Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

Onderzoek naar den bacteriëelen aard van kippendiphterie en naar het verband dezer ziekte met diphterie van den mensch

https://hdl.handle.net/1874/285853

A. qu. 192, 1926

Onderzoek naar den Bacteriëelen aard van Kippendiphtherie en naar het verband dezer ziekte met diphtherie van den mensch.

W. K. PICARD

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

ONDERZOEK NAAR DEN BACTERIËLEN AARD VAN KIPPENDIPHTHERIE EN NAAR HET VERBAND DEZER ZIEKTE MET DIPHTHERIE VAN DEN MENSCH

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT
3969 2540

Diss. Utrecht 1926

ONDERZOEK NAAR DEN BACTERIËELEN AARD VAN KIPPENDIPHTHERIE EN NAAR HET VERBAND DEZER ZIEKTE MET DIPHTHERIE VAN DEN MENSCH

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN

DOCTOR IN DE VEEARTSENIJKUNDE

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS **Dr. A. NOORDTZIJ,** HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER GODGELEERDHEID, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT, TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER VEEARTSENIJKUNDE TE VERDEDIGEN OP **DINSDAG 26 OCTOBER 1926,** DES NAMIDDAGS TE 4 UUR, DOOR

WILLEM KAREL PICARD

GEBOREN TE UTRECHT, PAARDENARTS DER 1e KLASSE, N.A. TE DRIEBERGEN.

1926

DRUKKERIJ FIRMA SCHOTANUS & JENS, UTRECHT, TELEF. No. 12449

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

Aan mijne vrouw.
Aan mijne kinderen.

Toen na terugkeer uit Indië mijn loopbaan, door onvoorziene omstandigheden, eene andere richting nam, hebt Gij, Hooggeleerde DE BLIECK mij welwillend de gelegenheid geboden om aan Uw laboratorium dit onderzoek aan te vangen.

Uwe voortdurende belangstelling en hoog gewaardeerde voorlichting zijn mij een onmisbaren steun geweest bij het voltooien daarvan.

Met groote erkentelijkheid breng ik U Hooggeschatte Promotor, daarvoor mijn oprechten dank.

Aan U VAN HEELSBERGEN en BAUDET wensch ik mijn welgemeenden dank te betuigen voor de bijzondere bereidwilligheid en meer dan vriendschappelijke wijze, waarop Gij beiden mij met raad en daad hebt terzijde gestaan.

Zeergeleerde DOYER, ook U ben ik grooten dank verschuldigd voor de regelmatige toezending van gegevens, welke tot het beëindigen van een belangrijk onderdeel van dit onderzoek hebben bijgedragen.

Ook U waarde VAN DER HOEDEN mag ik een woord van dank niet onthouden voor Uwe hulpvaardigheid bij het verstrekken van materiaal.

Aan ALLEN, die mij bij dit onderzoek hulp verleenden of van hunne belangstelling blijk gaven, breng ik mijn oprechten dank.

INHOUD.

Inleiding 11

HOOFDSTUK I.

Diphtheritische mond- en keelaandoeningen van bacteriëelen aard bij de kip 17

A. Literatuur 17
B. Eigen onderzoek 29
C. Beschouwingen 48

HOOFDSTUK II.

Verband tusschen diphtherie van den mensch en diphtherie van de kip. 54

§ 1. **Diphtheriebacillen en diphtherie-achtige bacillen** . 55
A. Eigenschappen van den bacil van Klebs-Löffler 55
B. Eigenschappen der meest bekende diphtherie-achtige bacillen. 59
C. Differentieering 61

§ 2. **Diphtheriebacillen en diphtherie-achtige bacillen in mond- en keelmembranen van de kip** 67
A. Literatuur 67
B. Eigen onderzoek 72

§ 3. **Diphtheriebacillen en diphtherie-achtige bacillen als diphtherieverwekkers bij de kip** 81

A. Inleiding 81
B. Eigen onderzoek 82
a. Infectieproeven met oorspronkelijk diphtheriemateriaal van den mensch.
b. Infectieproeven met den Bacil van Klebs-Löffler en zijne toxinen.
c. Infectieproeven met uit de menschen- en vogelkeel afkomstige diphtherie-achtige bacillen.

§ 4. **Epidemiologisch verband tusschen diphtherie van den mensch en diphtherie van de kip** 105

A. Literatuur 105

B. Eigen onderzoek 115

a. Contagiositeit van kunstmatig met den diphtheriebacil geïnfecteerde kippen voor gezonde kippen.

b. Levensvatbaarheid van den diphtheriebacil bij kunstmatig geïnfecteerde kippen.

c. Diphtheriebacillen in de keel van zieke of gezonde kippen, afkomstig uit besmettingshaarden van humane diphtherie.

Conclusies 133

Geraadpleegde literatuur. 135

INLEIDING.

Weinig vraagstukken zijn aetiologisch en epidemiologisch voor den pluimveeziektekenner van meer beteekenis dan de vogeldiphtherie.

Als algemeen verbreide, vaak moorddadig heerschende infectieziekte, vormt zij eene voortdurende bedreiging voor den pluimveestapel en heeft daardoor de belangstelling gewekt van talrijke onderzoekers, die langs verschillende wegen hebben getracht hare oorzaak vast te stellen.

Naast oeconomische factoren hebben vooral in het vóór-bacteriologische tijdperk ook algemeen hygiënische motieven tot verscherpte belangstelling in het wezen dezer vogelziekte geleid, omdat men in haar de oorzaak meende te zien van onverklaarbare diphtherie-erupties bij den mensch.

Een der oudste publicaties over vogeldiphtherie is van *Huzard (1775)*, die haar beschrijft als eene *„conjonctivite des poules"*.

Daarop volgen mededeelingen van *Leisering* (1860) en van *Russ* (1861) over kippensterfte, onder verschijnselen van keel- en oogaandoeningen, waarin men de meening vindt uitgesproken, dat de ziekte in verband staat met diphtherie van den mensch.

Die meening bestond echter reeds lang vóór het verschijnen der eerste publicaties over vogeldiphtherie.

Zoo schreef men de oorzaak eener moorddadige diphtherie-epidemie van den mensch te Napels, in 1618, toe aan besmetting door zieke kippen met diphtheritische processen in de keel.

Ook trachtte men het uitbreken eener niet minder ernstige

diphtherie-epidemie te Parijs in 1743 op deze wijze te verklaren en toen in het begin der 19e eeuw in Sologne wederom eene angstaanjagende diphtherie-eruptie plaats had, werd eene commissie benoemd, wier taak het was om uit te maken of vogel-diphtherie inderdaad tot besmetting van den mensch aanleiding kon geven.

Deze commissie besliste in bevestigenden zin.

Sedert kan men de verschillende onderzoekers splitsen in z.g. *„unicisten"* en *„dualisten"*.

De *„unicisten"* leggen een nauw verband tusschen humane en aviaire diphtherie en nemen daarbij eenheid van virus aan i.c. de Bacil van Klebs-Löffler.

De *„dualisten"* daarentegen schakelen elk verband tusschen beide ziekten uit en beschouwen vogeldiphtherie als eene op zich zelf staande vogelziekte, veroorzaakt door één of meerdere specifieke ziektekiemen.

Rangschikt men de in de literatuur beschreven gevallen van vogeldiphtherie naar den aard van het gevonden micro-organisme, dan is eene indeeling in 3 groepen mogelijk, omvattende:

A. **Gevallen van parasitairen aard (Zoöparasieten en Phytoparasieten).**
B. **Gevallen van vogelpokken oorsprong** en
C. **Gevallen van bacteriëelen aard.**

A. GEVALLEN VAN PARASITAIREN AARD.

Zoöparasieten.

In 1869 vond *Rivolta* ronde lichaampjes in kippenmembranen, welke door hem als *gregarinen* of *psoro-spermiën* werden beschouwd.

In 1880 kwam hij op deze uitspraak terug en beschouwde deze lichaampjes, welke hij *„Epitheliomyces croupogenes"* noemde, als plantaardig.

Daarbij gaf hij eene beschrijving van een andere vorm van diphtherie onder jonge kippen en duiven, bij welke hij een *flagellaat* in de membranen vond *„Cercomonas gallinae"*. Hij

nam nu aan, dat er twee vormen van vogeldiphtherie waren, de eene van phytoparasitairen, de andere van zoöparasitairen aard.

Ook *Sylvestrini* (1873) nam *flagellaten* waar in keelmembranen van zieke kippen en beschouwde dezen als oorzaak der ziekte.

Pfeiffer vond in 1889 nu eens *gregarinen* dan weer *flagellaten* in de membranen van diphtherische kippen en zag in deze *gregarinen* rustvormen der *flagellaten* en in de laatsten de ziekteverwekkers.

In 1890 vonden *Babes* en *Puscariu* een *„trichomonas"*, welke dezelfde eigenschappen bezat als de *flagellaat* door *Pfeiffer* beschreven.

Naast deze, bij kippen waargenomen protozoën, worden er nog enkele gevallen bij duiven vermeld, o.a. door *Davaine*, die in de membranen een *flagellaat* vond, waaraan hij den naam van *„Cercomonas gallinarum"* gaf.

Piana en *Galli Valerio* vonden in membranen van de duif z.g. *„amoeboïde lichaampjes"*, die zij als protozoën beschouwden.

Mazzanti vond in 1896 eveneens *flagellaten* in duivenmembranen.

Ten slotte vond *Perroncito* in 1886 in membranen van kippen, duiven en kalkoenen *coccidiën*, aan welke hij aetiologische beteekenis toekende.

Phytoparasieten.

Als verwekker van diphtheritische processen in het bovenste gedeelte van den digestie tractus, n.l. slokdarm en krop bij kip en duif, vinden we beschrijvingen van *endomyceten*.

Eberth (1858) vond op het slijmvlies van den oesophagus en op de inwendige vlakte van den krop witte, membraanachtige plekken, welke met spruw laesies overeen kwamen. Het microscopisch onderzoek bracht de aanwezigheid van *„Endomyces albicans"* aan het licht. *Reimann* en *Zurnn* namen dit eveneens waar.

In 1879 vond *Friedberger* in kippenmembranen een *mycelium*, dat hij met de oorzaak der ziekte in verband bracht, doch niet nader determineerde.

In 1883 spreekt *Martin* van *„muguet"* of *„endomycose des volailles"* bij een jongen, zeer vermagerden kalkoen. Bij de sectie bleek het achterste gedeelte van den slokdarm met membranen te zijn bedekt, waarin de *Endomyces albicans* gevonden werd.

Zürn en *Klee* vonden spruw bij de duif.

Deze drie onderzoekers legden echter geen cultures aan en hunne infectieproeven bij kippen, met spruwmateriaal van den jongen kalkoen zoowel als van een aan spruw lijdend kind leden échec. *Zürn* nam aan, dat vogels kunnen worden geïnfecteerd door het verorberen van voedselrestanten van aan spruw lijdende kinderen, en beschouwde eene reeds bestaande vogelziekte als eene praedispositie voor het optreden der spruwverschijnselen bij deze vogels.

