysten verlaten en de ontwikkelingsvormen later toch hooger op worden gevonden, pleit mijns inziens ook voor eene cholagene infectie der lever.

Van alle dieren, die voor mijn experimenten werden afge maakt, werden vóór eenig ander orgaan onderzocht werd,

¹⁾ De proeven van Lucet (zie hoofdstuk III) bevestigen mijn waarneming. Zijn geïnfecteerde dieren stierven alle resp. tusschen den 23sten en 35sten dag na de infectie met levermateriaal, aan levercoccidiosis. Dat hij in de darmen geen parasieten vond ligt mijns inziens aan de omstandigheid, dat de dieren van de darmcoccidiosis zoo goed als genezen waren en bij een geringe infectie van het darmkanaal de ontwikkelingsvormen moeilijk zijn aan te toonen.

natiefpreparaten van de darmscheiklieren vervaardigd. In drie gevallen vond ik in deze klieren oöcysten, die echter meestal gedegenereerd waren. In coupes en uitstrijkjes van deze organen kon ik ondanks lang en nauwkeurig zoeken geen ontwikkelingsvormen van den parasiet vinden. Hoogstwaarschijnlijk werden deze oöcysten met de lymphstroom van uit de darmen meegevoerd om hier te stagneeren. In de longen van een haas, welke met de darmen voor het *coccidium* onderzoek mij door een poelier werden verstrekt, vond ik eenmaal oöcysten (zeer spaarzaam) van de door Nieschulz beschreven *Eimeria leporis*. Door rotting konden van deze organen echter geen coupes voor een nauwkeurig onderzoek worden vervaardigd. Tot mijn spijt had ik ook de lever van dezen haas niet ter mijner beschikking, om na te gaan, of de in de longen gevonden oöcysten oorspronkelijk niet van de lever afkomstig waren. Bij levercoccidiosis zagen Brault en Loeper (1907) en Heidl meermalen oöcysten in groot aantal in de bloedvaten der levers, waarschijnlijk door doorbraak der coccidiahaarden daarin geraakt.

Om de mogelijkheid van eene haematogene infectie na te gaan, deed ik het volgende experiment:

Experiment 7.

Konijn Nos. 888 en 889.

Onmiddellijk nadat een dier, lijdende aan coccidiosis, was gedood, en levercoccidiosis was geconstateerd, werd de dunne pusachtige inhoud der haarden die talrijke merozoieten bevatte, met een recordspuitje, waarin eenige cc. physiologische NaCl oplossing (het spuitje met phys. NaCl werd 1 uur van te voren in de broedstoof van $37\frac{1}{2}^{\circ}$ gebracht), opgezogen en in de oorvene van twee andere dieren ingespoten.

Resultaat:

Proefdier 888 werd 14 dagen later afgemaakt. Lever, nieren, milt en longen nauwkeurig onderzocht. Geen enkele coccidiahaard werd aangetroffen. Van deze organen vervaardigde

ik vele natiefpreparaten, die ik op ontwikkelingsvormen der parasiet onderzocht, echter met negatief resultaat. In de serie-coupees van den lever mocht het mij evenmin gelukken ook maar een ontwikkelingsvorm aan te treffen.

Proefdier No. 889 werd 25 dagen na de inspuiting gedood. Evenals bij het vorige dier waren alle organen parasietenvrij.

Met bovenstaand experiment meen ik te hebben aangetoond, dat eene haematogene infectie onwaarschijnlijk is. Ik ben echter niet gerechtigd de mogelijkheid uit te sluiten, dat bij de natuurlijke infectie de lever tòch haematogeen geïnfecteerd kan raken. Immers den onderzoeker is het wèl mogelijk experimenten te doen, om na te gaan of parasieten langs den ductus choledochus de lever bereiken kunnen. Onmogelijk is het hem echter hierbij de lever voor eene eventueele infectie te behoeden, daar het met onze tegenwoordige techniek nog niet doenlijk is, de bloedvaten naar den lever tijdens het experiment uit te schakelen.

Waarom wij de *E. perforans*, voor welke de infectieweg langs de ductus choledochus toch ook open staat, niet in de lever vinden, ligt mijns inziens in het feit, dat de perforans bij eene spontane infectie verreweg het minst in aantal is.

Voor de bestudeering der geslachtelijke gedifferentieerde vormen van de perforans, voerde ik later 3 eveneens coccidia-vrije konijnen, uitsluitend met *E. perforans*. Een der dieren werd zeer sterk geïnfecteerd. De twee anderen slechts matig en de infectie gedurende 3 achtereenvolgende dagen herhaald, teneinde hiermede te trachten een chronische infectie te verkrijgen en te zien, of de lever dan op het laatst niet geïnfecteerd raakte. Op den 8sten dag trof ik het eerste sterk geïnfecteerde dier in agone aan en werd het, om toch nog wat aan het proefdier te hebben, gedood. De sectie gaf de volgende bevindingen:

In de lever macroscopisch geen haarden.

In de gal talrijke merozoieten van het *perforans*-type (zie volgend hoofdstuk).

Darmslijmvlies van het begin van het duodenum tot in

het laatste gedeelte van de dunne darm sterk gezwollen, de darminhoud zat stampvol parasieten. Vooral in de tweede helft van de dunne darm kwamen talrijke coccidiahaardjes voor. Op verscheidene plaatsen waren deze zoo talrijk, dat van het slijmvlies niets te zien was. In de faeces kwamen alleen *perforans* oöcysten voor.

Het tweede proefdier, dat eerst drie weken na de eerste infectie gedood zou worden, stierf helaas op den 14den dag. In de faeces waren slechts oöcysten van *het perforans* type. De lever bevatte zeer vele speldeknoopgroote haarden. Bij doorsnede vloeide uit de grootere galgangen een dunne witgele vloeistof. In de uitstrijkjes hiervan vond ik slechts eenige oöcysten, die *morphologisch overeenkwamen* met de *perforans*. Aan het materiaal kon echter wegens de vergevorderde rotting geen waarde meer worden gehecht.

Bovenvermelde proef, die ik door het sluiten van mijne onderzoekingen, niet meer heb kunnen herhalen, zegt mij, dat bij eene kunstmatige infectie hoofdzakelijk met *perforans* ook levercoccidiosis kan worden verwekt. We zullen echter door ervaring eerst moeten weten, hoe we een proefdier moeten infecteeren om te bereiken, dat het de eerste weken niet aan darmcoccidiosis ten gronde gaat. Dat reeds na 8 dagen na de infectie de merozoieten in de gal waren aan te toonen en op den 14den dag haarden in de lever werden geconstateerd, ligt mijns inziens in de te sterke kunstmatige infectie zooals die bij een spontane nooit plaats vindt.

Op de vraag, waarom de beschreven 3de vorm niet in den lever werd gezien, kan ik dezelfde verklaring geven als voor de *perforans*. Ook deze vorm komt sporadisch voor en daarbij heeft de natuurlijke infectie niet in die mate en graad plaats als van de *stiedae* en 4de vorm.

Met de 3de vorm kan men dieren kunstmatig infecteeren door faeces waarin zij voorkomt te behandelen, zooals in de techniek is aangegeven, gedurende 40 uur op 24° broedstooftemperatuur te zetten en daarna coccidiavrije dieren hiermede te infecteeren. Men krijgt naast deze vorm echter

steeds de *perforans*, die een nog korteren sporulatietijd heeft.

In het „Handbuch der pathogenen Protozoen van Prowazek Nöller” zegt Reichenow het over de *Eimeria stiedae* en *Eimeria perforans* hebbende:

„Wenn ich glaube, durch die obigen Ausführungen die Frage „nach dem Vorkommen zweier Coccidienarten beim Kaninchen „aufgeklärt zu haben, so müssen wir hiervon doch scharf die „andere Frage nach dem Zusammenhang zwischen Darm- und „Lebercoccidiosis trennen. Nach den Angaben in der Litera- „tur müssen wir schliessen, dass *E. stiedae* sowohl im Darne „wie in der Leber des Kaninchen schmarotzt. Warum sich „die Coccidien bald nur im Darm, bald nur in der Leber, „bald an beiden Orten entwickeln, bedarf noch der Aufklärung. „Vielleicht handelt es sich hierbei gleichfalls um biologische „Unterschiede verschiedener Stämme. Auch der Sitz von „*E. perforans* bleibt noch fest zu stellen; ebenso bleibt die „Frage noch auf zu klären, ob auch diese Art unter Umstände „in so starken Infectionen auftritt, dass sie Krankheitserschei- „nungen hervorrufen kann”.

Waarom darm- en leverinfectie *samen* of darmcoccidiosis *alleen* voor kan komen, meen ik in de vorige bladzijden te hebben verklaard. Voor die gevallen echter, waar andere onderzoekers ook levercoccidiosis *zonder* aandoening van het darmkanaal hebben geconstateerd, kan ik déze uitlegging geven, dat zij dan oude infecties voor zich hebben gehad. We zien in zulke gevallen, dat de knobbeltjes in de lever meestal in het stadium van verkazing of verkalking zijn, waarin geen jonge ontwikkelingsvormen meer zijn aan te toonen. Het darmslijmvlies is dan slechts nog in geringe mate geïnfecteerd en is het aantonen van ontwikkelingsvormen over den geheelen darmtractus dan ook zeer bezwaarlijk en moeilijk.

Al het voorgaande in hoofdstuk III en IV resumeerende, kom ik tot de volgende conclusies:

1. Bij het konijn komen behalve de *Eimeria stiedae* en de *Eimeria perforans* nog twee andere coccidiavormen voor.

2. Coccidiosis kan zich voordoen òf in de darmen, òf in darm en lever.
3. De infectie van de lever geschiedt door merozoieten uit het duodenum en langs de ductus choledochus. De mogelijkheid van een haematogene infectie is echter niet geheel uit te sluiten, ofschoon volgens mijne waarnemingen deze zeer onwaarschijnlijk is.
4. De *perforans* heeft zijn zetel alleen in de darmen. Bij jonge dieren kan zij onder bepaalde omstandigheden of bij kunstmatige infecties uitgebreide darmcoccidiosis en den dood veroorzaken.

Het voorkomen van meer dan één coccidiënsoort in een gastheer is, zooals bekend, geen zeldzaamheid. Zoo komen in de *Lithobius*-darm de *Eimeria schubergi*, de *Eimeria lacazei*, de *Adelea ovata*, en de *Barrouxia schneideri* voor, die in hunne ontwikkeling zoo weinig verschillen vertoonen, dat slechts de rijpe cysten morphologisch uit elkander zijn te houden. Bij een hagedis (*Lacerta muralis*) kon Reichenow soms het bestaan van 4 tot 5 soorten haemococcidien tegelijk aantoonen. Van gemengde infecties zag hij, dat in den regel de virulentste soort de zwakkere overwoekert, in de *Lithobius*-darm b.v. de *Barrouxia* de overige.

Bij den mensch komen ook meerdere coccidia voor. Bekend zijn, de *Eimeria wenyoni*, de *Eimeria oxyspora*, de *Eimeria schneidersi* en de *Isospora hominis*. Bij den hond komen voor de *Isospora bigeminum* en de *Eimeria canis*, bij de kat de *Isospora bigemina* en de *E. felina*¹⁾, bij de haas de *Eimeria leporis* naast de *Eimeria stiedae*.

¹⁾ Door Nieschulz bij de kat gevonden en waarvan de beschrijving eerst-daags verschijnt in het „Tijdschrift voor Diergeneeskunde”.

HOOFDSTUK V.

ZIJN DE E. PERFORANS EN DE E. STIEDAE IN DE ONTWIKKELING CYTOLOGISCH VAN ELKAAR TE ONDERSCHIEDEN?

Bij den aanvang mijner proeven heb ik mij o.a. de beantwoording dezer vraag tot taak gesteld. Nu bij de proeven bleek, dat er meer dan twee coccidia-vormen bij denzelfden gastheer voorkwamen, moest ook hiermee rekening worden gehouden.

Voor de morphologische studie van elk der vormen afzonderlijk, deden zich vele moeilijkheden voor.

In de eerste plaats toch moest bij de infectieproeven worden gewerkt met absoluut parasieten-vrije dieren, in de tweede plaats getracht deze dieren met elk der vormen afzonderlijk te infecteeren en een rein-infectie te verkrijgen. De *perforans* rein te krijgen gelukte mij als in experiment I is aangegeven. De 1ste (*stiedae*) en de 4de vorm komen elk afzonderlijk rein in den lever voor en kunnen dus door middel van levermateriaal reine infecties verkregen worden, doch de 3de vorm kon met geen mogelijkheid van de *perforans* worden gescheiden, aangezien de laatste een kortere sporulatietijd heeft.

In dit hoofdstuk zullen, behalve de ontwikkeling van het coccidium, de morphologische verschillen, die ik van elk der vormen heb waargenomen, worden behandeld, naast waarnemingen, die vóór mij door andere onderzoekers werden gedaan.

a. DE SCHIZOGONIE.

Sporozoieten.

De sporozoieten (zie afb. 1 en 41 tafel I) zijn evenals de merozoieten sikkelvormige lichaampjes, doch echter ge-

drongener van bouw. Sporozoieten en merozoieten hebben behoudens hun morphologischen bouw, nog de volgende verschillen.

Met het doel zich langen tijd te kunnen encysteeren, zijn de sporozoieten voorzien van reservestoffen, die zich voordoen als een ronde of een onregelmatig ovale glycogeenachtige kogel, gelegen aan het meer stompe uiteinde. Bij den merozoiet ontbreekt deze evenals een vacuool, die bij de sporozoiet gelegen is achter de kern, naar het meer toegespitste einde. Achter dezen reservestofkogel bevindt zich de kern, die zich voordoet als een zuiver rond lichaam, met een centraal gelegen zeer klein binnenlichaam; aan de peripherie zien we de chromatine als korrels aan de binnenkant der kernmembraan. Deze kernbouw, die ons doet denken aan een entamoebenkern, zag ik nooit in de andere ontwikkelingsvormen. De kern is verder omgeven door een kernsapzône en zien we soms bedekt met granula, die waarschijnlijk volutin korrels zijn.

Een ander verschil dat door andere onderzoekers tot op heden nog niet is aangegeven, is het ontbreken van het rostrum. In goedgekleurde en gedifferentieerde preparaten kon ik steeds bij de *vrije* merozoiet een rostrum aantoonen, dat zich voordoet als een 2 tot 6 μ lang scherp puntvormig aanzetstuk aan een der uiteinden. In gekleurde preparaten is dit rostrum lichter en homogener dan het lichaamsplasma en bezit geen schuimstructuur.

De beweging der sporozoieten werd door mij als volgt bestudeerd. De oöcysten werden volgens de suikermethode verzameld. Na een uur werd een öse van de bovendrijvende oöcysten op een voorwerpglas gebracht, waaraan duodenaalsap van een versch gedood konijn werd toegevoegd, met een dekglasje toegedekt en ingesloten met paraffine. Dit geheel werd in een thermostaat op 37 $\frac{1}{2}$ ° gebracht. Na 7 uur kwamen de sporozoieten uit de sporocyste vrij. Met pancreatinum pur., waarmee Metzner schitterende resultaten kreeg, kon ik eerst na 9 à 10 uur eenige beweging waarnemen.