In 1907 heeft *Lazzaro Trincas* een vogeldiphtherie bestudeerd, waaraan vooral jonge duiven ten gronde gingen.

Uit de spekachtige keelmembranen isoleerde hij, onder talrijke andere micro-organismen, een Gram positief staafje, dat oppervlakkig beschouwd overeenkomst met den diphtheriebacil vertoonde, doch door den vorm der cultures door *Trincas* voor een bacillairen vorm van een *actinomyces* soort werd aangezien, overeenkomende met die, welke reeds door Pasquini bij vogeldiphtherie was waargenomen.

De *streptothrix-vorm* dezer actinomyces noemde men *„Actinomyces citrocremeus Pasquini"* of ook wel *„Actinomyces diphtheriae avium Trincas"*, de bacillaire vorm *„Microbacterium diphtherie avium Trincas"* en de laatste vorm werd meer virulent geacht dan de eerste.

Uit deze mededeelingen blijkt in geen enkel opzicht, dat de diphtheritische processen in de keel van kippen, duiven en kalkoenen met den daarin aangetroffen parasiet in oorzakelijk verband stonden.

Het voorkomen van zoö- en phytoparasieten op het normale keelslijmvlies bij vogels pleit veel eerder voor hunne secundaire beteekenis bij bestaande diphtheritische processen.

Microscopische waarneming en negatief verloopende infectieproeven kunnen bezwaarlijk als bewijs worden aangevoerd voor hunne pathogeniteit.

B. VOGELPOKKENVIRUS.

Lang voor de baanbrekende proeven van *Carnwath* namen reeds *Rivolta, Silvestrini* (1873) en *Pfeiffer* (1889) eene zekere identiteit tusschen vogeldiphtherie en vogelpokken aan, omdat het hun opviel, dat beide ziekten, als regel gelijktijdig in denzelfden pluimveekoppel heerschten.

Nadat door *Marx* en *Sticker* in 1902 de filtreerbaarheid van het vogelpokkenvirus was aangetoond kon dit door de onderzoekingen van *Carnwath* (1907), *Manteuffel* en *Uhlenhuth* (1910), *von Betegh* (1912), *Smith, Biro, Hadley* en *Beach* (1913), *Halasi* (1914), *von Rätz* (1915), *Mack* en *Records* (1918), *van Heelsbergen* (1922) als de oorzaak van beide ziekten worden aangewezen, waarmede hunne identiteit kwam vast te staan.

Men kan dus thans spreken van een *„vogelpokkendiphtherie"*. Men tracht het optreden dezer geheel verschillende ziektebeelden te verklaren door aan te nemen, dat er twee variëteiten van het virus bestaan, n.l. eene met bijzondere huidaffiniteit (pokken) en eene met bijzondere slijmvliesaffiniteit (diphtherie).

Van recenten datum is de opvatting, dat door eene zekere individueele dispositie, afhankelijk van onbekende factoren, nu eens de huid dan weer het slijmvlies voor het virus worden gesensibiliseerd (*de Blieck* en *v. Heelsbergen*).

C. VOGELDIPHTHERIEËN VAN BACTERIËELEN AARD.

De oplossing der vraagstukken betreffende het al of niet bestaan eener „parasitaire vogeldiphtherie en eener „vogel-

pokkendiphtherie" kan thans vrijwel als afgedaan worden beschouwd.

Het bestaan van de eerste wordt algemeen betwist, terwijl de aetiologische beteekenis van het vogelpokkenvirus voor vogeldiphtherie algemeen aanhang vindt.

Echter is het vraagstuk eener „bacterieele vogeldiphtherie" nog niet tot oplossing gebracht. De talrijke, voor een deel nog niet weerlegde conclusies der latere onderzoekers vormen daarvoor het bewijs.

Bovendien hebben enkele der jongere publicaties dit vraagstuk uit een oogpunt van algemeene hygiëne weer actueel gemaakt, omdat de humane diphtheriebacil daarin een rol speelt en stellen de „unicisten", die verband leggen tusschen vogeldiphtherie en humane diphtherie, zich nog steeds tegenover de „dualisten". die dit verband uitschakelen.

Ook het feit, dat in sommige gevallen van vogeldiphtherie het niet gelukte het vogelpokkenvirus aan te toonen, was mede aanleiding, dat o.a. *Bordet* en *Fally* (1909) de oorzaak in een kleine *micrococcus* zochten, welke door hen uit diphtheritische keelprocessen van kippen werd gekweekt.

Bovengenoemde feiten hebben mij geleid een nader onderzoek in te stellen naar het bestaan eener heerschend voorkomende bacterieele kippendiphtherie. Daarbij heb ik mij de oplossing van twee vraagpunten ten doel gesteld, n.l.:

1. *Bestaan er diphtheritische mond- en keelaandoeningen van bacteriëelen aard bij de kip en komen deze processen enzoötisch of epizoötisch voor?*
2. *Bestaat er verband tusschen diphtherie van den mensch en diphtherie van de kip?*

HOOFDSTUK I.

DIPHTHERITISCHE MOND- EN KEEL-AANDOENINGEN VAN BACTERIËELEN AARD BIJ DE KIP.

A. Literatuur.

Als oorzaak van vogeldiphtherie worden in de literatuur de meest uiteenloopende bacteriesoorten genoemd. *Pasteurella's, coccobacillen, diphtherie-bacillen* en *diphtherie-achtige bacillen, coli-achtige staafjes, micrococcen* enz. wisselen elkander af en veroorzaken volgens de beschrijvingen, na kunstmatige infectie bij de kip, — meer of minder ernstige, soms echter in het geheel geen, — verschijnselen van mond-keeldiphtherie.

Voor een duidelijk overzicht heb ik de belangrijkste mededeelingen, groepsgewijze, naar de soort van de bacterie, in chronologische volgorde gerangschikt en daarbij eene eerste plaats toegekend aan die bacteriën, welke na infectieproeven een positieven uitslag gaven.

Gevallen, waarin diphtherie- of diphtherie-achtige bacillen een rol spelen, zijn bijeengebracht in Hoofdstuk II.

Pasteurella's en daarmede overeenkomende bacteriën.

Löffler (1884). Als een voor duiven specifieke diphtherieverwekker is de *„Bacillus diphtheriae columbarum"* door *Löffler* beschreven en geïsoleerd uit de membranen en inwendige organen van zieke en gestorven duiven.

Hij zag dezen bacil als een onbeweeglijk, Gram positief staafje met afgeronde polen, dat in bouillon een flink bezinksel vormde, gelatine niet vervloeide en rijkelijk groeide met witte kleur op vaste voedingsbodems (op aardappel grijsachtig).

Voor duiven, konijnen, musschen en muizen waren deze bacillen pathogeen. Kippen, ratten, caviae en honden waren refractair.

Infectie met cultuur bij *duiven*, na scarificatie van het keelslijmvlies, doch ook submukeus en intraveneus, veroorzaakte echte diphtherie. *Kippen*, op deze wijze geïnfecteerd, kregen slechts eenige m.m. groote, lensvormige witte plekjes op het keelslijmvlies, zonder verdere ziekteverschijnselen.

Löffler beschouwde dezen bacil als de *specifieke duiven-diphtherie-verwekker*, welke met kippendiphtherie niets uitstaande zou hebben.

Deze meening is later door verschillende onderzoekers weerlegd, die aan den bacil geen grootere beteekenis toekenden dan aan de overige Pasteurella's, coccobacillen en verschillende bacteriesoorten, welke als oorzaak van vogeldiphtherie beschreven zijn.

De lensvormige vlekjes, die Löffler als entreactie bij kippen waarnam, verdienen nadere beschouwing. Het lijdt wel geen twijfel, dat zij tot den ingebrachten bacil in geen enkel verband staan, omdat deze epitheelafwijkingen ook herhaaldelijk bij niet-geïnfecteerde kippen voorkomen. De oorzaak dezer slijmvliesdefecten ligt nog in het duister. Door *Panisset* en *Verge* (1925) worden zij als een chronische vorm van vogelpokkendiphtherie beschouwd.

De juistheid dezer theorie is nog niet nader onderzocht en niet in overeenstemming met het feit, dat dergelijke lensvormige vlekjes door mij zijn waargenomen bij jonge — in onbesmette omgeving gefokte — hanen, welke niet met pokkenvirus in contact waren geweest en later ook niet immuun bleken.

Mijns inziens staan zij niet in verband met eenige vogelziekte, doch zijn het eenvoudige beschadigingen van het mondkeelslijmvlies door met het voedsel opgenomen scherpe lichamen. Deze vlakke membraantjes gelijken min of meer op de spruw-laesies der zuigelingen en de mogelijkheid is niet buitengesloten, dat phytoparasieten (endomyces) bij hunne vorming een zekere rol spelen.

De duur van het proces is daarbij uiterst kort, vaak niet langer dan 24—48 uur.

Haushalter (1891) isoleerde een Pasteurella uit kadavers van diphtheritische kippen. Later vond hij dezen bacil eveneens op het keelslijmvlies van volmaakt gezonde kippen.

De bacil was Gram negatief, beweeglijk, groeide goed op agar, gelatine en in bouillon en kwam in vele opzichten overeen met de Pasteurella van de hoendercholera. Vooral het bloed van gestorven kippen wemelde van bacillen, welke zeer virulent voor duiven waren. Deze stierven aan septichaemie. Voor *kip* en *konijn* was deze bacil niet pathogeen.

Wel konden bij *kippen* na scarificatie van het keelslijmvlies kleine membraantjes worden opgewekt.

Loir en *Ducloux* (1894) bestudeerden een moorddadige vogelsterfte in Tunis, waaraan behalve pluimvee ook musschen en ander gevogelte ten gronde ging. Uit membranen en bloed van zieke en gestorven dieren werd een Gram negatief, beweeglijk staafje met afgeronde polen geïsoleerd, dat op gelatine en aardappel geel wit groeide en indifferent aëroob en anaëroob was. Deze bacil was *pathogeen voor alle pluimvee* en na subcutane, intraveneuze en intratracheale infectie traden typische diphtherieverschijnselen op bij *kip* en *duif*. Loir en Ducloux namen twee vormen der ziekte waar, n.l. een acute vorm met septichaemisch verloop na 2—3 dagen en een meer sleepende vorm, in het verloop waarvan diphtheritische processen optraden.

Veranus Moore (1895) isoleerde een Gram negatief, onbeweeglijk staafje met afgeronde polen, dat af en toe kapselvorming vertoonde en in het centrum slecht kleur opnam. Deze bacil was uitsluitend pathogeen voor konijnen en veroorzaakte septichaemie. Eenmaal gelukte het eene *jonge hen* te dooden door intraveneuze injectie van eene groote dosis cultuur, waarbij echter geen spoor van membraanvorming optrad.

Bij aandachtige beschouwing der oorspronkelijke publicaties krijgt men den indruk, dat aan al deze Pasteurella's en Pasteurella-achtigen niet de minste beteekenis als diphtherie-verwekker mag worden gehecht.

Duidelijk herkent men in hen het type van den hoendercholera-bacil, of van de konijnen septichaemie Pasteurella met geringe verschillen in vorm, groei en pathogeniteit. *Hausser* (1909) en *Basset* (1924) toonden aan, dat in diphtheriemembranen van de kip veelvuldig Pasteurella-achtige staafjes voorkomen, welke af en toe pathogene eigenschappen bezitten. Volgens *Basset* geven zij echter nooit aanleiding tot de vorming van diphtheritische processen in de kippenkeel.

Mijns inziens is het optreden van diphtheritische processen in de bovengenoemde gevallen het best te verklaren door aan te nemen, dat pokkendiphtherie in het spel is geweest, welke ziekte onder duif en kip algemeen verbreid is en waarvan men, zonder voorafgaande strenge isolatie, de aanwezigheid nooit mag uitschakelen.

Hoe licht kan de uitslag van infectieproeven, in sterk besmette streken, zelfs onder bepaalde voorzorgsmaatregelen, daardoor niet worden vertroebeld!

Zoo geeft de Tunesische vogeldiphtherie zeer sterk den indruk, dat men met eene menginfectie van hoendercholera en pokkendiphtherie te doen had. Er werden acute gevallen met diarrhoïsche verschijnselen waargenomen en meer sleepende met diphtheritische membranen in de keel. Er werden bij overigens gezonde vogels op *„boutons"* gelijkende epitheel nieuwvormingen op kam en lellen aangetroffen. Loir en Ducloux waren van oordeel, dat zij hieraan geen aetiologische beteekenis mochten toekennen, doch deze „boutons" wijzen mijns inziens op eene pokken-eruptie. Ook de contagiositeit bij deze infectie wijst geheel op pokkendiphtherie.

Achtereenvolgens konden 15 gezonde hanen worden besmet door dezen te plaatsen bij een spontaan ziek dier, dat ter onderzoek werd aangehouden, en tenslotte genas. De 15 versch besmette hanen stierven echter alle onder duidelijke diphtherieverschijnselen. Ook kunstmatig geïnfecteerde kippen bleken sterk contagieus voor gezonde. Na doorgestane ziekte bleef immuniteit over. Over de, in deze sterk besmette omgeving, zoo hoog noodzakelijke voorzorgsmaatregelen bij de keuze der

proefdieren wordt door Loir en Ducloux ternauwernood gerept.

Mijns inziens mag dan ook aan de conclusies van Loir en Ducloux, wat de aetiologische oplossing van het vraagstuk betreft, geen groote beteekenis worden gehecht.

Coccobacillen.

Door drie verschillende onderzoekers werden coccobacillen met onderling kleine verschillen gevonden, doch die hierin met elkaar overeenstemden, dat zij geen diphtherieverwekkers waren.

Piana en *Galli Valerio* (1897—1904) isoleerden uit keel- en oogmembranen, in gevallen van chronische kippendiphtherie, een klein, Gram negatief staafje met afgeronde polen, dat zich af en toe als een coccobacil voordeed, onbeweeglijk was en kon worden reingekweekt uit de aanhechtingsplaats der membranen met het onderliggende weefsel. Het groeide matig op vaste voedingsbodems, vervloeide geen gelatine en maakte den bouillon gelijkmatig troebel; melk werd niet veranderd; indol niet gevormd. Als bijzonderheid wordt vermeld, dat deze bacil op gelatine draden en komma's vormde en op aardappel draden met kolfvormige uiteinden. De typische fijne staafjes groeiden alleen op agar en runderserum.

Zij infecteerden submukeus in de keel bij de kip en in den conjunctivaalzak bij de duif. „De *kip* kreeg vier dagen later een entulcus, bedekt met een dun wit membraantje". Dit proces was eenige dagen later weer verdwenen. Het resultaat bij de *duif* was negatief. Hun bacil, de *„Bacillus diphtherie gallinarum"* had groote overeenkomst met den *„Bacillus diphtheriae columbarum"* van Löffler en met de Pasteurella's van Loir en Ducloux, Veranus Moore e.a.

Guérin (1901). Uit membranen en kadavers van aan diphtherie gestorven kippen isoleerde hij een coccobacil, die in tegenstelling met de echte Pasteurella beweeglijk was en in tegenstelling met de Salmonella's (Hogcholera) niet op aardappel groeide. Het staafje was Gram negatief; vervloeide geen gelatine; vormde geen indol; was facultatief aëroob en

anaëroob en uitsluitend pathogeen voor de *duif*, echter met wisselende virulentie. Hoewel hij door submukeuze infectie in den conjunctivaalzak van de *duif*, deze virulentie kon versterken, gelukte het toch niet den bacil pathogeen voor de *kip* te maken. Opmerkelijk en wijzend in de richting van den *„Bacillus diphtheriae columbarum"* was het membraanvormend vermogen van dezen bacil bij duiven. Herhaaldelijk zag Guérin bij deze vogelsoort, na kunstmatige infectie in den conjunctivaalzak membranen optreden.

Davalos (1904). Tijdens eene pluimveeziekte op Cuba, *„Moquillo"* genaamd en in vele opzichten gelijkende op vogeldiphtherie, isoleerde hij een coccobacil van het type *Guérin*, doch door zijne onbeweeglijkheid meer naar de Pasteurella overhellend. Infectieproeven bij kip en duif verliepen negatief.

De infectieproeven met deze coccobacillen hebben het vraagstuk eener bacteriëele vogeldiphtherie weinig verder gebracht. Geen enkele bleek tot het verwekken van diphtheritische processen bij de kip in staat. Die van *Piana* en *Galli Valerio* was voor duif zoowel als kip onschadelijk, terwijl de bacil van *Guérin* alleen pathogeniteit voor duiven bezat, welke door duivenpassage kon worden verhoogd.

In hunne overige eigenschappen vertoonen zij veel overeenkomst met de reeds genoemde Pasteurella's en kunnen gevoegelijk in deze groep gerangschikt worden.

Dat *Guérin* te dien tijde overtuigd was, dat hij den echten diphtherie-verwekker gevonden had blijkt wel uit het feit, dat hij een anti-serum bereidde en daarvan goede resultaten meende te zien.

Als bijzonderheid vermeldt *Galli Valerio* nog, dat de vogeldiphtheriebacil zeer gevoelig is voor citroensap. Hij zag in Italië zieke kippen, daarmede behandeld, snel genezen.

Coli-achtigen.

In 1895 vond *Ferré* in membranen, zoowel als in de inwendige organen van diphtheritische kippen een staafje, dat de eigenschappen van den coli-bacil bezat. Het was beweeglijk,

Gram negatief, stolde melk en vormde gas in druivensuiker- en melksuikerbouillon. Met dezen bacil kon hij in de keel van duiven en op het oor van een konijn, na scarificatie diphtheritische membranen opwekken. Infectieproeven bijkippen werden niet verricht.

Hausser (1909) vond verschillende bacteriesoorten en infecteerde met bouilloncultures daarvan kippen, duiven, muizen enz. Coccen van verschillende grootte, de Bacillus pyocyaneus en bacillen analoog met die van de hoendercholera en de vlekziekte vormden de meerderheid.

Hausser concludeerde uit de haast habituëele aanwezigheid der beide laatste kiemen in diphtheriemenbranen van de kip dat zij in deze media een gunstigen voedingsbodem voor een saprophytisch bestaan vinden en diphtheritische kippen aldus kunnen bijdragen tot de verspreiding van hoendercholera en vlekziekte.

Ten slotte isoleerde hij een coli-achtig staafje, Gram negatief, beweeglijk, goed groeiend op agar, gelatine niet vervloeiend, bouillon sterk troebelend, dik groeiend op aardappel en melk twijfelachtig stollend.

Deze bacil was uitsluitend pathogeen voor muizen en veroorzaakte na submukeuze infectie en na scarificatie in de keel slechts geringe ziekteverschijnselen bij kip en duif zonder een spoor van membraanvorming.

Door subcutane infectie van muizen en konijnen met eene emulsie van diphtheritisch materiaal uit de mond-keelholte van diphtherische kippen heb ik in 10 verschillende gevallen getracht de aanwezigheid van deze op hoendercholera en vlekziekte gelijkende bacillen vast te stellen. Voor elk dezer gevallen werden 2 muizen en 1 konijn gebezigd. Van de 20 muizen stierven er drie 10 dagen na de infectie onder verschijnselen van cachexie. Een 4e stierf na 14 dagen onder dezelfde verschijnselen. Het bloed en de inwendige organen bleken steriel. De overige 16 muizen bleven gezond. De konijnen vertoonden geen van allen ziekteverschijnselen.

De uitlag mijner infectieproeven was dus niet in overeenstemming met de resultaten van *Hausser*.

Ik heb deze bacillen niet kunnen aantoonen.

Bacillus pyocyaneus.

Dezen bacil hebben *Streit* (1904) en *Hausser* (1909) herhaaldelijk in membranen van de kip waargenomen en daaruit geïsoleerd. *Hausser* toonde hem aan door membraansubstantie, geënt in bouillon eenige dagen bij 37° in de broedstoof te plaatsen. Uit de optredende groene verkleuring der vloeistof blijkt dan weldra zijne aanwezigheid.

Hij infecteerde kippen submukeus in de keel met reinculturen en zag daarna zwelling der infectieplaats en ernstige algemeene ziekteverschijnselen optreden, echter zonder vorming van diphtheritische processen.

Wat de aanwezigheid van dezen bacil in diphtheritische keelmembranen van de kip betreft stemmen mijne uitkomsten overeen met die van Hausser.

Ik heb den bacil meermalen waargenomen en eenmaal voor infectiedoeleinden reingekweekt.

Voor het resultaat dezer infectieproeven wordt verwezen naar sub B van dit hoofdstuk.

„Roupbacillus".

Deze bacil werd in 1903 door *Harrison* en *Streit* uit keelmembranen van diphtheritische kippen geïsoleerd en zou volgens hen daarin betrekkelijk spaarzaam voorkomen.

Met dit Gram negatieve, zeer beweeglijke staafje, dat flink groeide op agar en in bouillon en dat melk den 4en dag stolde, werden kippen in de keel geïnfecteerd, submukeus en na scarificatie. In enkele gevallen zagen deze onderzoekers daarna diphtheriemembranen optreden.

Uit de beschrijving der infectieproeven van Harrison en Streit blijkt, dat deze niet met de noodige voorzorgen zijn geschied.

Strenge selectie bij de keuze der proefdieren had niet plaats. Integendeel, een groot aantal natuurlijk doorgeziekte vogeldiphtherielijders werd voor infectieproeven gebezigd. Ik acht dan ook de waarschijnlijkheid groot dat latente pokkendiphtherie onder hunne proefdieren tot voorbarige conclusies heeft geleid.