Het vrijworden der sporozoiëten uit hun omhulsel gebeurt als volgt:

Aan het stompe uiteinde van de sporozoiët vormt zich een uitsteeksel, waarmede de micropyle het z.g. stiedaësche lichaampje wordt geopend. De sporozoiët verlaat de sporocyste en zwemt eerst vrij in de oöcyste rond. De beweging geschiedt zoowel voor- als achterwaarts. We zien haar eerst zich uitrekken, het plasma dat zich achter de reservekogel bevindt, verplaatst zich naar voren, zoodat de reservekogel in het midden komt te liggen. Dan volgt de beweging die meer glijdende is. Men veronderstelt, dat de sporozoiëten en merozoïëten evenals de gregarinen tijdens de beweging een soort slijm afscheiden. De sporozoiët heeft tijdens de beweging dan meer een sigaarvorm met een toegespitst vooreinde. Met het ophouden der beweging, zien we de oorspronkelijke vorm weer terugkomen en keert de reservekogel weder op haar plaats terug.

Bij de door mij bestudeerde vier vormen kon ik, behalve hunne grootte, geen morphologische verschillen vinden.

Merozoïëten en Schizonten.

Voor de bestudeering der ongeslachtelijke en geslachtelijke ontwikkelingsvormen werden drie rijen experimenten verricht. Coccidiavrije konijnen werden geïnfecteerd met elk der vormen en afgemaakt, respectievelijk na den 1sten, 3den, 5den, 6den, 7den, 9den en 10den dag.

Schizonten.

In de praeparaten van die dieren, die op den 3den (perforans) en 5den dag (stiedaë) werden afgemaakt — dus in de periode, dat de schizogonie door duizenden merozoïëten is begonnen — kon ik de schizonten in alle stadia volgen, van de éénkernige tot de volwassen sinaasappelvorm. De éénkernige doet zich voor als een ronde kogel (3 tot 4 μ perforans, 4 tot 6 μ stiedaë), waarin de kern, die gelegen is in een kernsapzône.

Het protoplasma vertoont schuimstructuur. Met ijzerhaema-

toxiline volgens Heidenhain, kan men na sterke differentiatie en dubbelkleuring, de volgende kernbouw zien.

De kern bestaat uit eene excentrisch gelegen binnenlichaampje met een complex chromatine, waarin duidelijk vier zwakker gekleurde korrels zijn te onderscheiden.

Dit chromatinecomplex vormt een kap, die met het binnenlichaampje samenhangt (fig. 2, tafel 1).

Bij de grootere, meerkernige schizonten, vinden wij steeds dezelfde kernbouw terug.

De eerste kerndeelingen kon ik volgen en in tekening vastleggen en aan de hand daarvan aantonen, dat de kernvermeerdering, zoowel van de *perforans* als van de *stiedae* tot stand komt door herhaalde tweedeeling (fig. 5, 5', 44 en 45, taf. 1). In de meerkernige zien we kernen in alle stadia van deeling en bij eene gunstige ligging vond ik daarin steeds het binnenlichaampje en het chromatinecomplex. Over het wezen van dit laatste, waaruit later de chromosomen ontstaan, zal aan het einde van dit hoofdstuk uitvoeriger worden gehandeld.

In heel jonge haarden van den lever, vond ik eigenaardige schizonten (tafel 1, fig. 44), waar de tweedeelingen der kernen heel mooi te zien zijn. Deze schizonten zijn elliptische lichaampjes met stomp toegespitste einden. Ik zag ze in getale van 4, 6, 8 en 10 in eene epitheelcel, waarin ze door eene membraan omsloten zijn. Later gelukte het mij, ook zulke ontwikkelingsvormen in darmuitstrijkjes aan te toonen.

Wanneer een genoegzaam aantal kernen in een schizont aanwezig is, heeft de vorming der merozoieten plaats. Elke schizont vormt een bundel, bestaande uit zoovele merozoieten als er kernen aanwezig zijn. De uit de bundels vrijkomende merozoieten zoeken andere epitheelcellen op, om de schizogoniecycclus opnieuw te beginnen.

Merozoieten.

Voor de bestudeering is het noodzakelijk de vrije merozoieten te kunnen onderscheiden van de nog niet rijpe, die met het uitstrijken uit de bundels zijn geraakt. In het hoofdstuk techniek,

gaf ik de methode aan, om in preparaten slechts de vrije vorm te krijgen, die voor eene morphologische studie niet te verwarren is met het jongere stadium.

De vrije merozoieten zijn lichtgekromde, sikkelvormige individuen met een toegespitst en een meer stomp einde. De grootte varieert tusschen 5 tot 6,9 μ voor de *perforans* en 8 tot 10 μ bij de *stiedae* en 4de vorm (fig. 6, 7, 42, 43 en 46, tafel 1) en de 3de vorm kon ik, ook voor de overige ontwikkelingsvormen geen juiste maten geven, aangezien zooals reeds hiervoren is vermeld, eene reine infectie met dezen vorm niet is te verkrijgen (pag. 52).

In natiefpreparaten volgens de agarmethode kan de beweging der parasieten goed worden gevolgd. We zien haar eerst krommen, dan ontspant ze zich, schiet voorwaarts om dan verder door te glijden. Tijdens de beweging wordt de merozoiet aanzienlijk langer, houdt deze op, dan keert ze weer in haar oorspronkelijken vorm terug. Ook zien we haar tijdens een korte rustpoos gestrekt, om direct daarop weer voort te glijden. In het midden zien we als een sterk lichtbrekende korrel de kern. Soms laat zich aan het vooreinde ook een lichtbrekende punt waarnemen, die in het gekleurde preparaat ook wel is aan te toonen (fig. 42 en 47, tafel 1). Of er tijdens de beweging, evenals dit bij de gregarinen het geval is, slijm wordt afgescheiden, heb ik niet kunnen vaststellen.

In gekleurde preparaten kunnen we de volgende fijnere bouw opmerken. Aan het lichaam onderscheiden we het toegespitste einde als een rostrum, met een homogeen plasma, dat duidelijk is te onderkennen van het schuimige lichaamsplasma (fig. 6, 7, 42, 43 en 46, tafel 1 en fotogr. 2, M, tafel 4). In het midden, of iets over het midden naar het meer stomper einde, zien we een ovale kern, waarin duidelijk het binnenlichaam en een halfmaan-vormig chromatinecomplex zichtbaar is. Evenals bij de schizont, bevindt zich hieromheen een kernsapzône. Bij deze „schizogonie-merozoieten” kon ik in het chromatinecomplex geen structuur onderkennen.

Nu doet zich bij de studie der coccidia de groote vraag

voor of gedurende de schizogonie die merozoieten zijn te onderkennen, waaruit later de geslachtelijke gedifferentieerde vormen zich ontwikkelen. De meeningen en bevindingen van andere onderzoekers hierover zullen in het onderhoofdstuk gamogonie na mijn eigen onderzoekingen worden behandeld.

In preparaten van proefdieren, gevoerd met perforans gedood op den 4den dag, en gevoerd met de stiedae of de 4de vorm, gedood op den 5den of 6den dag, vond ik merozoieten, waarvan de kernen reeds sterk in deeling waren. Het hoogste aantal, dat ik telde, was acht. In deze merozoieten zag ik zeer duidelijk de kerndeeling, die op een promitose geleek (tafel 1, fig. 7 en 46).

Ook hier ziet men in de gunstig gelegen kernen de kernbouw terug, zooals bij de schizonten en merozoieten reeds is beschreven, n.l. excentrisch binnenlichaam met kapvormig chromatinecomplex. Het leek mij, dat in zekere stadia van de infectie, de merozoieten door snelle kernvermeerdering de geslachtelijke vermenigvuldiging inleiden. Merozoieten met meerdere kernen zijn tot nog toe slechts bekend en beschreven bij de *Selenococcidium intermedium*, een parasiet van de kreeft.

Over deze meerkernige merozoieten heeft Nieschulz de volgende meening: Bij een kort gehouden bijeenkomst van het wetenschappelijk personeel der Veeartsenijkundige Hoogeschool, wees hij bij de demonstratie van geprojecteerde ontwikkelingsvormen van *Eimeria pfeifferi* op eigenaardige meerkernige individuen, welke hij beschouwde als extracellulaire schizonten van de eerste generatie (dus ontstaan uit sporozoieten). Hij deelt de meening, dat de sporozoieten van de *Eimeria pfeifferi* niet speciaal in de weefselcellen behoeven te dringen om zich te ontwikkelen. Wordt er meer dan één kern gevormd, dan kan men volgens Nieschulz niet meer spreken van sporozoiet of merozoiet. Deze zijn dan geworden tot schizont (respectievelijk microgametocyt). Men kan met deze opvatting accoord gaan.

b. DE GAMOGONIE.

Bij de perforans zien we na het indringen der meerkernige merozoieten in de epitheelcellen merozoietenbundels optreden van 24 tot ± 128 merozoieten. De uit deze bundels vrijkomende merozoieten zijn morphologisch zeer verschillend van de schizogonievormen. Het zijn lange, smalle individuen, varieerende tusschen 10 tot 15 μ lengte en 0.8 tot 1 μ breedte. De kern, bestaande uit binnenlichaam en chromatinecomplex is meer aan het stompe uiteinde gelegen, nog vóór de grens van het eerste derde en het tweede derde gedeelte. In de met ijzerhaematoxiline volgens Heidenhain en congorood gekleurde preparaten zijn in het chromatinecomplex duidelijk 4 zwarte korrels, die grooter dan het binnenlichaam zijn, te zien. Het protoplasma vertoont fijne schuimstructuur, waarin 2 tot 5 granula, die zich met Delafield rood kleuren (fig. 8, 9, 13 en 14, tafel 1, fotogr. 1 en 4, tafel 3).

Aan het meer stompere uiteinde zien we bij sommigen eene kleine korrel, die de kernkleur aanneemt. Een rostrum heb ik slechts bij enkelen kunnen waarnemen (fig. 13, tafel 1).

Hoogst eigenaardig is mijn bevinding, dat er ook merozoietenbundels zijn, waarvan de kernen der ingesloten merozoieten reeds actieve deeling vertoonen (fotogr. 3, tafel 3). In een uitstrijkje, waar de bundels iets uit het verband gerukt zijn, telde ik meer dan 100 slanke merozoieten, die allen in de lengteas verdeeld, vier kernen hadden. Andere, veel kleinere bundels, hadden merozoieten met vier tot acht kernen (fig. 11 en 12, tafel 1, fotogr. 2, tafel 3. fotogr. 1, tafel 4). Deze groote meerkernige merozoieten ontstaan uit de lange slanke, nog vóór deze laatsten uit de bundels vrijkomen. Later vallen zij weer uiteen in de lange, slanke vorm; dit verklaart ons het ontstaan van de groote merozoieten bundels, gelijk we in photogram 3 en 4 van tafel 3 zien.

Naast de bovenbeschreven merozoieten zien we vormen van een geheel ander type, die in minder aantal voorkomen. Het zijn plumpe, peervormige individuen die morphologisch sterk verschillen van de hierboven beschreven meerkernige

merozoieten. Ze zijn meestal één- of tweekernig (tafel 1, fig. 25 t/m. 29).

Dat de eerst beschreven lange smalle merozoieten, de vrouwelijk gedifferentieerde zijn, zag ik in de fasen, die zij doorloopen om van merozoiet tot macrogameet te worden. Ik zag meerdere epitheelcellen zooals in tafel 1, fig. 15. waarin de merozoieten ingedrongen waren en zich oprodren. Trouwens het feit, dat men van deze slanke merozoieten meer ziet dan van de plompe peervormige en meer macrogametocyten dan microgametocyten gevormd worden, pleit voor deze veronderstelling.

Of de peervormige, die veel minder in aantal waren, de mannelijke gedifferentieerde zijn, moet ik onder eenige reserve aannemen, ofschoon de verschillende overgangen die ik volgen kon en in teekening bracht, mijn vermoeden wel wettigen (tafel 1, fig. 22 t/m. 29).

In groote lijnen verschillen de agamogonie- en de gamogonievormen der *Eimeria stiedae* en de 4de vorm zoowel van de lever als van de darmen niet veel met die van de *perforans*. Cytologisch laten zij zich echter toch wel van elkander onderscheiden.

In de ongeslachtelijke vermenigvuldiging verschillen zij door hun grootte. De vormen ontstaan bij de schizogonie van de *perforans* zijn aanzienlijk kleiner dan die bij de *stiedae* en 4de vorm. Van deze laatsten vond ik maten van 8 tot 10 μ lengte, bij $2\frac{1}{2}$ tot 2.9 μ breedte. Hiervan is het rostrum 1.8—3.5 μ .

De *perforans*merozoieten zijn 5 tot $6\frac{1}{2}$ μ lang en 1.2 tot 1.6 μ breed. Hiervan is het rostrum ± 1.7 μ lang.

De vrouwelijk gedifferentieerde merozoieten van de *stiedae* en 4de vorm verschillen niet veel in lengte met die van de *perforans*; de eersten zijn echter plomper en maken een massiever indruk. In de veel grootere kern kon ik niet die 4 korrels waarnemen, die ik bij de *perforans* zag.

De gemiddelde grootte is voor de *stiedae* en 4de vorm $13\frac{1}{2}$ μ lengte bij 1.6 μ breedte. Kernen 2.2×1.4 μ . *Perforans* 14 μ lengte bij 1 μ breedte. De kernen 1.8×0.8 μ .

Een ander onderscheid ziet men ook in de bundels der geslachtelijk gedifferentieerde merozoieten. Bij de *stiedae* vinden we bundels van 8 tot 52 merozoieten bij de *perforans* is het minste aantal, dat ik tellen kon, 24; het hoogste aantal, dat de 100 overschrijdt, is niet nauwkeurig te tellen. In epitheelcellen, waar meerdere stiedaemerozoieten zijn ingedrongen, zien we wel meerdere bundels, die allen afzonderlijk te onderkennen zijn. Een volgende eigenaardige deeling zag ik in eene epitheelcel, waarin stiedaemerozoieten waren ingedrongen. Hier telde ik in de sterk in de lengte uitgegroeide epitheelcel negen merozoietenbundels, elk bestaande uit 4 vierkernige merozoieten (schizonten?) Indien uit elk hunner normaal 8 merozoieten ontstaan, zou deze eene epitheelcel $9 \times 4 \times 8$ d.i. 288 merozoieten moeten herbergen.

Of ook in de merozoietenbundels van de *stiedae* en 4de vorm reeds eene kerndeeling voor het uitzwermen plaats vindt, heb ik niet waargenomen.

In zijn onderzoekingen van de *Eimeria stiedae* beschreef Reich merozoieten afwijkende van de andere door de aanwezigheid van een langen geesel, die aan het vooreinde ontspringt. Ze zijn 9.35 tot 11.4 μ lang en 4 μ breed. Het vooreinde is wat afgestompt en loopt in een smaller deel over. Even achter den uitlooper ziet men een kernachtig lichaam, dat hij als basaalkorrel beschouwde. Van hieruit ontspringt een 1.7 μ lange stift, die naar buiten voert, en waaraan een 4 tot 5 μ lange geesel bevestigd is. Verder kon hij aan den geesel een knopvormige verdikking waarnemen, die hij als bewijs aanvoerde, dat de geesel een centrodosome voorstelt.

Deze merozoieten zouden in getale van 4 in een bundel voorkomen.

De waarnemingen van Reich als zouden dergelijke merozoietenvormen voorkomen, kan ik niet bevestigen. Ondanks alle pogingen en het groote materiaal, is het mij niet mogen gelukken deze geesels aan te toonen. Merozoieten in alle stadia van de ontwikkeling heb ik zoowel in levende als in gekleurde preparaten bekeken, en zelfs met die kleurmethode, waarbij de

uiterst fijne zweepdraden van de microgameten zich lieten zien, kon ik bij geen der merozoieten een spoor van een geesel waarnemen. Ook kon ik noch in coupes, noch in uitstrijkjes bundels vinden, waarin slechts 4 merozoieten voorkwamen. Het minste aantal dat ik vond was acht.