„Hühnerdiphtherie bazillus".

Onder dezen naam werd in 1905 door *Müller* een staafje beschreven, dat door vorm en palissadengroepeering aan den diphtheriebacil van den mensch herinnerde. Karakteristiek was de groei op bloedagar, op welken voedingsbodem de koloniën opvielen door de vorming van eene haemolytische zône. Het staafje was Gram positief, onbeweeglijk, groeide slecht in bouillon en op aardappel. Echter vervloeide het gelatine en stolde melk den derden dag, en ook door andere eigenschappen bleek het met den humanen diphtheriebacil geen verwantschap te hebben.

Müller infecteerde kippen en duiven submukeus in de keelholte en zag eenmaal, na zes dagen een membraan optreden bij een *duif*, welke genas.

De povere resultaten bij de duif en de negatieve bij de kip wettigen mijns inziens niet tot de uitspraak dat deze bacil als oorzaak van vogeldiphtherie te beschouwen is.

Hausser deelde mede, dat aan de typische ringvorming van de kolonie op bloedagar slechts eene betrekkelijke waarde toekomt, omdat deze ook voorkomt bij koloniën van verschillende andere staafjes.

Tot mijn spijt heb ik zelf geen infectieproeven met dezen bacil kunnen verrichten. Prof. Müller berichtte mij dat de bacteriestam niet meer in zijn bezit was.

Micrococcus van Bordet en Fally (1909).

Door *Bordet* en *Fally*, die de inzichten van Cornwath e.a. niet deelden, is een *micrococcus* geïsoleerd, welke zij als de

oorzaak van vogeldiphtherie beschouwden. Zij trokken een zijden draad, gedrenkt in membraanemulsie, met behulp van een fijne hechtnaald door de membrana nictitans van een gezonde kip.

De draad werd den volgenden dag verwijderd. Drie tot vier dagen daarna trad zwelling van het ooglid op gevolgd door membraanvorming (oogdiphtherie).

Het groote voordeel van deze methode zou volgens hen gelegen zijn in de geringe verontreiniging der kunstmatig verkregen diphtheritische oogprocessen, in tegenstelling met de steeds sterk verontreinigde mond-keelprocessen.

De gezwollen c.q. diphtherisch ontstoken membrana nictitans werd nu uitgeknipt en fijngewreven met enkele cc. phys. NaCl. opl. Van deze emulsie werden eenige druppels uitgezaaid op den *kinkhoestvoedingsbodem van Bordet* en *Gengou* en gedurende 2 dagen bij 35° in de broedstoof geplaatst. Tusschen enkele koloniën van verontreinigers, groeide een nauwelijks zichtbaar beslag van uiterst fijne micrococcen, welke zich met *Giemsa* goed kleurden. Dat deze micrococcus niet eerder werd gevonden achtten Bordet en Fally verklaarbaar wegens zijn subtielen, nauwelijks zichtbaren groei. Met cultuur werd geïnfecteerd op het gescarificeerde keelslijmvlies bij kippen. Bij enkelen traden diphtheritische membranen op, andere bleven volkomen gezond. Subcutane injectie bij kippen leidde tot volstrekt negatief resultaat. Zij verrichtten contrôleproeven door bij kippen de eene membrana nictitans te infecteeren met een draad gedrenkt in steriele physiol. NaCl. opl., het andere wenkvlies met een draad gedrenkt in membraanemulsie. Regelmatig trad aan het laatste oog diphtherie op. In sub B. van dit hoofdstuk (eigen onderzoek) heb ik de methode van *Bordet* en *Fally* bij eenige kippen, lijdende aan diphtherie nagevolgd.

Bacillus necrophorus.

In de literatuur wordt aangegeven dat de necrose bacil bij vogeldiphtherie voorkomt. Zoo heeft *Ritter* (1895) den bacil

af en toe waargenomen, doch is de meening toegedaan dat hij in de meeste gevallen van vogeldiphtherie geen rol speelt.

Ook *Leth* stelde het voorkomen van necrosebacillen in diphtheriemembranen van de kip vast, doch kwam op grond van nadere onderzoekingen tot de overtuiging dat deze bacil mogelijk in alle min of meer sleepende gevallen van deze ziekte voorkomt en waarschijnlijk secundair daarin beland is. Ook bij diphtheritische oogaandoeningen, zooals deze in het verloop van heerschende vogeldiphtherie veelvuldig voorkomen, is de aanwezigheid van den Bacillus necrophorus geconstateerd.

Mohler en *Morse* (1904) hebben hem waargenomen in een geval van keeldiphtherie bij een kiekendief.

Door *Basset* (1924) is de pathogene werking van den necrose bacil bij kippen aan een nader onderzoek onderworpen. Volgens hem geeft de „Bacil van Schmorl", als secundaire infectiebron, bij bestaande processen aanleiding tot de meest uiteenloopende complicaties, doch heeft hij als aetiologischen factor bij vogeldiphtherie geen beteekenis.

Door injectie van ½ cc. bouilloncultuur in het bovenooglid eener kip zag hij locaal oedeem optreden, gevolgd door eene induratieve zwelling, in het centrum waarvan zich af en toe een weinig ingedikte pus bevond.

Door injectie van 1cc. „cultuur in vivo" werd echter een volumineus absces veroorzaakt in de oculairstreek, gevolgd door snelle afmagering en dood door cachexie.

Met een dergelijke „cultuur in vivo" zag hij de meest verschillende ziektebeelden optreden.

Sommige kippen kregen na submukeuze infectie een arthritis purulenta met ingedikte, gele membranen in den gewrichtskapsel, welke wemelden van necrosebacillen.

Andere kippen vertoonden na deze infectie diphtheritische membranen op de entplaats (conjunctivaalzak).

Door kippenpassage nam de virulentie van den bacil gestadig toe, zoodat tenslotte door enkele druppels cultuur, geinjicieerd in de borstspier, deze eenige dagen later grooten-

deels in eene necrotische massa veranderd was, waarna de dood door septichaemie volgde.

Hoewel dus *Basset* geen aetiologische waarde toekent aan den necrosebacil ten opzichte van kippendiphtherie, kon hij nochtans in enkele gevallen diphtheritische oogaandoeningen met dezen bacil bij de kip opwekken.

Vijf gevallen van chronische mond-keelholte diphtherie bij de kip zijn door mij systematisch op de aanwezigheid van den necrosebacil onderzocht.

Noch microscopisch, noch langs den weg der anaërobe cultuur is het mij gelukt het voorkomen van den bacil in de membranen vast te stellen.

Het microscopisch onderzoek geschiedde:

1e. door het vervaardigen van uitstrijkpreparaten uit de diepere lagen der diphtheritische processen, gekleurd met carbolthionine of methyleenblauw.

2e. door het vervaardigen van reeksen coupes dezer membranen, waarbij in de coupe bijzondere aandacht werd besteed aan de grenszône tusschen het gezonde en necrotische weefsel.

Juist in deze grenszône zullen de necrosebacillen zich voordoen als lange draden, welke in dichte bundels van uit het necrotische in het gezonde weefsel doordringen.

De anaërobe cultuur geschiedde door het diphtheritische materiaal uit de diepere lagen van het ziekteproces, na sterke verdunning, uit te zaaien op bloed-druivensuiker-agar- en serum-agarplaten, welke daarna gedurende 2 dagen, onder sterke luchtverdunning, bij 37° in de broedstoof werden geplaatst. Deze cultuurproeven hebben geen resultaat opgeleverd. De spaarzaam begroeide platen vertoonden geen andere koloniën dan van gewone verontreinigers.

Met een stam van den „Bacillus necrophorus", afkomstig uit een stuk runderlever, waarin talrijke necrotische haarden voorkwamen (necrobacillose der lever), werden door mij verschillende infectieproeven bij kippen verricht, waarvan het resultaat in het eigen onderzoek is neergelegd (sub B.).

B. EIGEN ONDERZOEK.

Doel van dit onderzoek was:

I. *Het reinkweeken van verschillende bacteriesoorten uit diphtheritische mond-keelprocessen van zieke of gestorven kippen. (Cultuurproeven.)* Daarbij werd speciale aandacht gewijd aan de in de literatuur beschreven vormen en methoden.

II. *Het verwekken van diphtherie bij de kip met deze bacteriën en in positieve gevallen het onderzoek op de contagiositeit der kunstmatig geïnfecteerde proefdieren. (Infectieproeven.)*

I. Cultuurproeven.

Gang van het onderzoek.

Het spreekt vanzelf, dat voor het doen van infectieproeven de strengste eischen bij de keuze der proefdieren moeten gelden. De beoordeeling eener reactie wordt daardoor vereenvoudigd en twijfel aan haren oorsprong buitengesloten.

Meerdere onderzoekers hebben verzuimd hiermede voldoende rekening te houden, waardoor de uitkomst hunner entreacties en de daarop gebaseerde conclusies scherpe kritiek hebben uitgelokt.

Kippendiphtherie is bij het pluimvee zeer algemeen verbreid en hare latente aanwezigheid, bij overigens gezonde kippen mag men, zonder voorafgaande strenge quarantaine niet buitensluiten. Als proefdieren moeten dan ook uitsluitend jonge hennen of hanen uit onbesmette omgeving dienen, bij welke is uitgemaakt, dat zij volkomen gezond zijn. De door mij daarvoor gebruikte jonge hanen waren in streng geïsoleerde, diphtherie-vrije omgeving gefokt en ondergebracht in het Instituut voor Parasitaire en Infectie-ziekten.

Deze hanen werden vóór de infectie aan een nauwkeurig onderzoek van het mond-keelslijmvlies onderworpen en daarna, streng van elkander gescheiden, in hokken geplaatst, op een terrein waar in de naaste omgeving geen diphtherie voorkwam. Daarna werd gedurende drie achtereenvolgende weken

na de infectie een dagelijksch onderzoek ingesteld op de vorming van diphtheritische mond-keelprocessen, al dan niet gepaard aan algemeene ziekteverschijnselen.

Bij positieve reactie werd een gezonde haan geplaatst in het hok bij den kunstmatig geïnfecteerde, ter contrôle op eventueel aanwezige contagiositeit.

Van het te onderzoeken materiaal werd aangeteekend:

1e. Herkomst (mond-, keel- of oogproces).

2e. Aard der ziekte (heerschend c.q. sporadisch).

Gevallen waarbij kon worden aangetoond, dat vogelpokkendiphtherie in het spel was, werden van verder bacteriologisch onderzoek uitgeschakeld. Dit geschiedde als volgt:

Een weinig membraansubstantie werd met enkele cc. physiol. NaCl. opl. tot eene emulsie fijngewreven, en hiermede, na oppervlakkige scarificatie een haan geïnfecteerd op de ontvederde dij en in de keel.

48 gevallen werden op deze wijze onderzocht en 20 maal werd de aanwezigheid van pokkenvirus geconstateerd door het optreden van entpokken op de dij binnen 10—12 dagen. Zes maal ging deze dijreactie vergezeld van eene keelreactie. Deze 6 gevallen kenmerkten zich door de hevigheid der algemeene ziekteverschijnselen (sopor, vochtgeruischen in de keel, gewichtsverlies, doffe bevedering), doch bij allen trad genezing in.

Ik heb mij echter rekenschap gegeven van het feit, dat het negatieve resultaat van deze infectieproef de aanwezigheid van het pokkenvirus niet behoeft uit te sluiten.

Van 48 gevallen van kippendiphtherie werd tenslotte bij 28 een volledig bacteriologisch onderzoek verricht op de aanwezigheid van bacteriên in de diphtheritische mond-keelprocessen.

Aangezien het vóóronderzoek op de aanwezigheid van pokkenvirus 1—2 weken duurde werd, om tijd te winnen, als volgt te werk gegaan:

Gelijktijdig met dit vooronderzoek werd het bacteriologisch

onderzoek ingesteld, n.l. door uitzaaien van het diphtheritische materiaal op vaste voedingsbodems.

Meestal verliepen 8—10 dagen voor de verschillende bacteriën waren reingekweekt. Daarna was het meestal wel mogelijk om uit te maken of het vogelpokkenvirus aanwezig was, en werd in positieve gevallen van verder bacteriologisch onderzoek afgezien.

Waren echter 12 dagen na de contrôleproef op vogelpokkenvirus geen entpokken opgetreden, dan werden de verschillende, reingekweekte bacteriestammen verder gedetermineerd aan de hand van de „Atlas und Grundriss der Bakteriologie von K. B. Lehmann und R. O. Neumann". 1920.

In de beschrijvingen door mij gegeven zijn slechts enkele der voornaamste eigenschappen dezer bacteriën gereleveerd.

Techniek.

Diphtheritische membranen uit de kippenkeel zijn voor direct uitzaaien op vaste voedingsbodems weinig geschikt, door hunne sterke verontreiniging met secundaire, als regel onschuldige kiemen.

Als gevolg daarvan treedt meestal zeer dikke groei en overwoekering der platen op met micro-organismen, die in geen enkel verband tot de ziekte staan. Dit geldt in hooge mate voor die membranen, welke zich in het voorste gedeelte van de mond-keelholte bevinden.

Door uitzaaien van materiaal uit de trachea krijgt men meestal betere resultaten, doch ook hier moet vaak tot verdunning worden overgegaan om het isoleeren der verschillende koloniën mogelijk te maken.

Ik bezigde de volgende methode:

De diphtheritische massa's werden met een pincet uit de keel verwijderd, aan de buitenzijde rondom afgeschroeid en met een steriel mes gehalveerd. Van de versche snijvlakte van een der helften werd met een platina ôse een weinig materiaal afgenomen en uitgestreken op het ¼ gedeelte van een voedingsbodem (plaat).

Van uit dit geënte deel werd het materiaal vervolgens met een glazen staafje over de geheele plaat gelijkmatig verdeeld.

Behalve uit de membranen zelf entte ik ook steeds uit de aanhechtingsplaats daarvan met het onderliggende weefsel. Was desondanks de groei te dik, dan werd op de volgende wijze verder verdund:

Uit de verschillende groei-centra werd met een platina naald geënt in eenige cc. steriele bouillon en daarvan enkele druppels gelijkmatig verdeeld en met een rechthoekig omgebogen glasstaaf uitgestreken op een versche plaat.

Op deze wijze is het mij steeds gelukt om binnen enkele dagen de verschillend groeiende koloniën te isoleeren. Als voedingsbodem werd gebruik gemaakt van versch gegoten agarplaten.

Voor het kweeken van diphtherie- en diphtherie-achtige bacillen werden Löffler serum- en bloedagarplaten gebruikt. (Zie Hoofdstuk II.)

Na het isoleeren en determineeren der verschillende bacteriesoorten werden zij overgeënt in bouillon en na 24 uur groei in de broedstoof bij 37 ° voor infectieproeven gebezigd.

Met deze bacterieculturen werden tenslotte 2 of meer hanen in de mond-keelholte geïnfecteerd, n.l.:

a. „door submukeuze injectie van ½ cc. cultuur links en rechts van de gehemeltespleet";

b. „door inwrijven van het vooraf gescarificeerde slijmvlies met een watje gedrenkt in de cultuurvloeistof".

Bovendien werden af en toe „subcutane" en „intraveneuze" injecties toegepast.

Aanvankelijk werd elk geval microscopisch onderzocht op de aanwezigheid van bacteriën in de diphtheritische processen. De uitstrijkpreparaten werden gekleurd met Löffler's methyleenblauw en volgens Neisser (diphtherie- en diphtherie-achtigen). Het beeld dezer preparaten gaf geen enkele aanwijzing in welke richting het onderzoek moest worden geleid en ging als regel parallel met het macroscopisch aspect der plaatcultu-

ren, bij welke slechts zelden groei eener speciale koloniesoort op den voorgrond trad. Om deze redenen werd later van het maken van deze uitstrijkpreparaten afgezien.

Het kweeken geschiedde aëroob en in gevallen van chronische, sporadische diphtherie, tevens anaëroob, met het oog op de aanwezigheid van den necrosebacil en andere anaërobe bacteriën, zooals reeds hiervoor werd aangegeven.

Ter contrôle op anaërobengroei werden de verschillende koloniesoorten van deze plaatculturen overgeënt op schuingestolde agar en serumagar. Zonder uitzondering groeiden zij goed onder toetreding van lucht, zoodat ik het voorkomen van obligaat anaërobe bacteriën in diphtheriemembranen van de kip niet heb geconstateerd, en in twijfel trek of dergelijke bacteriën in eene hoeveelheid van beteekenis daarin voorkomen. van lucht, zoodat ik het voorkomen van obligaat anaërobe bacteriën in diphtheriemembranen van de kip niet heb geconstateerd, en in twijfel trek of dergelijke bacteriën in eene hoeveelheid van beteekenis daarin voorkomen.

Voor het anaëroob kweeken van reinculturen van den Bacillus necrophorus maakte ik schudculturen van hooggestolde serumagar (1 : 2), steekculturen van serumagar onder afdekking van het steekkanaal en entte ik in Martinsche bouillon en serumbouillon (de laatste twee anaëroob).

Tenslotte werden uit kippen membranen reingekweekt en voor infectieproeven gebezigd:

I. *Een Pasteurella-achtige* (driemaal) overeenkomende met die beschreven door Haushalter, Loir en Ducloux en met den coccobacil van Guérin. Het staafje bezat echter geen pathogeniteit voor kleine proefdieren.

II. *Bacillus pyocyaneus* (tweemaal). Hoewel slechts tweemaal reingekweekt heeft de Bacillus pyocyaneus zeer vaak zijne aanwezigheid verraden door groenkleuring der voedingsbodems en mag mijns inziens als een habitueele bewoner der diphtheriemembranen worden beschouwd.

III. *Coli-achtige* (éénmaal).

IV. *Micrococcus A, B* en *C* (onderling verschillend).

V. *Micrococcus pyogenes albus* en *aureus* (in talrijke gevallen.

VI. *Bacillus subtilis.*

VII. *Bacillus mycoides (Flügge).*

VIII. *Bacillus megatherium (de Bary).*

XI. *Bacterium vulgare (Proteus vulgaris Hausser).*

De *„Bacillus necrophorus"* werd geïsoleerd uit een runderlever en met het onderzoek op de aanwezigheid van den *Micrococcus van Bordet en Fally* in kippenmembranen deze reeks van infectieproeven besloten.

Streptococcen zijn door mij noch microscopisch, noch cultureel waargenomen. Evenmin een bacil overeenkomende met den *Bacillus diphtheriae columbarum* van *Löffler*. Een mij als Löfflersche duivendiphtheriebacil door „Krall's Institut" te Weenen toegezonden bacteriestam vertoonde al de eigenschappen van een coli-bacil.

Infectieproeven bij kippen met dezen bacil verliepen negatief.

II. Infectieproeven.

Deze infectieproeven geschiedden dus uitsluitend in de mond-keelholte en wel: *a.* submukeus links en rechts van de gehemeltespleet, en *b.* na scarificatie van het mond-keelslijmvlies. Voorzoover hiervan werd afgeweken zal dit bij de proeven worden vermeld.

1. *Pasteurella-achtigen.*

Herkomst: a. Keelmembraan eener gestorven kip, 5. 1. '25. *b.* Tongmembraan van een gestorven haan, 20. 1. '25. *c.* Kaakproces bij een ernstig zieke kip, 2. 3. '25.

Aard der ziekte: Heerschend in alle drie gevallen.

Eigenschappen van den bacil: Kort staafje met afgeronde polen, slecht kleur opnemend in het centrum, Gram negatief, onbeweeglijk, op agar groeiend als glanzend witte belegsels, gelatine niet vervloeiend, melk onveranderd latende, geen indol

vormend, geen gasvorming, in bouillon gelijkmatige troebeling, niet pathogeen voor duif, konijn en muis.

Geïnfecteerd: 10. 3. '26. *K. 738* submukeus: Er treedt een lichte zwelling op, gepaard aan geelgroene verkleuring van het slijmvlies op de injectieplaats, welke drie dagen later is verdwenen. Geen membraanvorming, geen stoornis in den gezondheidstoestand.

Geïnfecteerd: 10. 3. '26. *K. 739* na scarificatie. — Geen reactie.

2. *Bacillus pyocyaneus.*

Herkomst: a. stolsel in den larynx van een ernstig zieken haan. 7.3.'25. *b.* Tongmembraan eener gestorven kip. 20.3.'25.

Aard der ziekte: In beide gevallen heerschend.

Eigenschappen van den bacil: Klein slank staafje, in groepjes bijeen; sterk beweeglijk, Gram negatief, op agar grauwwitte belegsels, waaronder de voedingsbodem groene kleur vertoont, gelatine langzaam vervloeid, in bouillon gelijkmatige troebeling onder langzame, groene verkleuring en verder alle overige eigenschappen van dezen bacil bezittend.

Geïnfecteerd: 25. 2. '26. *K. 693* submukeus.

Na 24 uur hevige zwelling en witte verkleuring op de plaats van infectie. Verhoogde vochtafscheiding in neus en keel, vochtgeruischen bij de ademhaling. Na 48 uur een vlak wit membraantje van 1 cm.^{2} grootte links en rechts van de gehemeltespleet. Algemeene ziekteverschijnselen, zich uitend in gestoorde eetlust, depressie, doffe bevedering enz.

De twee volgende dagen blijft de toestand stationnair.

Den vijfden dag nemen de membranen een bruingroene kleur aan, den zesden dag zijn ze verdwenen en is de algemeene gezondheidstoestand normaal.

Geïnfecteerd: 26. 2. '26. *K. 694* na scarificatie. — Geen reactie.