Schaudinn zegt van de *Cyclospora caryolytica*, een pathoogeen coccidium van de mol, dat reeds in het begin van de schizogonie, de geslachtelijk gedifferentieerde merozoieten van elkander zijn te onderkennen. De vrouwelijke vormen zijn lange slanke individuen, de kernen liggen meer aan het voor-einde, terwijl de mannelijke meer gedrongen en plomper van bouw zijn. De laatsten onderscheiden zich van de eersten ook door het bezit van pigmentkorrels.

Bij het *Selenococcidium intermedium* zouden ook morphologische verschillen zijn aan te toonen in de mannelijke en vrouwelijke merozoiet.

Hadley beschreef bij de *Eimeria tenella* lange en smalle merozoietenvormen, die hij onder zekere reserve als de geslachtelijke beschouwde. Zijn teekeningen vervaardigde hij echter naar droge preparaten, zoodat hieruit geen conclusies kunnen worden getrokken.

De merozoiet en de merozoietenbundel. Over de vorming van den merozoietenbundel, waarbij de merozoieten als schijven van een sinaasappel naast elkaar gerangschikt zijn, bestaan vele meeningen. Wasielewski zegt, dat om de peripheer gerangschikte kernen uitbochtungen ontstaan, die zich in de diepte voortzetten, waardoor de schizont in evenzoovele merozoieten uiteenvalt als er kernen aanwezig zijn. Vóór hem meende Pfeiffer, dat uit de kernen dochterbollen worden gevormd, waaruit later weer de merozoieten ontstaan. Reich spreekt van equatoriale rangschikking der dochterkernen, waarbij zich het protoplasma om de kernen verzamelt. Reichenow is de meening toegedaan, dat de ligging der merozoietenbundel voor het grootste gedeelte afhangt van mechanische verhoudingen. Heeft de schizont ruimte genoeg, dan liggen de merozoieten radiaal in alle richtingen en vormen rozetfiguren.

Indien door andere cellen op den schizont druk wordt uitgeoefend, dan leggen de merozoieten zich op een zijde, of rangschikken zich bij lange ovale schizonten ook wel naar beide polen.

Hierbij wordt het protoplasme van de schizont verbruikt en blijft er meestal een restlichaam over. In zijn artikel over de haemococcidien der hagedissen zegt Reichenow, dat de merozoieten ontstaan door spruiten uitgaande van de dochterkernen. Deze wijze van deeling kon ik ook voor de konijnencoccidia vaststellen.

De ligging der merozoieten vertoont niet altijd de sinaasappelvorm, zooals steeds door andere onderzoekers wordt beschreven. In gekleurde preparaten kan men over de natuurlijke ligging geen zuiver oordeel vellen, doordat de bundels met het uitstrijken allicht uit hun verband kunnen worden gerukt. In natief preparaten, die ik vervaardigde door met een penseel wat darmslijmvlies op de agarplaat te brengen, zag ik bundels, waar de merozoieten door elkander lagen. Ze doet ons meer denken aan de merozoietenbundel van *Eimeria tenella* (teekeningen Hadley).

Macrogametocyten en Macrogameten.

De vrouwelijke merozoiet rolt zich, nadat zij in de epitheelcel gedrongen is, tot een ronden kogel samen, waarna wij het volgende beeld krijgen. Om de kern, bestaande uit eene excentrisch gelegen binnenlichaam en een chromatinecomplex, waarin meestal 4 korrels zich laten onderkennen, is in de jongste stadia een kernmembraan duidelijk zichtbaar.

De kernsapzône is ook hier aanwezig. We hebben ook hier dus weer dezelfde kernbouw als bij de merozoiet is beschreven. Het plasma buiten deze zône heeft schuimstructuur, zit echter vol granula, die met Delafield rood kleuren (volutinkorrels) (fig. 16, tafel 1). Op de grens van kernsapzône en protoplasma, zien we reeds in de jongste stadia een lichaam optreden, dat grooter is dan de overige granula en dat de kernkleur aanneemt (fig. 16, 17 en 18, tafel 1).

Ook in de groote macrogameten vinden we dit steeds

terug (fig. 20 en 37). Vroeger beschouwde men dit lichaampje als een product van de chromatinereductie in analogie met hetgeen men bij de Adeleideen zag. Uit latere onderzoeken bleek echter, dat de chromosomenreductie bij het *coccodium* eerst na de bevruchting plaats vindt. (Onderzoeken van Reichenow betreffende de *Karyolisis*).

De jonge macrogametocyten zijn moeilijk van de eenkernige te onderkennen.

De volgende verschillen kon ik van beide ontwikkelingsvormen opmerken:

1ste. In schizonten en macrogametocyten van gelijke grootte, zien we bij de eerste reeds meerdere kernen.

2de. Het binnenlichaampje van de macrogametocyt is relatief veel grooter dan dat van de schizont.

3de. In eenkernige schizonten missen wij de in de macrogametocyt voorkomende gegranuleerde plasma.

4de. Bij de schizonten ontbreekt het lichaampje, gelegen aan de grens van plasma en kernsapzone. Naar mijn meening typeert dit lichaampje de macrogameet (verg. fig. 2 en 17, tafel 1).

In oudere stadia zijn de macrogametocyten niet moeilijk meer te onderkennen. Het plasma vertoont meer granula, die zich met Delafield rood kleuren (volutin). Het binnenlichaam wordt grooter, de kernmembraan verdwijnt en de chromatine wordt losser van bouw. Deze laatste verspreidt zich om het binnenlichaam en neemt verschillende vormen aan. We zien haar soms als een halve maan, dan weer vormt ze een bijna gesloten ring. De grootte is zeer verschillend en niet evenredig met de grootte van de macrogametocyt (fig. 18 t/m. 20, 48 en 49, tafel 1, photogr. 3 A, tafel 4).

De macrogametocyten groeien uit tot macrogameten, die dan rijp zijn voor de bevruchting. In het plasma zien we meer granula, groote en kleinere vacuolen. In de rustende kern zien we, dat het chromatinecomplex weer compacter wordt. Het ligt als een kap vlak tegen het binnenlichaampje aan, dat ongeveer van dezelfde grootte is. Voor de be-

vruchting, als de macrogameet ovaal geworden is, zien we de chromatine weer een losser bouw aannemen en zich van het binnenlichaam losmaken (fig. 20, tafel 1).

Microgametocyten en microgameten.

De ontwikkeling van de eenkernige microgametocyt tot de vrije microgameten, heb ik in verschillende ontwikkelingsfasen kunnen volgen. Teneinde geen verwarring te krijgen met schizonten, die bij de eerste kerndeelingen eenige overeenkomst vertoonen met de microgametocyten, werden voor het onderzoek van deze vormen uitstrijkjes gemaakt van dieren lijdende aan coccidiosis op den 15den dag na de infectie. dus als de schizogonie vrijwel teneinde is.

Eenkernige microgametocyten zijn zeer kleine, meestal ronde lichaampjes, waarin een kern, bestaande uit excentrisch gelegen binnenlichaampje en chromatinecomplex, gelegen in eene kernsapzône. Door de kleinheid van het object laat zich een kernmembraan niet waarnemen. In het chromatinecomplex met fijne draden aan het binnenlichaam verbonden, kunnen we duidelijk 4 granula onderscheiden (fig. 30, tafel 1). In de jonge microgametocyten zien we al gauw een levendige kerndeeling, waarbij de chromatinegranula met het binnenlichaam een onregelmatige ring vormen (fig. 29 en 31 t/m. 34). Het binnenlichaam, dat veel kleiner is dan die van jonge schizonten of macrogametocyten, is in dezen ring het meest polair gelegen en ook kleiner dan de chromatinagranula. Dat bij de kerndeeling geen tweedeeling van het binnenlichaampje plaats heeft, meen ik in tekening 32 (tafel 1) te kunnen laten zien. Ik zag in gunstig gelegen kernen naast de vier waaivormig verspreide granula in denzelfden ring vóór de kerndeeling een kleine korrel optreden dat ik als een nieuwgevormd binnenlichaampje beschouw. Het oude en het nieuwe vormen dan samen waarschijnlijk de locomotorische componenten bij de deeling der chromatine.

In microgametocyten, waar de kerndeelingen geëindigd zijn, neemt het chromatinecomplex een onregelmatig lang com-

pacte vorm aan. De kernsapzône verdwijnt en zij groeien uit tot lange slanke individuen (fig. 35, tafel 1), de microgameten, met eene scherp en een ander meer stomp einde. Het aantal laat zich zelfs in de kleinste microgametocyt niet met eenige zekerheid schatten. In de cyste zien we als overblijfsel van het verbruikte plasma eene onregelmatige donkere homogene massa.

In rijpe microgametocyten, waar zij schijnbaar met het eene einde nog vastzitten, hangen de microgameten als klissen aan de moedercel.

De aanwezigheid van een membraan om de microgametocyt kon ik in de natiefpreparaten volgens de agarmethode vaststellen. Treft men een rijpe cyste aan, dan ziet men daarin duidelijk de microgameten met groote snelheid onder de membraan zwemmen.

De vrije microgameet.

Natiefpreparaat. Voor het onderzoek van de vrije microgameet leent zich het best de agarmethode. Het eerste, dat in het preparaat onze aandacht trekt, zijn de zeer kleine bewegelijke individuen, die zich zeer snel voortbewegen,

Al naarmate de agar in temperatuur afneemt, zien we de beweging minder worden, waarna we een uiterst klein, lichtgebogen slank lichaam waarnemen, dat aan het kopeinde van twee lange zweepdraden voorzien is. Beide zweepdraden, die als zwemapparaten dienst doen, worden tijdens de beweging golfvormig bewogen. Eenige malen zag ik, dat de microgameet eene reeds bevruchte oöcyst ontmoette en moeite deed, hier in te dringen. Met het kopeinde tegen de micropyle aan, deed ze, door heftig de geesels te bewegen, moeite, door de membraan te komen.

In gekleurde preparaten is de ware morphologische bouw slechts door de aangegeven kleurtechniek waar te nemen.

Slechts op die wijze is het mij mogen gelukken, de geesels weer te vinden. Met geen der gebruikelijke geeselkleuringen zijn anders de geesels aan te toonen.

De microgameet zien we hier als kleine, slanke, lichtgebogen

individuen; het achtereinde van het lichaam is het breedst, naar de insertiepunten van de geesels, het vooreinde, loopt ze smaller toe. Iets voor de punt van het vooreinde zit een uiterst fijne korrel, waaraan zijdelings twee geesels ontspringen. Op het midden van het lichaam zien we een donkeren ovalen korrel (kern?) afstekend tegen de sterk gegranuleerde omgeving (fig. 36 en 40, tafel 1). De grootte is bij de verschillende coccidienvormen verschillend. Ik vond de volgende maten:

<i>Perforans</i> . . .	3.5 μ	lengte bij	0.4 μ	breedte, geesel	7.7 μ
<i>Stiedae</i>	4.8 „	„	0.6 „	„	10 „
4de vorm.	6 „	„	0.65 „	„	14 „

De microgameet van de *Eimeria stiedae* beschreef Reich als 2 tot 2.5 μ lange kormavormig individuen met een kern, die in het midden ligt, en een donkere punt aan het dikkere vooreinde, die hij als basaalkorrel aanduidde. Hij betwijfelde de bevindingen van Wasielewski, die in natiefpreparaten twee geesels waarnam.

Volgens Reich is de eene geesel eene „Schleppgeissel” in het verlengde van het lichaam gelegen, terwijl de andere aan het breedere vooreinde ontspringt. De beweging zou eene schroefvormige zijn.

Wasielewski onderkende in natiefpreparaten reeds de microgameten, zooals in dit hoofdstuk is beschreven. In zijn publicatie zien we eenige photogrammen naar een droog preparaat. Aan zijn waarnemingen werd echter niet veel waarde geschonken, doordat hij ze niet in gekleurde preparaten kon aantonen.

Ik vermeldde reeds de groote technische moeilijkheden verbonden aan de geeselkleuring.

Naar mijn meening hebben de microgameten van alle *Eimeria-coccidia* zwemgeesels, zooals door mij werd beschreven ook de *Caryotropha mesnili* en *Karyolysus bicapsulatus*, waarvan de microgameten van de bestaande teekeningen overeenkomst vertoonen met vormen, die wij bij de *Eimeria* van het konijn waarnemen.

Het is nu Nieschulz inmiddels gelukt ook van de *Eimeria arloingi* en *Eimeria pfeifferi* en het ratten coccidium (de *E. falciformis*?) de geesels aan te toonen.

De bevruchting.

Nauwkeurige cytologische processen, die zich tijdens de bevruchting in de oöcyste afspelen, heb ik in mijn preparaten niet kunnen waarnemen, daar de resistente oöcystenmembraan elke kleurmethode vrijdelt. Diaphenol, dat in andere gevallen chitine voor kleurstoffen doorlaatbaar maakt, heeft ondanks vijf weken lange inwerking niet de minste invloed. De methode door Reichenow aangegeven, nl. voor het kleuren de cysten tusschen voorwerp en dekglas met fixatievloeistof door matigen druk te kneuzen, gaf geen bevredigende resultaten. In cystenrijke preparaten, uitstrijkjes van coccidiaknobbeltjes uit darm of lever, wil het wel eens gelukken, pas bevruchte oöcysten aan te treffen, waar de mycropyle nog niet voldoende gesloten is en de fixatie- en kleurstoffen doorlaat.

Slechts de volgende fasen kon ik in deze preparaten zien, die waarschijnlijk tot de bevruchting behooren.

In haematoxylinepreparaten volgens Heidenhain zag ik in de chromatinecomplex van een rijpe macrogameet fijn gekorrelde zwarte draden verlopen (fig. 37, tafel 1). In andere oöcysten, waar de bevruchting reeds tot stand moet zijn gekomen, zag ik om een vaag binnenlichaam een ring van chromatine van los schuimige structuur, waarin ook weer korrelige draden waren waar te nemen (fig. 38, tafel 1). In een oudere stadia is dit chromatine complex compacter (fig. 39, tafel 1).

Andere cytologische beelden, waarin ik met zekerheid de chromosomen kon aanwijzen, heb ik in mijn preparaten niet kunnen vinden.

Bij de *Karyolysus* kon Reichenow de bevruchting van het begin tot het einde vervolgen en in teekening brengen. De in de ruimte van de macrogametenkern ingedrongen microgameet krijgt een losser structuur evenals de vrouwelijke celkern. In de

mannelijke kern ontwikkelt zich een nieuw binnenlichaam, dat aangroeit totdat de grootte bereikt wordt van de vrouwelijke kern. Mannelijke en vrouwelijke kern zijn dan niet meer van elkander te onderscheiden. Beide binnenlichamen versmelten onderling, terwijl de chromatinecomplexen gescheiden blijven. Later lost zich de chromatine in fijne korrels op, de kernen lijken chromatine-arm en een onderscheid tusschen de vrouwelijke- en mannelijke kern is niet meer mogelijk. In het groote binnenlichaam treden nucleolen op, onder welker invloed de chromatine lange dradenvormige chromosomen vormt. De kern strekt zich in de lengte uit, neemt de vorm van een spoel aan, waarin de chromosomen zich min of meer parallel rangschikken. De chromosomen van gelijke lengte vereenigen zich met elkaar. Reichenow zegt dan, dat de bevruchtingsspoel bij het *coccidium* het stadium der chromosomenconjugatie is, zooals wij in de syndese bij de rijpe metazooneieren vinden. Het verschil zou alleen hierin liggen, dat dit proces bij de metazooneieren vóór, bij de coccidia ná de bevruchting zich afspeelt.