De positieve reactie bij *K. 693* is aanleiding tot het nemen van een *contagiositeitsproef* en tot het verrichten van *dierpassage.*

Contagiositeitsproef. Den 9. 3. '26 wordt *K. 732* submukeus geïnfecteerd met den Bacillus pyocyaneus en vertoont 48 uur later dezelfde verschijnselen als *K. 693* (zwelling en membranen op de entplaats).

Bij dezen haan wordt in de kooi geplaatst *K. 733*, welke geen enkele kunstbewerking ondergaat.

Na 7 dagen is het keelslijmvlies van *K 732* wederom normaal en de haan volkomen gezond. Gedurende 3 weken wordt *K. 733* dagelijks gecontroleerd, doch vertoont geen enkel ziekteverschijnsel.

Dierpassage. Den 12. 3. '26 wordt submukeus geïnfecteerd *K. 745* met membraanemulsie van *K. 732*. Geen reactie.

Tenslotte werd nagegaan of de pathogene werking van den pyocyaneus-bacil berust op toxinevorming.

Eene 8 dagen oude, goed gegroeide bouilloncultuur wordt daartoe gefiltreerd door een Chamberland kaars F. 1.

De steriliteit van het filtraat wordt gecontroleerd door daarmede te enten op schuin-agar, waarbij geen groei blijkt op te treden. Met 1 cc. filtraat wordt 17. 4. '26 submukeus geïnfecteerd *K. 778* en *K. 780*.

Er treedt niet de minste reactie op.

Mijne uitkomsten stemmen dus overeen met die van *Hausser*. (Zie pag. 24.)

Ernstige locale en algemeene ziekteverschijnselen traden na submukeuze infectie met dezen bacil ook bij mijne proefdieren op. *Hausser* nam echter geen membraanvorming waar, terwijl ik deze wel te zien kreeg, zij het ook kortstondig en 24 uur na infectie optredend.

Virulentie-versterking en contagiositeitsproeven verliepen negatief.

De aard van het kunstmatig teweeggebrachte ziekteproces was geheel verschillend van heerschende vogeldiphtherie.

Ik acht de mogelijkheid eener heerschende vogeldiphtherie,

veroorzaakt door den Bacillus pyocyaneus, dan ook uitgesloten, terwijl ik — gezien het feit, dat slechts na submukeuze infectie membraanvorming in de keel en algemeene ziekteverschijnselen optreden — een sporadische vogeldiphtherie door dezen bacil, niet mogelijk acht.

3. *Coli-achtige* (overeenkomend met Bact. coli commune Escherich).

Herkomst: Obtureerend stolsel eener zieke kip 23. 3. '25.

Aard der ziekte: Heerschend.

Eigenschappen van den bacil: Kort, vrij beweeglijk staafje, Gram negatief; op agar dikke grauwwitte, doorschijnende belegsels; gelatine niet vervloeid; in bouillon troebeling en slijmig bezinksel; melk gecoaguleerd na 3 dagen; indolvorming positief, glucose en lactose vergist.

Geïnfecteerd: 25. 2. '26. *K. 695* submukeus. — Geen reactie.

Geïnfecteerd: 25. 2. '26. *K. 696* na scarificatie. — Geen reactie.

4. *Micrococcus-soorten.*

Micrococcus A. Herkomst: Diphtherisch kaakproces eener gestorven kip 16. 5. '25.

Aard der ziekte: Heerschend.

Eigenschappen: Gram negatieve fijne coccus; op agar spaarzame groei van speldeknopgroote, melkwitte vlakke koloniën. Gelatine: geen vervloeiïng, flauwe nevelachtige groei langs het steekkanaal.

Geïnfecteerd: 10. 3. '26. *K. 734* submukeus. — Geen reactie.

Geïnfecteerd: 28. 5. '25. *K. 241* na scarificatie. — Na 24 uur 2 smalle, uiterst fijne, streepvormige membraantjes op de scarificatiewonden. 24 uur later zijn deze verdwenen.

Geïnfecteerd: 2. 6. '25. *K. 246* na scarificatie. — Geen reactie.

Micrococcus B. Herkomst: Diphtherisch kaakproces bij een overigens gezonden haan. 20. 5. '25.

Aard der ziekte: sporadisch, zeer hardnekkig proces.

Eigenschappen: Middelgroote, Gram negatieve coccus, als regel in duplo-vorm; op agar grauwwitte, dikke belegsels, gelatine niet vervloeid; flinke groei langs het steekkanaal.

Geïnfecteerd: 11. 3. '26. *K. 742* submukeus. — Geen reactie.

Geïnfecteerd: 26. 5. '25. *K. 242* na scarificatie. — Na 24 uur 2 smalle, streepvormige membraantjes op de scarificatiewonden. Den 4den dag zijn er 2 lensvormige vlekjes bij gekomen, welke den 6den dag weer verdwijnen. In deze membraantjes kon de *Micrococcus B. niet* worden aangetoond. De oorspronkelijke streepvormige membraantjes zijn den 7den dag verdwenen. Gezondheid niet gestoord.

Geïnfecteerd: 30. 5. '25. *K. 248* na scarificatie. — Geen reactie.

Dierpassage: Geïnfecteerd: 30. 5. '25. *K. 250* submukeus met membraan-emulsie van *K. 242.* — Geen reactie.

Micrococcus C. Herkomst: Keelmembraan eener zieke kip, 22. 5. '26.

Aard der ziekte: Heerschend.

Eigenschappen: Gram positieve, kleine, verspreid liggende coccus; op agar nevelig beslag van speldepuntgroote, heldere koloniën; gelatine niet vervloeid; na 48 uur schijfvormige oppervlakte groei in de steekcultuur.

Geïnfecteerd: 11. 3. '26. *K. 743* submukeus. — Geen reactie.

Geïnfecteerd: 26. 5. '25. *K. 244* en *K. 245* na scarificatie: Na 24 uur vertoonen beiden fijne, streepvormige membraantjes op de scarificatiewonden. Na 24 uur zijn deze verdwenen.

Geïnfecteerd: 30. 5. '25. *K. 247* na scarificatie. — Geen reactie.

5. *Micrococcus pyogenes albus* en *aureus.* (Rosenbach).

Herkomst: Algemeen voorkomend in kippenmembranen.

Eigenschappen: Gram positieve staphylococcus. Op agar

ronde, witte en oranje koloniën met verheven centrum en vlakke randzône.

Gelatinesteek: oppervlakte vervloeiïng, na 48 uur intredend.

Geïnfecteerd: 10. 3. '26. *K. 731* submukeus. — Geen reactie.

Geïnfecteerd: 26. 5. '25. *K. 239* na scarificatie. — Geen reactie.

Geïnfecteerd: 26. 5. '25. *K. 240* na scarificatie. — Na 24 uur 2 uiterst fijne, streepvormige membraantjes, welke 24 uur later zijn verdwenen.

6. *Bacillus subtilis.* (Ehrenberg)

Herkomst: vrijwel algemeen in alle onderzochte gevallen.

Eigenschappen: Gram positieve, flinke bacil met afgeronde polen en trage eigenbeweging („wackeln"). Op agar lichtbruine, tot grauwe, rimpelige huidjes. Gelatinesteek: Na 48 uur totale vervloeiïng onder vorming van een oppervlaktevlies.

Geïnfecteerd: 9. 3. '26. *K. 728* submukeus. — Geen reactie.

Geïnfecteerd: 26. 5. '25. *K. 236, K. 237, K. 238* na scarificatie. — *K. 237* en *K. 238* geen reactie. *K. 236* na 24 uur 2 streepvormige membraantjes, welke 24 uur later zijn verdwenen.

7. *Bacillus mycoides.* (Flügge)

Herkomst: Tongdiphtherie bij een ernstig zieken haan. 10. 5. '25.

Aard der ziekte: Sporadisch, zeer hardnekkig proces.

Eigenschappen: Gram positief, kort, gedrongen staafje met middenstandige spore, onbeweeglijk.

Op agar: grijsachtige, doorzichtige koloniën met wortelvormige uitloopers, adhaerent aan den voedingsbodem.

Gelatinesteek: Vorming van een kegel met horizontale uitloopers. Na 24 uur beginnende vervloeiïng.

Geïnfecteerd: 11. 3. '26. *K. 740* submukeus. — Geen reactie.

Geïnfecteerd: 11. 3. '26. *K. 230, K. 231, K. 243* na scarificatie. — *K. 230* en *231* geen reactie. *K. 243* na 24 uur een grauwgeel smal membraantje op de linker scarificatiewond (½ bij 4 mm.). 24 uur later is daarvan geen spoor meer te zien.

8. *Bacillus Megatherium.* (De Bary)

Herkomst: vrijwel algemeen voorkomend.

Eigenschappen: Gram positief, plomp, vaak zwak gebogen staafje, onbeweeglijk. De middenstandige spore ligt een weinig naar een der polen verschoven.

Op agar: grauwe, dikke, slijmige belegsels.

Gelatinesteek: Na 24 uur vormt zich een langzaam naar beneden voortschrijdende „Schlauch" (vervloeiïng).

Geïnfecteerd: 11. 3. '26. *K. 741* submukeus. — Geen reactie.

Geïnfecteerd: 26. 5. '25. *K. 234* en *K. 235* na scarificatie: *K. 234* vertoont na 24 uur 2 streepvormige, zeer fijne membraantjes, welke 24 uur later zijn verdwenen. *K. 235* vertoont na 48 uur een ovaal entulcus (3—8 mm.), dat 8 dagen aanhoudt. Gezondheidstoestand niet gestoord. 3 dagen na de infectie is de Bacillus megatherium daarin niet meer terug te vinden.

Dierpassage. Met eene emulsie van materiaal dezer ulcus *(K. 235)* wordt 30. 5. '25 submukeus geïnfecteerd *K. 246.* Geen reactie.

9. *Bacterium vulgare.* (Proteus vulgaris Hausser).

Herkomst: Kaakmembraan eener zieke kip, 2. 3. '26.

Aard der ziekte: Sporadisch, zeer hardnekkig proces.

Eigenschappen: Gram negatief staafje, zeer beweeglijk.

Op agar: grauwe, vochtige belegsels.

Gelatinesteek: Na 24 uur snel voortschrijdende vervloeiïng onder sterke troebeling.

Geïnfecteerd: 10. 3. '26. *K. 731* submukeus. — Geen reactie.

Geïnfecteerd: 10. 3. '26. *K. 730* na scarificatie. — Geen reactie.

Intraveneuze en subcutane infectieproeven met de beschreven bacillen verliepen negatief.

Bacillus necrophorus. (Schmorl). Daar het mij niet gelukt was dezen bacil uit vogelmembranen te isoleeren maakte ik gebruik van een stam, welke afkomstig was uit een stuk van een runderlever, waarin de voor *Multipele bacillaire levernecrose* karakteristieke haarden voorkwamen. In deze haarden werd de Bacillus necrophorus nagenoeg in reincultuur gevonden.