Na de conjugatie hoopen de chromosomenparen zich op aan een der polen van de spoelvormige ruimte, waar zij een draadkluwen vormen. De draden worden korter en dikker en veranderen in dubbele staafvormige chromosomen. Bij de daarop volgende kerndeeling splitsen zich deze dubbele chromosomen en elke helft trekt zich naar de twee zijden terug.

Reich, die zegt de bevruchting van de *Eimeria stiedae* in het leven te hebben gevolgd, geeft in het kort de volgende beschrijving.

In de rijpe ovale, nog niet dubbel gecontoureerde macrogameet, verplaatst zich de kern naar de mycropyle, en zendt een pseudopodiënachtige massa de microgameet tegemoet. Of hij daarna ook de microgameet zag binnen dringen beschrijft hij niet. De ingedrongen microgameet dringt het cytoplasma in de opening om het binnendringen van anderen te verhinderen (?) De kernen der beide cellen vormen een haltervormig figuur, dat eerst in de lengte-as ligt en zich centraal verplaatsende 90° draait. In deze ligging wordt de

bevruchtingsspoel gevormd, die zich later samentrekt tot een ovale en daarna ronde kern met 2 karyosomen. Deze versmelten later tot één groote karyosoomkern met een kernsapzône om zich heen.

Ook met deze bevindingen van Reich kan ik mij niet verenigen. Indien deze onderzoeker de bevruchting in het levende preparaat had kunnen waarnemen en volgen, zou het hem toch opgevallen zijn, dat de microgameet een heel andere bouw heeft dan door hem is beschreven. Dat de bevruchtingsspoel in de dwarsas van de oöcyst ligt, wijkt ook af van den bestaanden regel, waar in die gevallen, dat het coccidium ovaal is, de bevruchtungs-as steeds in de lengte-as verloopt. (*Adelea ovata*, *Karyolysus* b.v.) In mijn preparaten, zoowel coupes als uitstrijkjes van coccidiahaarden heb ik duidelijk de draden der bevruchtingsspoel kunnen waarnemen, die allen in de lengte-as gaan. Hoewel het mij nog niet is mogen gelukken alle stadia van de bevruchting te vinden, vermoed ik aan de hand van hetgeen ik van deze heb kunnen zien, dat ook bij de *Eimeria* de bevruchting op dezelfde manier plaats heeft als bij de hiervoor beschreven *Karyolysus*.

c. SPOROGONIE.

Nadat de bevruchting voleindigd is, trekt de oöcysteninhoud zich samen en vormt een kogel, die aan de aequator de membraan nog even aanraakt. In dunne faeces, door verhoogde peristaltiek ontlast, is het inkogelen van de cysteinhoud goed te volgen. Op verschillende plaatsen trekt zich de inhoud van de membraan terug, waardoor het geheel een wolkachtig aspect krijgt. Ze wordt hoe langer hoe compacter en is weldra tot een kogel samengebald, waarin we als sterk lichtbrekende korrel de kern herkennen.

Van den kogel naar de micropyle kan men soms eene verbinding waarnemen, die zich voordoet als een heel dunne gekorrelde draad.

Zooals door andere onderzoekers, Pfeiffer, Metzner, Reich e.a. werd vastgesteld, is voor een goede sporulatie

toetreding van lucht een noodzakelijke factor. Dat bij lage temperaturen de sporulatie op den duur toch voortschrijdt, heb ik in experiment 2 beschreven.

De processen, die zich gedurende de sporulatie afspelen, werden voor de *E. stiedae* door Metzner reeds nauwkeurig bestudeerd en beschreven, doch zullen toch nog mijne eigen bevindingen hier worden weergegeven.

In den kogel (sporont) fig. 1, tafel 2), treden de in het plasma verdeelde lichtbrekende korrels sterker voor den dag. Grootere korrels rangschikken zich in de peripherie, de kern wordt wazig en we zien vier stompe uitbochtigen aan de oppervlakte optreden, die later puntig worden en waarin een sterk lichtbrekend bolletje te zien is. Dan treden tusschen deze punten insnoeringen op, die zich in de diepte voortzetten en den ronden kogel in 4 kegelvormige dochterbollen verdeelt (fig. 2, tafel 2). Deze zijn aan de basis echter nog aan eene onregelmatigen ronden, sterk gegranuleerden kogel verbonden. De kegel neemt niet direct een pyramidevorm aan, hare hoeken worden scherper, en lijkt hij daardoor meer op een onregelmatig vierkant, waarin twee groote sterklichtbrekende bolletjes (fig. 3, tafel 2). In een der hoeken bevindt zich een kleine lichtbrekende korrel, die Metzner het „Schneidersche lichaampje” van de pyramide noemde.

Om den sterk gegranuleerden, centraal gelegen ronden kogel, die ik als restlichaam beschouw, treden vier onregelmatige kogels op, bestaande uit *fijnere* granula dan het restlichaam en die nauw verbonden zijn met de vier hierboven genoemde afsnoeringen. Deze fijn gegranuleerde kogels zijn waarschijnlijk de kernen van de zich vormende sporoblasten. Het restlichaampje hiervan kan het niet zijn, daar dit, zooals we later zullen zien, eerst met de vorming der sporozoieten optreedt.

De volgende veranderingen zien we vrij snel elkander opvolgen. De hoeken aan weerszijden van de onregelmatige vierkanten ronden zich af, die waarin het Schneidersche lichaampje zit, het laatst. In dit stadium zien we de pyramide, zooals door Metzner werd beschreven. Een achterblijven van dit

lichaampje, zooals Metzner beschreef, heb ik *niet* kunnen waarnemen (fig. 4, tafel 2). In het volgende stadium hebben zich vier kogelronde sterk gegranuleerde dochterbollen gevormd, meestal met achterlating van een restlichaam (fig. 5, tafel 2). Tot op dit stadium zijn in elk der vier zich vormende dochterbollen twee sterk lichtbrekende kogels zichtbaar, naar alle waarschijnlijkheid de reservestof-kogels der later gevormde sporozoieten. De bollen nemen weldra een langen ovalen vorm aan (fig. 6, tafel 2), langzaam lossen zich de granula op, een overlangsche lijn in het midden treedt voor den dag, aan elk punt der nu elliptisch geworden sporoblasten zien we een reservestofkogel; in het midden verzamelen zich de overige granula tot een restlichaam en twee in de lengteas liggende sporozoieten zijn gevormd (fig. 7, tafel 2). In de nu gevormde sporocyste liggen zij zoo, dat elk der reservestofkogels in een der punten der cyste ligt. In enkele gevallen zien we ook de twee kogels naast elkaar. De kern gelegen centraal naast deze kogels, doet zich voor als een sterk lichtbrekend punt, waaromheen korrels als een ring gerangschikt liggen. Aan een der punten der ellips heeft zich een lichaam gevormd, het „Stiedasche Körperchen“, dat de micropyle is van de sporocyste.

Hetgeen van deze sporulatie nog niet bekend was, is de vorming van de eigenaardige onregelmatige vierkante deelingsfiguren met de deeling der kernen. Deze deelingsvormen zag ik zoowel bij de *perforans* als bij de *stiedae*.

Bij den vierden vorm merkte ik bij het begin der sporulatie nog deze eigenaardige afwijking op, welke ik bij de andere vormen niet zag. Voordat de kogel zich in vier dochterbollen verdeelt, treden 4 lichtbrekende homogene kogels aan de oppervlakte, waaruit hoornvormige uitsteeksels spruiten, die zich later echter weder terugtrekken. Bij de volkomen gesporuleerde oöcyst zag ik ook bij nauwkeurig onderzoek geen restlichaam. Het kleine restlichaam, dat zich gedurende de sporulatie liet zien, is waarschijnlijk opgelost. Soms vinden we het in de oöcyst terug als enkele lichtbrekende korrels.

HOOFDSTUK VI.

ZIJN DE KONIJNENCOCCIDIA SOORTSPECIFIEK?

a. Literatuur overzicht.

Over de soortspecificiteit van het coccidium is men het nog lang niet eens. In de oudere literatuur werden de bij menschen geconstateerde gevallen van lever- en darmcoccidiosis toegeschreven aan infectie met konijnencoccidia. Ook Leuckart beschouwde de coccidia, die Gubler (1858), Dressler (1879) en hijzelf in de menschenlever en Kjelberg (Virchow 1880) en Eimer (1870) in de menschedarmen vonden, identisch met het konijnencoccidium. In de nieuwere literatuur verklaarden echter de meeste onderzoekers het konijnen- en coccidium van het *Eimeria* type, gastheerspecifiek.

Ook de meeningen of het rundercoccidium, de *Eimeria zürni*, identisch is met de *Eimeria stiedae*, loopen zeer uiteen. Guillebeau (1893) beschouwde ze op grond van hun morphologischen bouw als variëteiten, waarbij hij een groote eivormige en een kleine rondere onderscheidde. Coccidia, die Guillebeau (1916) in het leverparenchym van twee honden vond, beschouwde hij als een kleinere variëteit van de *Eimeria stiedae*. De oöcysten maten volgens Guillebeau 9 tot 12 μ en kwamen in de levercellen voor. Hoogstwaarschijnlijk zal hij dus te doen hebben gehad met een ander soort coccidium, daar het konijnencoccidium veel grooter is en nooit de levercellen infecteert.

Behoudens morphologische verschillen van de *Eimeria zürni* en *Eimeria stiedae* en afwijking in de sporulatie voerde Züblin (1908) zijn negatieve infectieproeven van rundercoccidia op het konijn aan, die voor een soortspecificiteit der beide coccidia zouden pleiten. Ook Galli-Valerio (1918) zag morphologische

verschillen in beide *Eimeria*'s en zijn infectieproeven met runderoöcysten bij het konijn verliepen eveneens negatief.

Montgomery (1910) voerde schapen met rundercoccidia eveneens met negatief resultaat. Uit de negatief verlopende infectieproeven van vorige onderzoekers verklaarde ook Railliet (1910) het rundercoccidium als een aparte soort.

In zijn publicatie over „de al-of niet identiteit van het Runder- en het Konijnencoccidium” bekritiseerde Nederveen de argumenten van de hierboven genoemde onderzoekers, die het „soortspecifiek” van het runder- en konijnencoccidium uitspraken.

Naar zijn bevindingen komen ook bij het konijn rijpe ovale en ovoïde oöcysten voor, zonder afplatting gelijk we bij het rundercoccidium zien. Hij gaf verder de door hem verrichtte metingen, die weinig zouden verschillen van de door andere onderzoekers voor de ovoïde runderoöcysten aangegeven maten.

Uit zijn getallen bleek mij, dat Nederveen of te doen heeft gehad met de *Eimeria perforans*, of met het door mij als 3de vorm beschreven coccidium. Zooals uit mijn opgaven blijken hebben deze laatsten ook een ovoïde bouw en ontbreekt mede de afgeplatte micropyle. In een latere publicatie van Nederveen lezen wij, dat het hem gelukt is runderen met het konijnencoccidium te infecteren. Uit zijn proeven kunnen echter, zooals hij zelf terecht opmerkt, geen zekere conclusies worden getrokken, daar hij niet met op oöcysten gecontroleerde dieren experimenteerde.

b. Eigen onderzoekingen.

De volgende proeven werden door mij verricht om de soortspecifiteit van het konijnencoccidium vast te stellen.

Materiaal en techniek. Voor de groote proefdieren werd sterke oöcystehoudend konijnenfaeces met water in een mortier goed fijn gewreven, dan door een draadzeef gefiltreerd en het filtraat met de slokdarmsonde ingegeven. Voor kleine proefdieren als kat, kuiken, cavia, rat en muis werden de oöcysten volgens de keukenzout- of suikermethode verzameld (zie

techniek). Van alle dieren, waarmede werd geëxperimenteerd, werden de faeces minstens drie dagen voor de infectie elken dag volgens de keukenzoutmethode op oöcysten onderzocht. Op de geit na, werden steeds *coccidiavrije* dieren voor de proeven aangewend. Het faecesonderzoek gedurende het experiment geschiedde eveneens door middel van geconcentreerde keukenzoutoplossing.

Experiment 8.

Vaars No. 282. (7 maanden oud).

Geïnfecteerd drie achtereenvolgende dagen met ± 50 gram sterk positief goed gesporuleerd materiaal bevattende 95% *Eimeria perforans* en 5% *Eimeria stiedae*.

Resultaat:

2e en 3e dag na de laatste infectie enkele gedegenereerde oöcysten afkomstig van het toegediende materiaal. Twee en een halve maand lang faeces gecontroleerd. Bleef negatief.

Controle-konijn stierf op den 6den dag. Coccidiosis in hoogen graad.

Experiment 9.

Kalf No. 291. (6 weken oud).

Geïnfecteerd gedurende 3 achtereenvolgende dagen met telkens ± 100 gram sterk positief gesporuleerd materiaal bevattende *stiedae*, *perforans* en 3e vorm.

Resultaat:

Twee maanden gecontroleerd. Bleef negatief. Controle konijn positief.

Experiment 10.

Geit No. 60. (± 2 maanden oud).

Geïnfecteerd gedurende twee achtereenvolgende dagen met sterk positief en gesporuleerd materiaal, bevattende *Eimeria stiedae*, *perforans*, 3de en 4de vorm.

Resultaat:

De in de mest voorkomende oöcysten van de *Eimeria arloingi* verdwenen op den 6den dag. Het proefdier werd 21 dagen lang gecontroleerd. Bleef negatief. Controle konijn positief.

Experiment 11.

Hond No. 118 (3 weken oud).

Geïnfecteerd zes achtereenvolgende dagen met sterk positief gesporuleerd materiaal, bevattende *Eimeria stiedae* en *Eimeria perforans*; dagelijks 10 gram.

Resultaat:

Twee maanden gecontroleerd. Bleef negatief. Controle konijn positief.

Experiment 12.

Kat No. 13 (2 maanden oud).

Drie achtereenvolgende dagen geïnfecteerd met sterk positief gesporuleerd materiaal bevattende *Eimeria stiedae* en *Eimeria perforans*.

Resultaat:

Twee en een halve maand gecontroleerd met negatief resultaat. Controle konijn positief.

Experiment 13.

Kuiken No. 16 ($\pm$ 2 weken oud).

Drie achtereenvolgende dagen sterk positief gesporuleerd materiaal, bevattende *Eimeria stiedae* en *Eimeria perforans*.

Resultaat:

Drie weken lang gecontroleerd. Negatief resultaat. Controle konijn positief.

Experiment 14.Cavia No. ~~837~~ 834Cavia No. ~~837~~ 835

Rat No. 240.

Rat No. 241.

Muis No. 83.

Muis No. 84.

Geïnfecteerd met sterk positief materiaal bevattende *Eimeria stiedae*, *E. perforans* en 4de vorm, verzameld volgens de suikermethode.

Resultaat:

Cavia No. ~~783~~ 834 vertoonde op den 4den dag ronde oöcysten, die ik herkende als een ook door Nieschulz bij de caviae in de fokkerij van het Instituut gevonden doch nog niet nader beschreven *cavia-coccidium*. De overige dieren drie weken gecontroleerd bleven negatief.