Met 2 cc. eener emulsie van dit levermateriaal werden den 28. 6. '26 drie konijnen geïnfecteerd, n.l.:

Konijn 519 subcutaan in de bovenlip.

Konijn 520 subcutaan in de buikstreek.

Konijn 526 intramusculair in de linker dijspier.

Konijn 520 was 5 dagen later gesuccombeerd en vertoonde bij de sectie een dik fibrineus beslag op het peritoneum en een viertal omschreven necrotische haarden in de lever. Op de injectieplaats waren huid- en subcutis veranderd in een spekachtige necrotische massa, waarin hier en daar kleine holten voorkwamen met lichtgele, vloeibare pus gevuld. In de necrotische leverhaarden werd microscopisch de aanwezigheid van den necrosebacil vastgesteld.

Konijn 526 stierf 5 dagen na de infectie.

Bij de sectie bleek de geheele linker dijspiergroep in eene geelachtige, kazige massa te zijn veranderd, welke wemelde van necrosebacillen.

De inwendige organen vertoonden geen afwijkingen.

Konijn 519 kreeg 5 dagen na de infectie eene omschreven harde zwelling aan de bovenlip, welke zich den 10den dag

over de geheele linker kophelft had uitgebreid. Het dier werd dienzelfden dag gedood en onder steriele voorzorgen een stukje necrotisch weefsel uit de bovenlip verwijderd en geënt in serumbouillon.

Een ander stukje werd met physiol. NaCl. opl. tot eene emulsie fijngewreven en van deze emulsie werden onder sterke verdunning schudculturen in serumagar aangelegd. Daarnaast werden steekculturen in serumagar aangelegd, bij welke het steekkanaal met tot 56 ° afgekoelde vloeibare agar werd afgedekt.

De schud- en steekculturen vertoonden na 2 dagen duidelijken groei. Het bovenste gedeelte dezer voedingsbodems bevatte geen koloniën, wel enkele gasblaasjes.

De koloniën der schudculturen waren 2—3 mm. groot en hadden een min of meer viltachtig aspect.

In de steekculturen ontwikkelde zich flinke groei langs het steekkanaal van vlokachtige koloniën, in grootte varieerend van 1—3 mm.

De serum-bouillon culturen van het necrotische lipweefsel werden anaëroob gekweekt in het luchtledige. Na 3 dagen bevond zich een draderig bezinksel op den bodem, terwijl de vloeistof helder was gebleven.

Serum-bouillon culturen, aangelegd uit de schud- en steekculturen, gaven dezelfde groeiwijze te zien. In uitstrijkpreparaten van deze serum-bouillon culturen, gekleurd met methyleenblauw, vertoonde de bacil lange draadvormen met duidelijke z.g. „Lücken". In de schud- en steekculturen was hij korter en waren draadvormen in de minderheid.

De bacil was Gram negatief, vormde indol en de culturen verspreidden een eigenaardigen kaasachtigen reuk. Overgeënt in melk, Martinsche bouillon, en leverbouillon, bleek hij anaëroob goed te groeien. De identiteit van den bacil werd tenslotte nader bevestigd door infectieproeven met konijnen, die typische necrotische processen kregen. In deze processen kon de Bacillus necrophorus worden teruggevonden.

Met bovengenoemde waarborgen voor de reinheid van den

bacteriestam werd overgegaan tot infectie van *kippen*. Voor deze infectie werden goed gegroeide serum-bouillon culturen gebezigd, in welke de bacil door omschudden gelijkmatig was verdeeld.

15. 7. '26. *K. (haan) 875* submukeus geïnfecteerd in de keel, ½ cc. cultuur. Gedurende 8 dagen geen reactie.

22. 7. '26 wordt ½ cc. cultuur submukeus in den linker conjunctivaalzak geïnjicieerd. Deze haan vertoonde geen enkele reactie en was een maand later nog volkomen gezond.

K. 876[1], *K. 876*[2] en *K. 917* werden tegelijkertijd en op dezelfde wijze geïnfecteerd. *K. 876*[1] en *K. 917* vertoonden geen enkele reactie. *K. 876*[2] vertoonde gedurende drie dagen na de infectie lichte algemeene ziekteverschijnselen, bleeke kam en lellen, gestoorde eetlust en in elkaar gedoken houding.

Daarna ging de toestand weer geleidelijk vooruit, doch de volkomen gezondheidstoestand werd niet meer bereikt. Het dier bewoog zich traag, verminderde in lichaamsgewicht, kam en lellen werden geel van kleur. Den 10. 8. '26 werd het afgemaakt. Bij de sectie werden geen necrotische orgaanveranderingen gevonden. De gewrichten waren normaal.

Den 16. 7. '26 werd *K. 944* subcutaan geïnfecteerd (½ cc. cultuur) op den ontvederden borstwand. Er ontwikkelde zich een erwtgroote harde zwelling.

Den 12den dag werd het dier gedood. De zwelling werd gevormd door eene locale necrose van de borstspier, welke zich ter grootte van een knikker daarin uitstrekte en waarin de bacil werd teruggevonden.

Orgaanafwijkingen kwamen niet voor. Tijdens het leven vertoonde het dier geen ziekteverschijnselen.

Op denzelfden datum werd *K. 945* intramusculair geïnfecteerd met 2½ cc. cultuur in de rechter borstspier. Den 4den dag ontwikkelde zich ter plaatse een kastanje groote zwelling, welke zich geleidelijk uitbreidde. Het dier was overigens gezond.

Den 10den dag werd het gedood. Bij de sectie bleek de geheele rechter borstspier in een gele, kaasachtige, droge massa te zijn veranderd, welke wemelde van necrose bacillen. Orgaanafwijkingen werden niet gevonden.

Uit necrotisch materiaal van deze kip werd op de boven aangegeven wijze een reincultuur van necrosebacillen gewonnen, waarmede 28. 7. '26 werden geïnfecteerd de hanen *K. 958* en *K. 959* submukeus in de keel (1 cc.) en tegelijkertijd in den linker conjunctivaalzak (½ cc.).

Geen van beiden vertoonde eenige reactie.

Dezelfde cultuur, subcutaan gebracht in de bovenlip van konijn 535, veroorzaakte 5 dagen later plaatselijke necrose.

De resultaten mijner infectieproeven stemmen gedeeltelijk overeen met die van *Basset*. Echter is het mij niet gelukt om de diphtheritische oogprocessen op te wekken, zooals Basset deze verkreeg na herhaalde passage van den necrose-bacil door kippen (cultuur in vivo). De bacil door mij gekweekt uit de necrotische borstspier van een geïnfecteerden haan, bleek daartoe nog niet in staat.

Met *Basset* ben ik van meening, dat de necrose-bacil primair niet tot het verwekken van diphtheritische processen in staat is, doch secundair op wonden en in diphtheritische membranen aanleiding kan zijn tot het chronisch worden dezer processen. Het is dan ook niet buitengesloten, dat in de chronische, hardnekkige gevallen van kippendiphtherie, waarbij vaak elke medicamenteuze behandeling faalt, de Bacillus necrophorus een rol speelt.

In tegenstelling met *Basset*, — die den necrose-bacil herhaaldelijk in diphtheritische mond-keel en oogprocessen bij de kip heeft waargenomen — heb ik hem daarin geen enkele maal gevonden. Het feit, dat ik den bacil, in coupes van chronische, diphtheritische processen, geen enkele maal op de praedilectieplaats (overgang van gezond en necrotisch weefsel) heb aangetroffen, versterkt mij in mijne meening, dat de bacil — zoo hij al in de membranen wordt gevonden — geen

aetiologische rol in het ziekteproces speelt, doch zich daar secundair bevindt. Uit mijne infectieproeven blijkt, dat onder bepaalde, gunstige omstandigheden o.a. door intramusculaire infectie (anaëroob) de necrose-bacil bij de kip locale necrotische processen kan veroorzaken. Een specifiek ziektebeeld zooals de Schmorl'sche ziekte bij het konijn, is echter bij de kip niet bekend.

Micrococcus van Bordet en Fally. Zes verschillende gevallen van heerschende kippendiphtherie werden onderzocht volgens de methode van *Bordet* en *Fally*.

In 4 dezer gevallen was uitgebreide mond-keelholte diphtherie aanwezig. In twee gevallen kwamen naast keelmembranen, pokken voor op kam en lellen. In één van deze twee gevallen bestond bovendien diphtherie van het rechter oog.

De infectie-methode van Bordet en Fally is eenvoudig in hare toepassing, doch mij bleek de noodzakelijkheid om de beide uiteinden van den draad, nadat deze door de membrana nictitans is getrokken, dicht bij den oogbol van een knoopje te voorzien.

Indien dit wordt nagelaten weten de proefdieren den draad in den kortst mogelijken tijd met hun pooten te verwijderen.

De voor infectie gebezigde draadjes bestonden uit 5 cm. lange stukjes steriele hechtzijde, welke eenige uren in eene emulsie van membraansubstantie waren ondergedompeld geweest.

Voor het doorsteken van de membrana nictitans werd een fijne gebogen hechtnaald gebruikt. Alleen het linker oog werd geïnfecteerd. Terstond na de kunstbewerking traden hevige tranenvloed en lichtschuwheid op, welke irritatieverschijnselen echter na 6—10 uren waren verdwenen.

Na 2 × 24 uur werd het draadje verwijderd en dagelijks nagegaan of zich veranderingen aan het geïnfecteerde oog openbaarden.

Geval 1 (mond-keelholte diphtherie) 18. 5. '26.
Geïnfecteerd de hanen *K. 858* en *K. 859*.

K. 858 vertoont geen enkele reactie. *K. 859* vertoont gedurende 3 dagen eene lichte mucopurulente ooguitvloeiïng, welke den 4en dag ophoudt.

Op de membrana nictitans bevindt zich eene speldeknopgroote, witte zwelling, welke eenige dagen achtereen dezelfde grootte behoudt. Den 12den dag wordt de haan gedood en de membrana nictitans losgeknipt en na afspoelen in steriele physiol. NaCl. opl. met een weinig dezer vloeistof tot eene emulsie fijngewreven. Eenige druppels dezer emulsie worden uitgezaaid op den *kinkhoestvoedingsbodem van Bordet en Gengou.*

Na een verblijf van 3 × 24 uur in de broedstoof bij 37 ° C. vertoonden de 3 geënte platen geen anderen groei dan van enkele coccen en verontreinigers. Het door Bordet en Fally waargenomen, nauwelijks zichtbare beslag van den uiterst fijnen, met *Giemsa* zich goed kleurenden micrococcus, kwam daarop niet voor.

Geval 2 (mond-keelholte-diphtherie, pokken op kam en lellen). 18. 6. '26.

De geïnfecteerde hanen *K. 914* en *K. 915* vertoonen na de infectie geen reactie.

Geval 3 (mond-keelholte-diphtherie) 23. 6. '26.