Om na te gaan, of een eventueele infectie door sporozoieten tot stand komt, doch de parasieten in de schizogonie door slechte aanpassing in de vreemde gastheercellen niet verder tot ontwikkeling komen, werd de volgende proef gedaan.

Experiment 15.

Cavia No. 836 (3 weken oud).

Gedurende vijf achtereenvolgende dagen geïnfecteerd met *Eimeria* oöcysten van de 4de vorm, volgens de suikermethode verzameld.

Resultaat:

Op den vijfden dag, twee uren na de laatste infectie gedood. Uitstrijkpreparaten werden over de geheele darmtractus gemaakt. In de natiespreparaten van den darminhoud trof ik meerdere leege oöcysten en sporozoieten aan, een bewijs, dat ook het darmsap van een vreemd gastheer de sporozoieten uit hun omhulsel bevrijdt.

In de gekleurde preparaten van het darmslijmvlies vond ik noch merozoieten, noch andere ontwikkelingsvormen.

Met de in dit hoofdstuk vermelde experimenten meen ik te hebben aangetoond, dat het konijnencoccidium op andere dieren *niet* overgaat, en als *gastheer-specifiek* beschouwd moet worden.

Dat bij de haas het konijnencoccidium de *Eimeria stiedae* (waarschijnlijk ook de *Eimeria perforans*) voorkomt, is te verklaren door de nauwe verwantschap dezer dieren (Reichenow).

Bij de wilde konijnen komen zoowel de *Eimeria stiedae* als de *Eimeria perforans* voor, waarmede ik met succes tamme infecteerde.

In die gevallen, dat onderzoekers meenen het konijnencoccidium op runderen over te hebben gebracht, moet er zeer waarschijnlijk een *vergissing* in het spel zijn en een *latente* „*Eimeria zürni*” infectie voor de hand liggen.

HOOFDSTUK VII.

a. ZIEKTEVERLOOP.

Bij kunstmatige infectie zien we de eerste ziekteverschijnselen meestal op den derden dag na de infectie in den vorm van diarrhee optreden. Op den 4den en 5den dag bij de perforans en 6den en 7den bij de stiedae en 4de vorm, met het optreden der geslachtelijke gedifferentieerde merozoieten vormen, bereikt de infectie haar hoogtepunt. De dieren zijn opmerkelijk zwak, de slijmvliezen anaemisch en oedemateus, de buik tympanitis. In dit stadium sterven ook de meeste dieren. Het niet vinden van oöcysten in de faeces van gestorven dieren, is dan ook geen criterium, dat zij niet aan coccidiosis zijn gestorven. De dood treedt in onder clonisch-tonische krampen. Doorstaan zij deze periode, dan komen zij meestal de ziekte te boven, indien zij in het chronische stadium niet aan levercoccidiosis ten gronde gaan. Complicaties, als infectie door bacterien die in het ontstoken darm-slijmvlies een prachtigen voedingsbodem hebben, en vandaar uit gemakkelijk in het bloed geraken, zijn dan ook meestal de causa mortis van coccidiosis bij jonge dieren.

Bij levercoccidiosis zien we uit den aard der zaak geen diarrhee. De dieren vermageren echter, en in die gevallen, dat de lever bezaaid is met coccidia-haarden en de leverfunctie daardoor stoornis ondervindt, sterven de dieren. Dat ook bacterien hierbij een rol spelen, zag ik in coupes van coccidia-haarden van *afgemaakte* dieren. In het lumen der galgangen zag ik een flora van staafvormige bacterien en coccen.

Pathologische Anatomische opmerkingen.

Met den groei der in het epitheel binnengedrongen parasieten, treedt eene hypertrophie der epitheelcellen op en zien

we de kernen, die voor dezen groei moeten plaats maken, atrophieeren. Bij sterke infecties, als we meerdere parasieten in een epitheelcel zien of door druk van zich vergrootende aanliggende cellen atrophieert zij ten slotte tot een smal structuurloos lichaampje of verdwijnt geheel. Op het eind der schizogonie en in het begin der geslachtelijke vermenigvuldiging, dus als de infectie op zijn hoogst is, treden groote veranderingen in het darmslijmvlies op, voornamelijk in dat van het ileum, jejunum en wormvormige aanhangsel van het coecum. Deze slijmvliesen zijn hyperaemisch, gezwollen en liggen in vele plooien. De Peyersche plaques vormen door de zwelling groote knopen, die sterk in het lumen uitsteken. Bij sterke infectie is de slijmvliesoppervlakte bedekt met witgeel exsudaat, bestaande uit leucocyten, gedesquameerd epitheel, de parasieten en slijm. Bloederige darminhoud heb ik nooit waargenomen.

Microscopisch zien we in dit stadium de epitheelcellen sterk vergroot door een of meerdere ontwikkelingsvormen der parasiet. Door den druk van de naburige, eveneens geïnfecteerde cellen, groeien de cellen meer uit in de lengte dan in de breedte, waarmede een breeder en ook langer worden van de darmvlokken gepaard gaat. Op sommige plaatsen wordt meer epitheel gevormd dan er verloren gaat en worden de darmvlokken bedekt met meerlagig epitheel, waarin zich ook de parasieten nestelen. Het aantal in één epitheelcel is zeer verschillend. Ik zag epitheelcellen, waarin 5 tot 17 macrogametocyten. Of deze laatsten ook normaal tot ontwikkeling komen, of door bersting van de gastheercel verloren gaan, heb ik niet kunnen vaststellen. Vijf à zeven komen echter tot normale ontwikkeling.

Bij sterke infecties, waarbij de vrijkomende merozoieten direct de naburige epitheelcellen infecteeren, treden de typische coccidia-knobbeltjes op, die zich voordoen als 1 tot 6 m.m. groote gezwelletjes. Bij de nog niet opengeknipte darm, onderkennen we deze reeds als witgele knobbeltjes, die door den darmwand heenschemen. Zij kunnen onderling versmelten en zoo talrijk voorkomen, dat slechts weinig veranderd slijm-

vlies zichtbaar is. Het meest talrijk komen dergelijke coccidiahaarden in de tweede helft der dunne darm voor. Coupes van een coccidia-knobbeltje geven het volgende pathologisch-anatomische beeld. De darmvlokken zijn sterk vergroot, meer nog naar het darmlumen toe, dan in de breedte. De epitheelcellen en het interglandulaire bindweefsel b.v. zitten volgepropt, voornamelijk met macrogametocyten, macrogameten en merozoietenbundels; hier en daar eenige microgametocyten. Dergelijke haardjes zijn van de minder aangetaste omgeving gescheiden door een wal van ontstekingscellen.

Voor het ontstaan van deze coccidiahaarden heb ik de volgende verklaring. De rijpe merozoietenbundels, gelegen diep in het interglandulaire bindweefsel, zullen waarschijnlijk bij bersting de dochtermerozoieten niet in het darmlumen kunnen ontlasten, daar de in het epitheel van de Lieberkühnsche klieren en vlokken zich ontwikkelende vormen zulks verhinderen. De vrije merozoieten dringen daarom onmiddellijk in de nabije niet geïnfecteerde epitheelcellen der Lieberkühnsche klieren, waardoor het proces zich in de breedte uitbreidt, of blijven in het intraglandulaire bindweefsel, waar zij verder tot ontwikkeling komen.

De macrogametocyten en macrogameten, die zich in het epitheel aan de oppervlakte ontwikkelen, verhinderen een doorbraak naar het darmlumen der in de diepte tot volwassen macrogameten uitgegroeide merozoieten. Met den groei der parasieten gepaard gaande met stagnatie in de diepere deelen van het slijmvlies der vele oöcysten, ontwikkelt zich een knobbeltje, soms tot aan de muscularis mucosae, die echter nooit geperforeerd wordt.

Zoowel de *Eimeria stiedae* als de *Eimeria perforans* en de 4de vorm veroorzaken bij sterke infectie bovenbeschreven coccidiahaarden.

In den lever doen zich — al naar het stadium van infectie — de coccidiahaarden voor als speldeknoop- tot erwtgroote witgele transparante, op jonge tuberkels gelijkende knobbeltjes, waarmede dit orgaan soms geheel doorzaaid is. Destruereen

we van een groote galgang voorzichtig het omliggende parenchym, dan zien we, dat zij een rozenkransachtige bouw vertoont. De knobbels kunnen onderling confluereen en zoo grootere vormen. In jonge haarden treffen we in de dun gele pusachtige inhoud slechts merozoieten, macrogametocyten en macrogameten; in oudere is de consistentie dikker en zien we eenkogelige oöcysten in groote hoeveelheid. In nog oudere is de inhoud verkaasd, en zijn de oöcysten meestal gedegenereerd; de haarden verkalken tenslotte of gaan in bindweefsel over met resorptie van de parasietenresten. Door de sterk optredende bindweefselnieuwvorming vertoonen dergelijke levers het beeld eener parasitaire cirrhose. Coupes van een jonge coccidiahaard uit den lever, waarvan de inhoud nog dun vloeibaar is, geven het volgend microscopisch beeld. Het epitheel van het slijmvlies van de aangetaste galgangen vertoont een sterken groei, waardoor dit slijmvlies overlangsche plooien vormt, die in dwarsgesneden coupes als schotten in het lumen hangen. Aan deze plooivorming neemt ook de submucosa deel en tevens treedt een verwijding der betrokken galgang op. In de plooien vormen zich later ook weer secundaire plooien, zoodat we een vertakte vorm krijgen. Het epitheel vertoont een zeer sterken groei, en we zien de plooien op meerdere plaatsen met meerlagig epitheel bedekt, waarin de parasieten in alle ontwikkelingsstadia voorkomen. Het galgang lumen is gevuld met gedesquameerd epitheel, soms ook bacteriën, die secundair zijn opgetreden. Onder de mucosa treedt intusschen een reactieve bindweefselvermeerdering op, waardoor een aanvang gemaakt wordt met de inkapseling. Hoe ouder de haard, des te sterker dan ook de bindweefselvorming is.

Volgens de onderzoeken van Velsental en Stamm wordt door het indringen der parasieten het slijmvlies epitheel tot celvermeerdering geprikkeld. Hierdoor komt het tot een verwijding van de galgangen. De galgangen worden ectatisch, doordat deze op bepaalde plaatsen tijdelijk vernauwd en verstopt zijn door coccidien; dit geeft volgens schrijvers een ver-

wijding der galgangen peripheer van de vernauwing. De groote haarden ontstaan door confluentie van ectatische galgangen. waarbij de wanden dezer gangen geheel of gedeeltelijk verloren gaan op die plaatsen waar de verwijde ductie met elkander in contact komen. Dit verklaart de aanwezigheid van schotten en kammen in zulke holten. De zich voortdurend verwijdende holten oefenen een formatieve prikkel uit op de omgeving, leverepitheel gaat verloren, bindweefsel en galgangen in de omgeving gaan woekeren. Deze galgangen kunnen weer gaan communiceeren met oudere reeds in ontsteking verkeerende, en later zelf ook weer ectatisch worden.

Deze verklaring over het ontstaan der haarden is onhoudbaar, daar nieuwgevormde galgangen van bestaande galgangen uitgaan, inplaats van er contact mede te krijgen; bovendien is de druk, die zij als oorzaak voor het geheele proces opgeven, van zeer problematische waarde in een zoo groot orgaan als de lever, gezien de betrekkelijke geringe grootte van de hardjes in het begin.

In de oude literatuur vinden we de meening van Zürn, dat de „Gregarinen” in het slijmvlies der neusholten dringen, daarbij een rhinitis en angina veroorzaken, die zich in de gehoorgangen uitbreiden.

Ook Metzner scheen nog aan een infectie der neusslijmvliezen te gelooven. Hij zegt althans: „Bei Schlundsondeninfektion, welche eine Leber-oder Darminfektion oder beides bewirkt, fehlt die „Schnauzennässen sehr häufig” enz. Dit is in tegenspraak met zijn eigen bevindingen, n.l. dat de bevrijding der sporozoieten eerst plaats heeft nadat de darm-sappen op de oöcysten ingewerkt hebben.

Sustmann (1914) beschouwde deze konijnenziekte, die onder de konijnenfokkers bekend staat als „Kaninchenschnupfen” (snotziekte) als een symptoom van coccidiosis. Deze ziekte die ik onder mijn proefdieren ook heb geconstateerd, heeft niets met coccidiosis te maken en komt niet alleen bij jonge doch ook bij heel oude dieren voor, bij welke slechts sporadisch oöcysten in de faeces zijn te vinden.

De catarrh der voorste luchtwegen vindt zijn oorzaak in een bacterieninfectie. In uitstrijkjes van het slijmvlies hiervan heb ik nooit één ontwikkelingsvorm der parasieten kunnen vinden. Wel zag ik in de epitheelcellen vele bacterien, die soms de heele cel vulden. Baudet kweekte uit de neusserecreta dezer dieren bacterien, die hij determineerde als de „bacillen van Krauss” en waarmede hij infectie- en immunisatieproeven verrichtte.

b. THERAPIE.

Voor de behandeling van coccidiosis deed ik proeven met enkele medicamenten, die bij de behandeling van protozoenziekten reputatie hebben.

Als zoodanig kunnen genoemd worden: *Hydrochloras chinine*, *emetine*, *trypaanblauw* en *Bayer 205*. Ook met *creoline*, dat in de kliniek voor inwendige ziekten aan de Veeartsenijkundige Hoogeschool met gunstig resultaat bij de behandeling van geitencoccidiosis wordt aangewend, werd geëxperimenteerd.

Experiment 16.

Konijn Nos. 1016 t/m. 1018 (4 weken oud).

Matig geïnfecteerd met gesporuleerd materiaal bevattende *Eimeria perforans*, *Eimeria stiedae* en de 3de vorm.

Toen de eerste oöcysten optraden, werd met de slokdarm-sonde gedurende 6 achtereenvolgende dagen 2 maal daags 250 mgr. hydrochloras chinini verstrekt. Verondersteld werd, dat dit plasmagif de beweging der merozoieten en microgameten zou remmen en zoo de infectie stuiten.

Resultaat:

Proefdier No. 1016 op den 6den dag na het instellen van de behandeling afgemaakt, vertoonde in de darmen normaal ontwikkelde macrogametocyten, macrogameten en merozoieten.

Proefdier No. 1017 en No. 1018 bleven van den 8sten tot den 14den dag na de infectie normale oöcysten afscheiden.

Chinine schijnt op de merozoieten en microgameten dus niet de minst schadelijke werking uit te oefenen.

Experiment 17.

Konijn No. 887 (5 weken oud).

Dit dier was lijdende aan coccidiosis, had profuse diarrhee; slijmvliezen anaemisch, oedemateus en icterisch en was zeer vermagerd en slap. De faeces zaten stampvol oöcysten, hoofdzakelijk *Eimeria stiedae* en enkele *Eimeria perforans*.

Behandeling:

Intraveneus ingespoten 75 mg. Bayer 205 opgelost in $2\frac{1}{2}$ cc. aq. dest.

Resultaat:

Den dag daarop was de diarrhee opgehouden. De faeces waren vaster, doch bevatten nog een groot aantal oöcysten. Twee dagen na de behandeling huppelde het dier weer vroolijk rond, de slijmvliezen waren normaal. In de faeces, die nu weer als vaste keutels werden gedeponeerd, waren de oöcysten belangrijk verminderd.

Op den 3den dag hield de uitscheiding van oöcysten eensklaps op; eerst na lang zoeken konden enkele oöcysten worden aangetoond.

Het dier bleef verder gezond.

Bovenstaande proef, die een zeer gunstig resultaat gaf, werd opnieuw uitgevoerd.

Konijn Nos. 1019 t/m. 1021 (4 weken oud).

Geïnfecteerd met *Eimeria stiedae* en *Eimeria perforans*.

Behandeling:

Als op den 3den dag de dieren diarrhee vertoonden, werden No. 1019 en No. 1020 intramusculair ingespoten met 60 mg. Bayer 205 in dezelfde oplossing als in het vorige experiment. Dit werd 3 achtereenvolgende dagen herhaald.

1021 diende als contrôle.

Resultaat:

Ondanks de sterke infectie bleven de dieren gezond. De

diarrhee verdween, echter bleven de faeces, hoewel sporadisch, toch nog oöcystenhoudend.

Het contröledier No. 1021 stierf reeds op den 7den dag.

Experiment 18.

Konijnen Nos. 1025 t/m 1027 (5 weken oud).

Geïnfecteerd met groote hoeveelheid *Eimeria stiedae* en *Eimeria perforans*.

Behandeling:

Op den 3den dag werden Nos. 1025 t/m. 1027 met de slokdarmsonde toegediend 10 c.c. van een half procentige creoline oplossing. De behandeling werd 4 dagen herhaald. No. 1028 en No. 1029 dienden voor controle.

Resultaat:

De behandelde dieren vertoonden ondanks zij zwaar geïnfecteerd waren, niet de geringste ziekteverschijnselen. Op den 10den dag waren de faeces oöcystenhoudend, in verhouding met de sterke infectie echter zeer weinig.

De controle-dieren stierven respectievelijk op den 6den en 7den dag na de infectie.

Experiment 19.

Konijn Nos. 933 t/m. 935 (3 weken oud).

Geïnfecteerd met sterk positief materiaal, bevattende 95% *perforans*.

Behandeling:

Vanaf den 3den dag na de infectie No. 933 en 934 subcutaan ingespoten 15 mg. emetine in $2\frac{1}{2}$ c.c. aq. dest. De behandeling werd om den anderen dag herhaald.

No. 935 diende als controle.

Resultaat:

No. 933 stierf op den 7den dag na de infectie.

No. 934 werd tot op den 11den dag behandeld, kreeg 5 inspuitingen, doch scheidde in groote hoeveelheid *perforans*-oöcysten af. Dit dier werd op den 12den dag afgemaakt. Het darmkanaal, voornamelijk de tweede helft van de dunne darm zat vol coccidia-haarden. De darminhoud bevatte de parasieten in alle ontwikkelingsstadia.

In de gal zag ik vele merozoieten, die morphologisch overeen kwamen met de geslachtelijk gedifferentieerde vormen der *Eimeria perforans*. In den lever was geen enkele haard te bekennen.

No 935 stierf op den 15den dag na de infectie.

Emetine had in dit geval therapeutisch niet het minste resultaat.

Experiment 20.

Konijn No. 864 en No. 865. (5 weken oud).

Spontane infectie; in de faeces *Eimeria stiedae* en enkele *Eimeria perforans*.

Behandeling:

No. 864 kreeg om den anderen dag 1/10 cc van een 5% oplossing trypaanblauw, intraveneus, gecombineerd met een toediening van 5 cc per os. Met deze behandeling werd gedurende een week voortgegaan.

No. 865 kreeg dagelijks van eene 2% oplossing gedurende 5 dagen 5 cc per os.

Resultaat:

Het oöcystenaantal in de faeces nam eerder toe dan af.

Bij de sectie die later op de dieren werd verricht, ver- toonde No. 865 ook nog coccidia-haarden in de lever.

Uit deze experimenten bleek mij, dat voor de behandeling van coccidiosis, *Bayer 205* en *creoline* in aanmerking komen. Het beste resultaat bereiken wij, indien we de behandeling

instellen op het tijdstip, dat de dieren diarrhee vertoonen. Bayer 205 heeft dit practisch bezwaar, dat nl. dat de behandeling door den konijnenhouders zelf niet is toe te passen en bovendien te kostbaar is. Creoline is hier beter op zijn plaats, daar dit middel per os ingegeven kan worden.

Ottolenghi en Pabis zagen gunstige resultaten met hunne gecombineerde *Atoxyl-Natriumantimonyltartraat*-behandeling. Zes jonge dieren behandelden zij twee dagen na de kunstmatige infectie tot op den elfden dag als volgt:

2de dag	40	mg.	atoxyl	per os.					
3de	„	5	„	natr. antimonyltartr.	per os.				
4de	„	50	„	„	„	„	„	„	„
5de	„	6	„	„	„	„	„	„	„
6de	„	60	„	„	„	„	„	„	„
7de	„	6	„	„	„	„	„	„	„
11de	„	60	„	„	„	„	„	„	„

Of deze behandeling bij dieren, die op het hoogtepunt van de infectie verkeerden ook gunstige resultaten geeft, wordt niet vermeld.

Experiment 17 en 18 zeggen mij, dat met Bayer 205 zulks wel het geval is. Of levercoccidiosis ook hiermede te bestrijden is, kan uit den aard der zaak moeilijk worden gezegd, daar dit niet altijd langs experimenteelen weg kan worden opgewekt en de diagnose zich ook moeilijk laat stellen.

Het is wenschelijk, dat de dierenartsen, die in de praktijk met runder- en geitencoccidiosis te maken hebben, ook deze middelen voor de bestrijding dezer ziekten beproeven.

VERKLARING DER TEEKENINGEN EN PHOTOGRAMMEN.

Alle figuren werden geteekend naar uitstrijkpreparaten, met haematoxylin volgens Delafield gekleurd, met uitzondering van fig. 21 t/m. 36 en 40, waarvoor ijzer haematoxyline volgens Heidenhain werd aangewend. (Zeiss Apochromat. $1\frac{1}{2}$ mm. Kompens-oculair 12 en Abbésche teekenapparaat. Vergrooting 3600, indien niet bijzonder vermeld, op $\frac{3}{8}$ verkleind = vergroot 2160.)

TAFEL I.

Figuur.

- 1 tot en met 39, schizogonie en gamogonie-stadia der *E. perforans*.
1. Sporozoiët.
- 2 tot en met 5, een-, twee-, zes- en meerkernige schizonten.
5. Één der kernen in deeling. Vergrooting 3600.
- 6 en 7, één- en tweekernige schizogonie-merozoiët.
- 8 en 9, geslachtelijk gedifferentieerde meroziëten.
10. Zes bundels vrouwelijk gedifferentieerde meroziëten in één epitheelcel.
- 11 en 12, meerkernige vrouwelijk gedifferentieerde meroziëten.
- 11' Één der kernen in deeling. Vergrooting 3600.
- 13 en 14, kleinere vrouwelijk gedifferentieerde meroziëten.
15. Vrouwelijk gedifferentieerde merozoiët, pas ingedrongen in een epitheelcel.
16. Jongste vorm van een macrogametocyt.
- 17 tot en met 20, grootere vormen van macrogametocyten.
- 21 tot en met 29, mannelijk (?) gedifferentieerde meroziëten.

- 21 t/m. 24, onvolwassen merozoieten.
- 25 en 26, volwassen merozoieten,
- 27 en 28, twee- en vierkernige mannelijk gediff. merozoieten (extracellulaire microgametocyten).
29. Meerkernige mannelijk gedifferentieerende merozoiet (extracellulaire microgametocyt) met rostrum.
- 30 t/m. 34, microgametocyten.
30. Één-, 31 drie-, 32 vier-, 33 acht- en 34 meerkernige microgametocyten.
- 31' Één der kernen met twee binnenlichaampjes. Vergroting 3600.
35. Rijpe microgametocyt met microgameten.
36. Vrije microgameet met geesels.
37. Rijpe macrogameet met gekorrelde chromatinedraden.
- 38 en 39. Het vormen der tweede membraan in de bevruchte oöcyst. Aan de peripherie rangschikken zich ronde kogels, die later afplatten en onderling versmelten.
40. Microgameet van de *E. stiedae*.
41. Sporozoiët van de *E. stiedae*.
- 42 en 43, merozoieten met rostrum van de *E. stiedae*.
44. Vierkernige schizonten van de *E. stiedae* uit de lever.
45. " schizont " " " " " darm.
46. Zeskernige merozoiet van de *E. stiedae*.
47. Geslachtelijk gedifferentieerde merozoiet van de 4de vorm.
- 48 en 49. Jonge macrogametocyten van de *E. stiedae*.
50. Tweekernige schizont van de *E. stiedae* uit de lever.

TAFEL II.

Geteekend naar natiefpreparaten. Vergroting 2160×.

Fig.

- 1 t/m. 7 sporulatie van de *E. perforans*.
1. Ongesporuleerde oöcyste.
2. Begin van de sporulatie.
3. Pyramide-stadium.
4. Het afronden van de pyramiden.

5. De vier ronde dochterbollen na afloop van het pyramide-stadium.
6. De sporoblasten.
7. Rijpe oöcyst met sporocysten en sporozoieten.
8. Oöcyste van de 3e *Eimeria*-vorm. Geen afplatting aan de toegespitste pool. De micropyle is slechts als een donkere lijn in het membraan zichtbaar.
9. Oöcyste van de *E. stiedae* met een duidelijk afgeplatte scherp begrensde micropyle.
10. Oöcyste van de 4e *Eimeria*-vorm uit de lever. Ook hier is, evenals bij de 3e vorm geen afplatting en geen scherp begrensde micropyle zichtbaar.

TAFEL III.

Photogrammen van uitstrijkjes na kleuring met Delafiels haematoxyline.

Photogr.

1. Vrouwelijk gedifferentieerde merozoieten.
2. Meerkernige vrouwelijk gedifferentieerde merozoieten.
3. Vrouwelijk gedifferentieerde merozoieten, nog tot één bundel vereenigd.
4. Een groote bundel vrouwelijk gedifferentieerde merozoieten door het uitstrijken uit hun verband gerukt.

TAFEL IV.

Photogrammen van uitstrijkjes na kleuring met ijzerhaematoxyline volgens Heidenhain.

Photogr.

1. Kerndeelingen in de vrouwelijk gedifferentieerde merozoieten. De merozoietenbundel is bij het uitstrijken uit zijn verband gerukt.
 2. Schizogonie-merozieten met rostrum (A) van de *E. Stiedae*.
 3. Macrogametocyten. Het halvemaanvormige chromatine-complex is in M. duidelijk zichtbaar.
-

LITERATUUR

1. *Blieck, L. de en Douwes, J. B.* (1920), Kokzidien-infectie bij het rund. Tijdschrift voor Diergeneeskunde. Bd. 47, blz. 139.
2. *Bornhauser, H.* (1912). Lebercoccidiose beim Hund. Dissertatie Bern.
3. *Dobell, C. and Jameson, A. P.* (1917). The chromosome cycle in coccidia and gregarines. Proc. Roy. Soc. Bd. 89, Serie B, blz. 83.
4. *Dobell, C.* (1919). A revision of the coccidia parasitic in man. Parasitology. Dl. 11, blz. 147.
5. *Dobell, C.* (1923). The discovery of the coccidia. Parasitology, Dl. 13, blz. 342.
6. *Dolfein, F.* (1916). Lehrbuch der Protozoenkunde. 4e Dr., G. Fisscher, Jena.
7. *Douwes, J. B.* (1920). Coccidien van het schaap en varken. Tijdschrift voor Diergeneeskunde. Bd. 47, Dl. 14.
8. *Douwes,* (1921). Bijdrage tot de kennis van darmprotozoen bij huisdieren, in het bijzonder bij schaap en varken. Dissertatie Utrecht.
9. *Eimer, Th.* (1870). Ueber die ei- oder kugelförmigen sog. Psorospermien der Wirbeltiere. Würzburg 1870.
10. *Fiebiger, J.* (1913). Studien über die Schwimmbblasencoccidien der Gadusarten. Arch. f. Protistenk. Bd. 31, blz. 95.
11. *Id.* (1923). Die tierische Parasiten der Haus- und Nutztiere, sowie des Menschen. 2e Dr. Braumüller, Leipzig.
12. *Felsenthal, S. en Stamm* (1893). Veränderungen in Leber und Darm bei der Coccidienkrankheit der Kaninchen. Virch. Arch. f. pathol. Anat. Bd. 132, blz. 36.
13. *Galli Valerio, B.* (1913). Observations sur *Eimeria zürni* Rivolta. Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 9, blz. 7.
14. *Id.* (1915). Parasitologische Untersuchungen und parasitologische Technik. Centralbl. f. Bakt. I. O. Bd. 76, blz. 511.
15. *Id.* (1919). Notes de parasitologie et technique parasitologique, Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 61, blz. 294.
16. *Guillebeau, A.* (1893). Ueber das Vorkommen von Coccidien oviforme bei der roten Ruhr des Rindes. Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 36, blz. 169.

17. *Id.* (1894). Parasitisches Vorkommen von *Coccidium oviforme* bei der roten Ruhr des Rindes. Schweizer Arch. f. Tierheilk. Bd. 58, blz. 596.
18. *Hadley, Th. B.* (1909). Studies in avian Coccidiosis. I. White Diarrhea of chicks. II. Roup in fowls. Centralbl. f. Bakteriologie. I. O. Bd. 50, blz. 348.
19. *Id.* (1911). *Eimeria avium*: A morphological Study. Arch. f. Protistenk., Bd. 23, blz. 7.
20. *Hartmann, M.* (1907) Das System der Protozoen, Arch. f. Protistenk. Bd. 10, blz. 139.
21. *Hartmann, M. en Schilling, C.* (1917). Die pathogenen Protozoen, J. Springer, Berlin.
22. *Hartmann, M.* (1921). Praktikum der Protozoologie, 4e Dr. J. Fischer, Jena.
23. *Hess, E.* (1892). Die rote Ruhr des Rindes. Schweiz. Arch. f. Tierheilk., Bd. 34, blz. 105.
24. *Hutyra, F. en Marek, J.* (1921). Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. Dl. 2. 5e dr. G. Fischer Jena.
25. *Joest, E.* (1921). Spezielle pathologische Anatomie der Haustiere. Bd. II. Schoetz Berlin.
26. *Jollos, V.* (1909). Multiple Teilung und Reduktion bei *Adelea ovata*, Arch. f. Protistenk. Bd. 15, blz. 250.
27. *Id.* (1913). Coccidiosen. Kolle und Wasserman Handb. der path. Mikroorg. Bd. 7, blz. 711.
28. *Knuth, B. und du Toit, P. J.* (1921). Tropenkrankheiten der Haustiere. Dl. VI v. Mense Handbuch der Tropenkrankheiten 2e dr. Barth Leipzig.
29. *Krediet, G. J.* (1921). Over het voorkomen van Protozoen-cysten en ontwikkelingsvormen van Coccidien in den darm van mensch en enkele dieren. Dissertatie Leiden.
30. *Labbé, A.* (1896). Recherches sur les coccidies. Arch. zool. exp. et gén. 3e série. Dl. 4, blz. 517.
31. *Leger, L. et Duboscq, O.* (1910). *Selenococcidium intermedium*. Arch. zool. exp. Serie 5. Dl. 5, blz. 187.
32. *Leuckart, R.* (1886—1901). Die Parasiten des Menschen. Bd. II, 2e dr. Winter, Leipzig.
33. *Lieberkühn, N.* (1854). Ueber die Porospermien. Arch. f. Anat. u. Phys. I, II, blz. 1.
34. *Lucet, A.* (1913). Recherches experimentales sur la coccidiose du lapin domestique. C.r. Acad. Sci. Paris. Dl. 157, Blz. 1091.
35. *Id.* (1913). Transmission experimentale du *Coccidium oviforme* du lapin domestique. Bull. soc. centr. de med. vét. Dl. 67, blz. 446.
36. *Lühe, M.* (1900) Ergebnisse der Sporozoenforschung. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. 27, blz. 367.
37. *Id.* (1902). Ueber Geltung und Bedeutung der Gattungsnamen *Eimeria* und *Coccidium*. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. 31, blz. 771.

38. *Id.* (1903). Die Coccidienliteratur der letzten vier Jahre. Zool. Centralbl. Bd. 10, blz. 617.
39. *Mac Fadyean, J.* Some observations regarding te *Coccidium oviforme*. Journal of comp. Pathol. and Therap. Vol. 7, blz. 131.
40. *Metzner, K.* (1903). Untersuchungen an *Coccidium cuniculi*. Arch. f. Protisten Bd. 2, blz. 13.
41. *Montgomery, E.* (1910). Coccidiosis of cattle in East Afrika. Bull. soc. Path. exot. Bd. 3, blz. 293.
42. *Moroff, Th. und Fiebiger J.* (1905). Ueber *Eimeria subepithelialis*. Arch. f. Protistenk. Bd. b, blz. 166.
43. *Moroff, T.* (1907). Untersuchungen über Coccidien. I. *Adela zonula*, Arch. f. Protistenk. Bd. 8, blz. 17.
44. *Id.* (1911). II. *Klossia vitrina*, Arch. f. Protistenk. Bd. 23, blz. 51.
45. *Müller J. und Retzius, A.* (1842). Ueber parasitische Bildungen. Arch. f. Anat. Physiol. u. wiss. Med. blz. 198.
46. *Müller, H.* (1914). Ueber das Vorkommen van Coccidien und Schizonten bei gesunden Rindern. Inaug. Diss. Kiel.
47. *Nederveen, H. J. v.* (1921). Over de al of niet identiteit van het runderen het konijnencoccidium. Tijdschr. voor vergel. Geneesk., Dl. 7, blz. 226.
48. *Id.* (1922). Infectieproef van het rund met konijnencoccidium. Tijdschrift voor vergel. Geneesk., Dl. 8, blz. 88.
49. *Id.* (1923). Coccidiosis bij het rund. Tijdschr. voor vergel. Geneesk., Dl. 9, blz. 311.
50. *Id.* (1923). Coccidien bij het gezonde rund. Tijdschr. voor vergel. Geneesk., Dl. 9, blz. 151.
51. *Neumann und Martin Mayer* (1914). Atlas und Lehrbuch wichtiger tierischer Parasiten und ihrer Ueberträger. Munchen.
52. *Neveu Lemaire* (1912). Parasitologie des animaux domestiques, 4e dr., Lamarre, Paris.
53. *Nieschulz, O.* (1921a). Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Eimeria*, I. Ueber das Taubencoccid. Arch. f. Protistenk. Bd. 44, H. 1, blz. 71.
54. *Id.* (1921b). Over de betrekking tusschen het duiven- en kippen-coccidium. Tijdschr. v. Diergeneeskunde, Dl. 48, afl. 23.
55. *Id.* (1923). Ueber Hasenkokzidien (*Eimeria leporis* n. sp.) Deutsche tierärztl. Wochenschr., Jrg. 31, blz. 245.
56. *Id.* (1924). Bijdrage tot de morphologie van het geitencoccid. Tijdschr. voor Diergeneesk., Dl. 51, blz. 19.
57. *Nöller, W.* (1920). Kleine beobachtungen an parasitischen Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 34, blz. 295.
58. *Nöller, W. und Otten, L.* (1921). Die Kochsalzmethode bei den Haustierkokzidien. Berl. tierärztl. Wochenschr., Jrg. 37, No. 41, blz. 481.

59. Nöller, W. (1922). Die wichtigsten parasitischen Protozoen der Menschen und der Tiere, in Ostertag, Wolffhügel en Nöller's handboek „Die Tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere“. Dl. I. Schoetz, Berlin.
60. Nöller, W., Schürjohann, S. und K. Vorbrodt (1922). Zur Kenntnis der Ziegen- und Schafkokzidiose. Berl. tierärztl. Wochenschr., Jgr. 38, blz. 193.
61. Ottolenghi, D. en Pabis, E. (1913). Chemotherapieversuche bei Kaninchencoccidiose. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69, blz. 538.
62. Pfeiffer, L. (1891). Die Protozoen als Krankheitserreger, blz. 44, 2e Dr. Fischer, Jena.
63. Pfeiffer, R. (1892). Beiträge zur Protozoenforschung, I. Die Coccidienkrankheit der Kaninchen. Hirschwald, Berlin.
64. Prowazek, S. (1907). Die Sexualität bei den Protisten. Arch. f. Protistenk. Bd. 9, blz. 23.
65. Railliet, A. (1919). La coccidiose intestinale ou dysenterie coccidienne des bovines. Recueil méd. vét., blz. 5.
66. Railliet, A. et Lucet, A. (1891). Note sur quelques espèces de coccidies encore peu étudiées. Bull. Soc. Zool. France, Bd. 16, blz. 246.
67. Rautmann (1915). Ein Beitrag zur Coccidiose der Hasen. Deutsche tierärztl. Wochenschr., Jrg. 28, blz. 193.
68. Reich, F. (1913). Das Kaninchencoccid. Eimeria stiedae. Arch. f. Protistenk. Bd. 28, blz. 1.
69. Reichenow, E. (1910). Haemogregarina stepanowi. Die Entwicklungsgeschichte einer Hämogregarine. Arch. f. Protistenk. Bd. 20, Blz. 251.
70. Id. (1913) Karyolysus lacertae, ein wirtswechselndes Coccidium der Eidechse Lacerta muralis und der Milbe Liponyssus saurorum. Arb. a/d. Kaiserl. Gesundheitsambte. Bd. 45, blz. 317.
71. Id. (1919). Der Entwicklungsgang der Hämococcidien Karyolysus und Schellackia nov. gen. Sitzungsber. Ges. naturf. Freunde. Berlin, blz. 440.
72. Id. (1920). Die Coccidien. Handbuch der pathogenen Protozoen von Prowazek—Nöller, Bd. 3. A. Barth, Leipzig.
73. Id. (1920). Die Hämococcidien der Eidechsen. I. Teil. Arch. f. Protistenk. Bd. 42, blz. 179.
74. Reitsma, K. (1921). Coccidiosis bij de geit. Tijdschr. v. Diergeneesk. Bd. 49, blz. 329.
75. Rudovsky, T. (1921). Die Kokzidiose der Wanderratte (Mus decumanus Pall) und ihre Beziehung zur Kaninchenkokzidiose. Centralbl. f. Bakt. Dl. 87, blz. 427.
76. Schaudinn, T. (1900). Untersuchungen über der Generationswechsel der Coccidien. Zool. Jahrb. Abt. Morph. Bd. 13, blz. 197.
77. Id. (1902). Studien über Krankheitserregende Protozoen. I. Cyclospora caryolytica, Arb. a.d. Kaiserl. Gesundheitsambte. Bd. 13, blz. 378.

78. *Schaudinn, T. und Siedlecki, M.* (1897). Beiträge zur Kenntnis der Coccidien. Verh. Deutsch. Zool. Ges. Kiel, blz. 192.
79. *Schellack, C. en Reichenow, E.* (1913) Coccidien-Untersuchungen I. *Barrouxia schneideri*, Arb. a.d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 44, H. 1, blz. 30.
80. *Id.* (1913). Coccidien-Untersuchungen II. Die Entwicklung von *Adelina dimidiata*. Arb. a.d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 45, blz. 269.
81. *Id.* (1915). Coccidienuntersuchungen III. *Adelea ovata*, A. Schn. Arb. a.d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 48. H. 3, blz. 425.
82. *Schuchmann und Kieffer* (1922). Ueber den Nachweis von Parasiteneiern im Kot der Haustiere. Berl. Tierärztl. Wochenschr. Jrg. 38, blz. 357.
83. *Seebandt, K.* (1920). Beiträge zur Coccidiose der Kaninchen. Inaug.-Diss. Kiel.
84. *Scheider, Aimé*, (1875). Note sur les rapports des psorospermies oviformes aux véritables grégaires. Arch. de Zool. exper. et gén. IV, blz. 45.
85. *Siedlecki, M.* (1899). Etude cytologique et cycle évolutif de *Adelea ovata*. Ann. de l'Inst. Pasteur. Bd. 13.
86. *Simond, P. L.* (1897). L'évolution des sporozoaires du genre *Coccidium*. Ann. de l'Inst. Pasteur. Bd. 11, blz. 545.
87. *Smith, Th.* (1910), A. protective reaction of the host in intestinal coccidiosis of the rabbit. Journ. med. research., blz. 407.
88. *Spiegl, A.* (1919), Zum Vorkommen der Kokzidiose bei Ziegen nebst einigen Bemerkungen über die Biologie der Kokzidien und die Bekämpfung der Kokzidiosen. Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1919, blz. 451.
89. *Stieda, L.* (1865), Ueber die Psorospermien der Kaninchenleber. Virch. Arch. f. path. Anat. Bd. 32, blz. 132.
90. *Sustmann* (1914), Kaninchenkokzidiose und deren Behandlung. Münch. tierärztl. Wochenschr. Jrg. 65, blz. 1001.
91. *Swellengrebel, N. H.* (1914), Zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte von *Isospora bigemina*. Arch. f. Protistenk. Bd. 32, blz. 379.
92. *Id.* (1921). Protozoa. In Swellengrebel, Sluiter en Ihle's handboek: De dierlijke parasieten van den mensch en onze huisdieren. 3e dr. Scheltema—Holkema, Amsterdam.
93. *Tyzzer, E.* (1912), *Cryptosporidium parvum*. A coccidium found in the small intestine of the common mouse. Arch. f. Protistenk. Bl. 26, blz. 394.
94. *Virchow, R.* (1860), Helminthologische Notizen. Zur Kenntnis der Wurmknotten. Virchows Arch. f. Pathol. Anatomie. Bd. 18, blz. 523.
95. *Waldenburg, L.* (1862), Ueber Structur und Ursachen der wurmhaltigen Cysten. Arch. f. Pathol. Anatomie. Bd. 24, blz. 49.
96. *Id.* (1867), Zur Entwicklungsgeschichte der Psorospermien. Arch. f. Path. Anatomie. Bd. 40 blz. 435.

97. *Wasielewski, Th. v.* (1898), Ueber geisseltragende Coccidienkeime. Zentralbl. Bakt. Bd. 24, blz. 71.
98. *Id.* (1904), Studien und Mikrophotogrammen zur Kenntnis der pathogenen Protozoen, I. Barth, Leipzig.
99. *Wenyon, C. M.* (1907), Observations on the protozoa in the intestine of mice. Arch. f. Protistenk. Suppl. Bd. I, blz. 169.
100. *Id.* (1915a). Observations on the common intestinal protozoa of man, their diagnosis and pathogenicity. Lancet. Bd. 2, blz. 1173.
101. *Id.* (1915b). The development of the oöcyst of the human coccidium. Lancet. Bd. 2, blz. 1296.
102. *Id.* (1915c) Another human coccidium from the Mediterranean war area. Lancet. Bd. 2, blz. 1404.
103. *Id.* (1916). The protozoological findings in 556 cases of intestinal disorder from the Eastern Mediterranean war area. Journal Roy. Army Med. Cops. Bd. 28, blz. 445.
104. *Id.* (1923). Coccidiens of cats and dogs and the status of the Isospora of man. Annals of Tropical Medicine and Parasitology. Dl. 17, No. 2, blz. 231.¹⁾
105. *Zschokke, E.* (1892). Beobachtungen über die rote Ruhr. Schweiz. Arch. f. Tierheilkunde. Bd. 34, blz. 1.
106. *Züblin, F.* (1908). Beiträge zur Kenntnis der roten Ruhr des Rindes. Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Bd. 50, H. 3, blz. 123.
107. *Zürn, F. A.* (1878). Die kugel- und eiförmigen Psorospermien als Ursache von Krankheiten bei Haustieren. Leipzig. Vorträge für Tierärzte. Dl. 1. Leipzig.

¹⁾ Kreeg ik eerst ter inzage, toen dit proefschrift reeds ter perse was.

ERRATA

Pag. 15, 9e regel van boven:

staat: werd door Schaudinn en Siedlecki *enz.*;

lees: werd door Schaudinn *enz.*

„ 20, 13e regel van onder:

staat: In 1899 verscheen van de hand van Schaudinn en Siedlecki *enz.*;

lees: In 1900 verscheen van de hand van Schaudinn *enz.*

10e regel van onder:

staat: De door beide onderzoekers *enz.*;

lees: De door dezen onderzoeker *enz.*



V.

Zoolang verreweg het grootste gedeelte der bevolking in Nederlandsch-Indië zijn bestaan vindt in landbouw en veeteelt, is het de taak der regeering, aan de ontwikkeling van deze

97. Wasielewski, Th. v. (1898), Ueber geisseltragende Coccidienkeime. Zentralbl. Bakt. Bd. 24, blz. 71.
98. Id. (1904), Studien und Mikrophotogrammen zur Kenntnis der pathogenen Protozoen, I. Barth, Leipzig.
99. Wenyon, C. M. (1907), Observations on the protozoa in the intestine of mice. Arch. f. Protistenk. Suppl. Bd. I, blz. 169.
100. Id. (1915), Observations on the common intestinal protozoa of man.

ERRATA

Pag. 58, 5e regel van onder, laatste zin:

staat: tafel 4;

lees: tafel 3.

„ 76, 2e en 3e regel van boven:

staat: Cavia No. 837, Cavia No. 837;

lees: Cavia No. 834, Cavia No. 835.

„ 76, 12e regel van boven:

staat: Cavia No. 783 vertoonde enz.

lees: Cavia No. 834 vertoonde enz.

Tafel 2 ontbreekt: Waworuntu get.

lecki enz.;

lees: In 1900 verscheen van de hand van Schaudinn enz.

10e regel van onder:

staat: De door beide onderzoekers enz.;

lees: De door dezen onderzoeker enz.



STELLINGEN

I.

Het is wenschelijk, dat bij de bestrijding van rabies, afgezien van het streng doorvoeren der Wettelijke Bepalingen, ook uitgebreide proeven tot immuniseeren van honden en katten, middels vaccinatie in een besmette gemeente worden genomen.

II.

Het is zeer onwaarschijnlijk, dat bij hoefkanker en condylomateuze mok een „infectie” in het spel is.

III.

Na manueele verwijdering der secundinae bij retentio secundinarum en in gevallen waarbij een endometritis tengevolge der retentio is opgetreden, is een behandeling met Dakinsche solutie zeer succesvol.

IV.

Bij het heerschen van besmettelijke ziekten onder den vee-stapel in de tropen zijn rationeele gebruikmaking van het zonlicht en tijdelijk opstallen der dieren krachtige middelen gebleken, zoowel ter voorkoming als ter bestrijding.

V.

Zoolang verreweg het grootste gedeelte der bevolking in Nederlandsch-Indië zijn bestaan vindt in landbouw en veeteelt, is het de taak der regeering, aan de ontwikkeling van deze

beide takken van volkswelvaart voorloopig meer aandacht te wijden, dan aan de bevordering van de industrie.

VI.

Bij de bestrijding van besmettelijke veeziekten en de bevordering der veeteeltbelangen der bevolking in Nederlandsch Oost-Indië zal men betere resultaten verkrijgen, indien de Burgerlijke Veeartsenijkundige Dienst de beschikking heeft over een voldoende aantal te Buitenzorg opgeleide en voor hun taak berekende, daarbij met toewijding werkende, Indische Veeartsen.

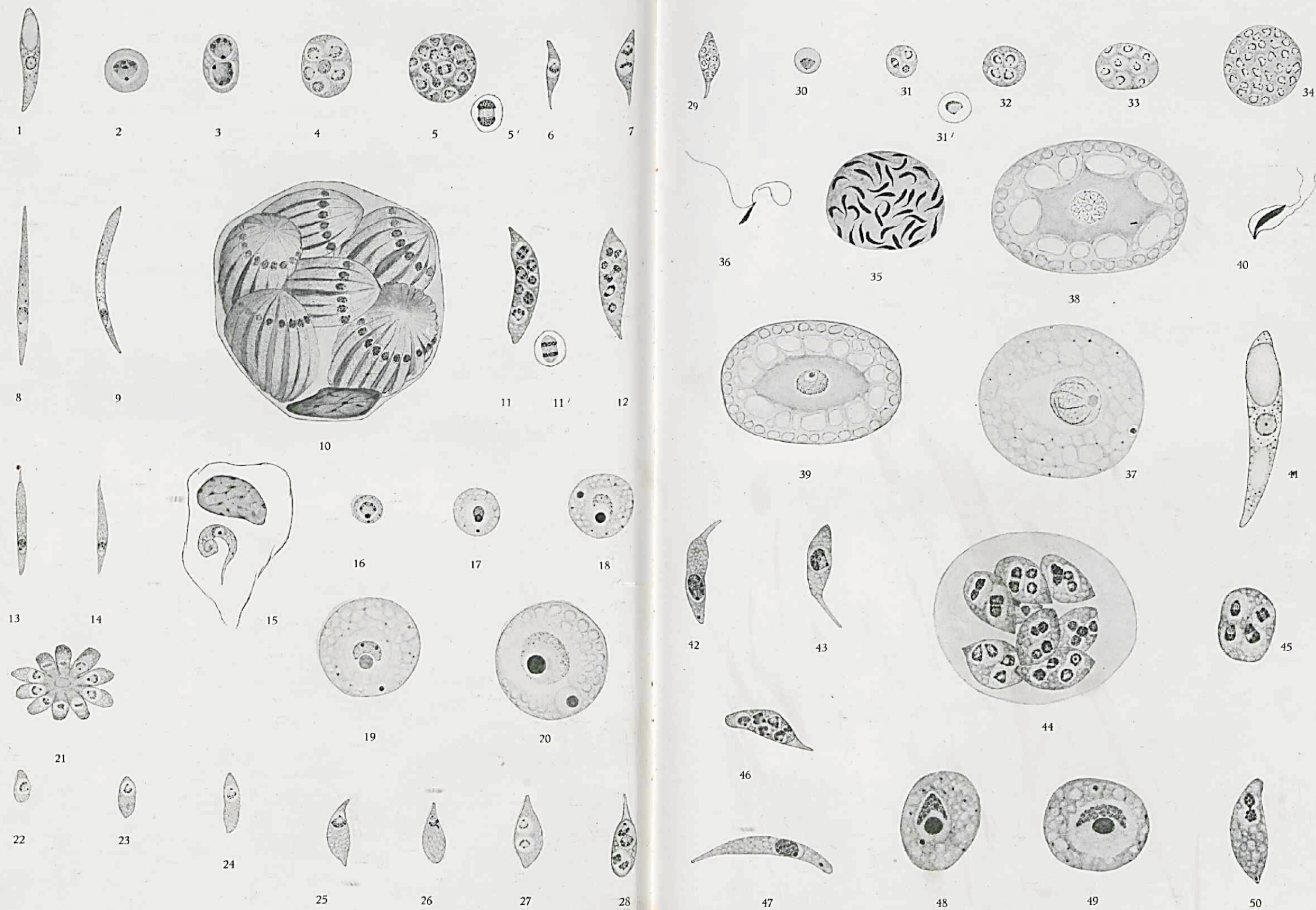
Het verkrijgen of behouden van het vertrouwen van de veehoudende bevolking is daarbij eveneens van groot belang.

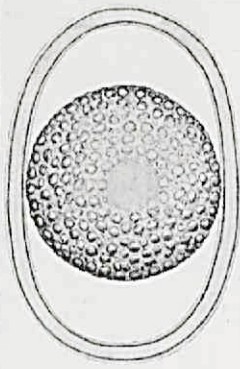
VII.

De theorie van Weismann over de „Onsterfelijkheid der Protozoon”, is naar de nieuwere onderzoekingen en inzichten onwaarschijnlijk.

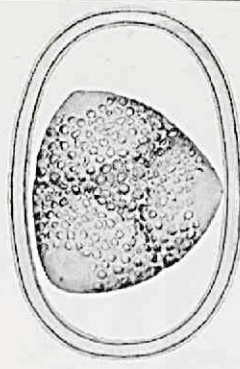
VIII.

Het feit, dat met het konijnencoccidium runderen *niet* zijn te infecteeren, spreekt *tegen* het identisch zijn van het Runder- en het Konijnencoccidium.

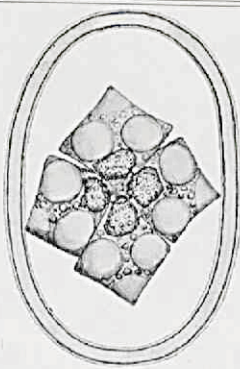




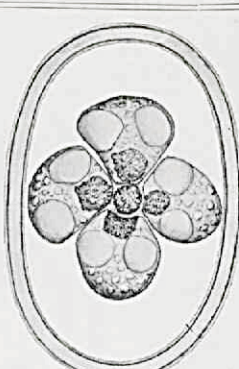
1



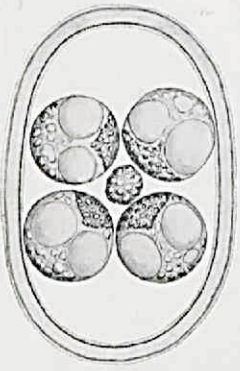
2



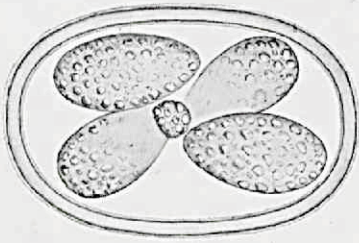
3



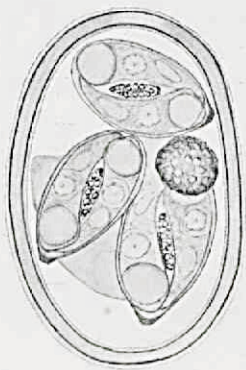
4



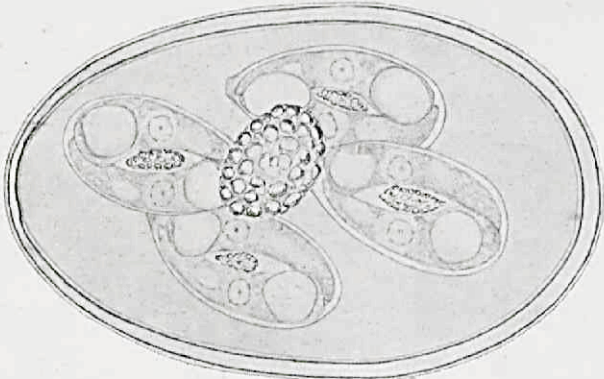
5



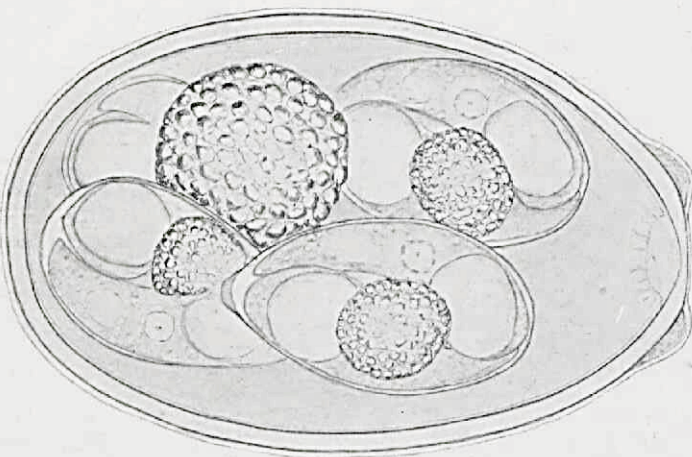
6



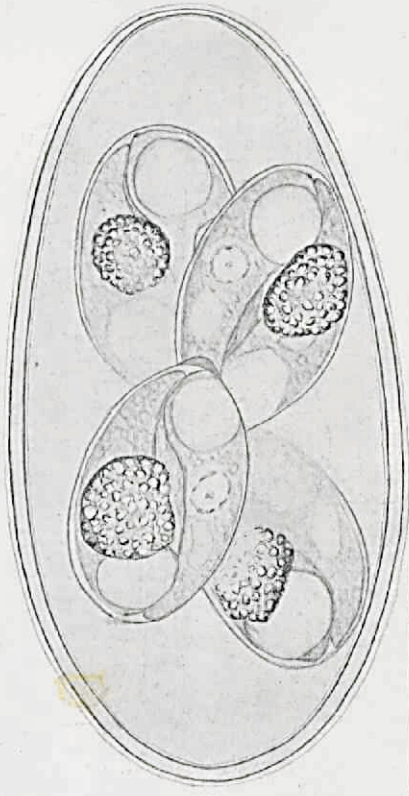
7



8



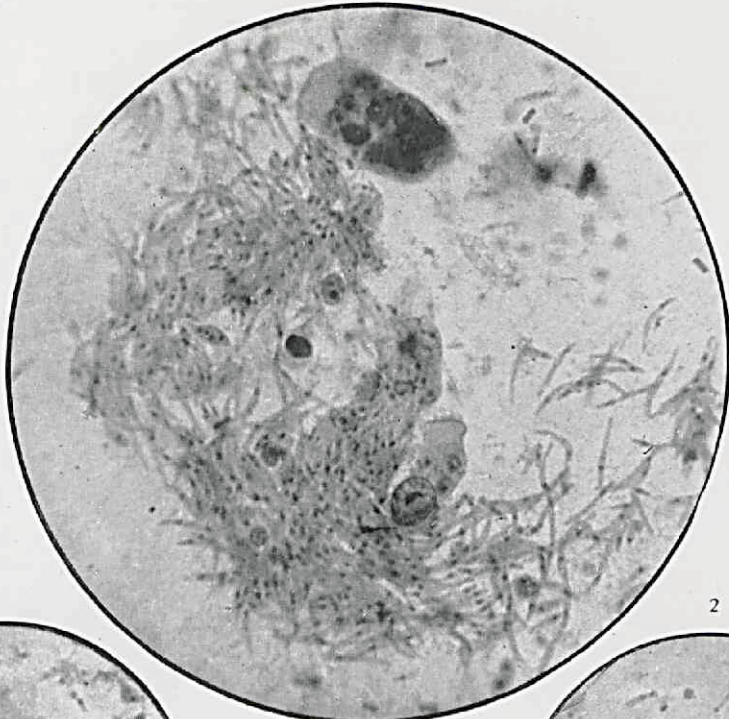
9



10

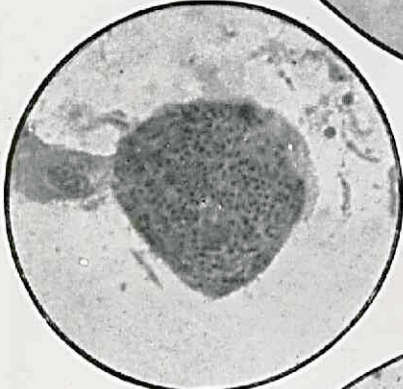
Vergr. op 700

4



主

3



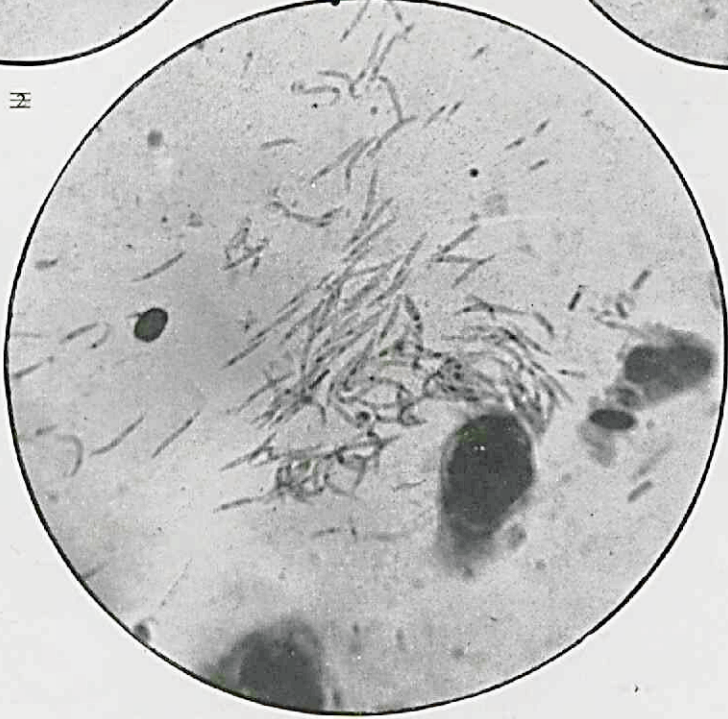
主

2



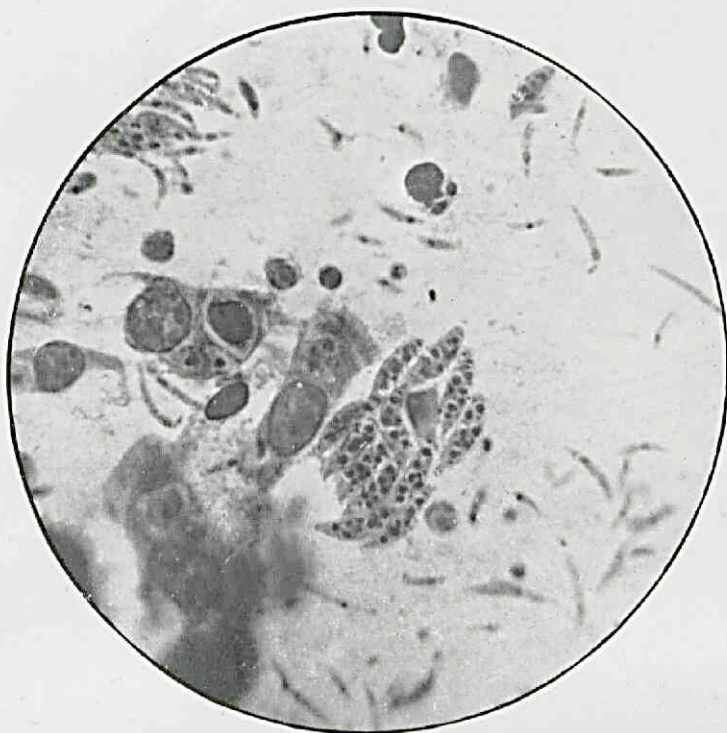
主

1



主

1 vergr. op 900
2 en 3 „ „ 700



1



2

A

M



3

BIBLIOTHEEK
DIERGENEESKUNDE
UTRECHT