Van de geïnfecteerde hanen *K. 921* en *K. 922* vertoont *K. 922* gedurende 4 dagen eene duidelijke mucopurulente ooguitvloeiïng gepaard aan haemorrhagische injectie van de conjunctiva (l. oog). Locale zwelling van de membrana nictitans is niet aanwezig. Den 5en dag is de oogsecretie belangrijk verminderd. Den 6en dag wordt het dier gedood en de geinfecteerde membrana nictitans op de aangegeven wijze op den kinkhoestvoedingsbodem uitgezaaid. Het resultaat was negatief. — *K. 921* vertoonde geen spoor van reactie.

Geval 4 (mond-keelholte-diphtherie, pokken op kam en lellen, diphtherie van het rechter oog).

K. 933 geïnfecteerd met oogmateriaal vertoont geen enkele reactie.

K. 936 geïnfecteerd met keelmateriaal vertoont eveneens geen spoor van reactie.

Geval 5 (mond-keelholte-diphtherie) 8. 7. '25.

K. 938 en *K. 939* vertoonen geen van beide eene reactie.

Geval 6 (mond-keelholte-diphtherie) 21. 7. '25.

K. 942 vertoont geen reactie.

Bij *K. 943* vormt zich op de infectieplaats eene 3 mm. groote, omschreven, vlakke zwelling van witte kleur. Deze zwelling blijft gedurende 10 dagen constant in vorm en grootte, zonder dat zich verdere complicaties aan het oog voordoen. Den 11en dag wordt de haan gedood en materiaal van den geïnfecteerden membrana nictitans geënt op den kinkhoestvoedingsbodem.

Ook hier is het resultaat negatief.

Terwijl *Bordet* en *Fally* er dus in geslaagd zijn om een fijnen micrococcus uit de diphtheritische keelprocessen van de kip te isoleeren en daarmede membranen te verwekken bij proefkippen, is mij in 6 verschillende gevallen noch het een noch het ander gelukt.

De geringe, locale reacties, welke ik op het wenkvlies van 3 mijner proefdieren verkreeg en waaruit geen micrococcus, overeenstemmend met die van bovengemelde onderzoekers kon worden geïsoleerd, heb ik beschouwd als irritatieverschijnselen tengevolge der infectiemodus.

Het voornemen om zelf infectieproeven te verrichten met dezen micrococcus moest ik tenslotte prijsgeven, toen Prof. Bordet mij welwillend meedeelde, dat de bacterie momenteel niet meer in zijn bezit en bovendien het onderzoek nog niet was geëindigd.

C. BESCHOUWINGEN.

Onder verwijzing naar de hiervoor beschreven infectieproeven is het volgende samen te vatten.

Van 33 hanen, welke met de in sub B. genoemde bacteriesoorten werden geïnfecteerd, reageerden er 2 positief (Bacillus pyocyaneus) en 2 twijfelachtig (Bacillus megatherium en Micrococcus B). Alle overigen reageerden negatief.

Ik gaf de beoordeeling positief, indien het optreden van entmembranen vergezeld ging van algemeene ziekteverschijnselen.

Twijfelachtig noemde ik die reacties, welke 3—4 dagen na de infectie verdwenen waren en waarbij geen ziekteverschijnselen optraden.

De streepvormige entmembraantjes, welke af en toe 24 uur na infectie (vooral na scarificatie) optraden, heb ik als negatief beschouwd.

Deze membraantjes waren van zeer korten duur (24—48 uur) en mijns inziens te beschouwen als verkleurde granulaties van het geërodeerde keelslijmvlies.

De twijfelachtige reacties met den „Micrococcus B" en met den „Bacillus megatherium" konden na infectie van andere proefdieren niet wederom worden veroorzaakt.

Ook door dierpassage (versterking van het virus) werd geen hernieuwde reactie verkregen.

In deze ziekteprocessen kon de oorspronkelijke bacterie niet worden teruggevonden.

Door deze feiten meen ik de aetiologische beteekenis van den „Micrococcus B" en van den „Bacillus megatherium" als diphtherieverwekker bij de kip te mogen buitensluiten.

Geheel anders verliep de reactie na infectie met den „Bacillus pyocyaneus". Reeds na 24 uur traden vrij heftige algemeene en locale verschijnselen op en vormde zich een klein diphtherisch membraan op de plaats van infectie.

Acht dagen later was de normale toestand weergekeerd. Contagiositeits- en dierpassageproef verliepen negatief.

Ter vergelijking met deze pyocyaneus-reacties werden 12. 3. '26 twee hanen *K. 744* en *K. 747* submukeus in de keel geïnfecteerd met eene emulsie van gedroogd, virulent pokkenvirus, afkomstig van een aan vogelpokken gestorven kip.

26. 3. '26, dus 14 dagen na de infectie, werden beide dieren ernstig ziek en vertoonden pleksgewijze membraanvorming in mond- en keelholte. *K. 744* vertoonde den 20sten dag hoofdzakelijk tongdiphtherie, waarbij tongranden en tongbasis geheel met diphtheritische membranen waren bedekt. Bij *K. 747* vormde zich de 4de week een hardnekkig diphtheritisch proces aan den linker onderkaakstak. Beide kippen genazen tenslotte. Den 30. 3. '26 werd bij *K. 744* in het hok geplaatst de gezonde haan *K. 750*. Den 12. 4. '26 vertoonde dit dier duidelijke ziekteverschijnselen (gestoorde eetlust, vochtgeruischen, doffe bevedering, gewichtsverlies) en diphtheritische membranen in de keel en op de tongbasis.

Veertien dagen later was ook deze kip genezen.

Met uitzondering van het „Bacterium pyocyaneum" bleken dus de overige, in diphtheritische kippenmembranen voorkomende bacteriën geen pathogeniteit voor de kip te bezitten.

Toch is de vatbaarheid van de kip voor den „Bacillus pyocyaneus" niet op één lijn te stellen met die voor het vogelpokkenvirus.

Het ziektebeeld eener kunstmatige pyocyaneus-infectie (submukeus) is in vele opzichten zeer verschillend van dat eener kunstmatige vogelpokken-infectie, en de bestaansmogelijkheid eener heerschende kippendiphtherie door deze bacterie is mijns inziens moeilijk aan te nemen.

Bij pyocyaneus zien we reeds 24 na de infectie beginnende membraanvorming optreden met heftige zwelling op de entplaatsen, gepaard aan vrij ernstige algemeene ziekteverschijnselen. Den 3den dag bereikt het ziektebeeld zijn hoogtepunt

en den 6den dag is er geen spoor meer van over. Infectie gelukte mij alleen langs submukeuzen weg.

Van contagiositeit voor gezonde kippen is geen sprake; evenmin van versterking van het virus door vogelpassage.

Bij vogelpokkenvirus neemt men na 24 uur een geringe zwelling waar (submukeuze infectie), welke den 3den dag is verdwenen. Den 10—14den dag treedt beginnende, progresseerende membraanvorming en generalisatie op, gepaard aan zeer ernstige ziekteverschijnselen (vaak laethaal verloopend).

Infectie is mogelijk op alle denkbare wijzen (intraveneus, subcutaan, submukeus, na scarificatie, enz.) en de geïnfecteerde dieren zijn sterk contagieus voor gezonde.

TABEL 1.

Tabellarisch overzicht der in de literatuur beschreven vogel-diphtherie-verwekkers.

TYPE	VORM	Gram kleuring	Beweeglijkheid	Indolvorming	Gasvorming	GROEI op Agar	GROEI op bouillon	GROEI op gelatine	(in) aardappel	(in) melk	PATHOGENITEIT voor kip	PATHOGENITEIT voor duif	PATHOGENITEIT voor konijn	PATHOGENITEIT voor muis	Membraan verwekkend vermogen kip	Membraan verwekkend vermogen duif	Gebleken contagiositeit voor kippen
Bacillus diphtheriae Columbarum: Löffler 1884	Pasteurella-achtige	+	—	*	*	++ wit	++	+ wit, geen vervloeiing	++ grijsachtig	*	—	++ septiechaemie	+	+	—	++	—
Haushalter 1891	Pasteurella	—	+	*	*	++	++	++	*	*	—	+ septiechaemie	—	+ septiechaemie	±	*	—
Loir et Ducloux 1894	Pasteurella	—	+	*	*	++	++	++ geel, wit	++ geel,wit	*	++ septiechaemie	++ septiechaemie	++ septiechaemie	++ septiechaemie	++	+	sterk contagieus
Veranus Moore 1895	Pasteurella	—	*	*	*	++	++	*	*	*	±	±	++ septiechaemie	—	—	—	—
Piana en Galli Valerio 1897—1904	cocco bacil	—	—	—	*	+ blauwachtig	+ troebeling	+ draden enkolven geen vervloeiing	±	onveranderd	—	—	*	*	—	—	—
Guérin 1901	cocco bacil	—	+	—	*	++	++	+ geen vervloeiing	—	onveranderd	—	+	*	+	—	+	—
Davalos 1904	cocco bacil	—	—	*	*	+	++	*	*	*	—	—	*	*	±	±	*
Hausser 1909	coli-achtig staafje	—	+	*	*	++ wit	++ troebeling	+ g. vervloeiing	*	onveranderd	±	±	±	+	—	—	*
Ferré 1895	echte coli	—	+	*	+	++	++	*	*	stolling	*	*	*	*	—	*	*
Hühner diphtherie bazillus: R. Müller 1905	staafje van wisselende lengte	+	—	*	*	++ op bloedagar met haemolytische zône	++ troebeling	+ g. vervloeiing	—	stolling 5e dag	±	±	*	++ pyaemie	—	+	—
Roup bacillus: Harrison and Streit 1903	staafje 1/2-1/4 μ lg. 1/4-1/8 μ br.	—	++	*	*	++	++ Sterke troebeling	+ vervloeiing	+	stolling 4e dag	±	—	±	+ septiechaemie	+	*	*
Bordet et Fally 1909	fijne micro coccus	*	*	*	*	—	±	—	—	*	+	*	*	*	+	*	* Groeit uitsluitend op den kinkhoest-voedingsbodem v. Bordet en Gengou. Kleurtzich goed volgens Giemsa.

* = gegevens ontbreken.

Tabellarisch overzicht der in de literatuur beschreven vogel-diphtherie-verwekkers.

TYPE	VORM	Gram kleuring	Beweeglijkheid	Indolvorming	Gasvorming	GROEI op Agar	GROEI op bouillon	GROEI op gelatine	(in) aardappel	(in) melk	PATHOGENITEIT voor kip	PATHOGENITEIT voor duif	PATHOGENITEIT voor konijn	PATHOGENITEIT voor muis	Membraan verwekkend vermogen kip	Membraan verwekkend vermogen duif	Gebleken contagiositeit voor kippen
Bacillus diphtheriae Columbarum: Löffler 1884	Pasteurella-achtige	+	—	*	*	++ wit	++	+ wit, geen vervloeiing	++ grijsachtig	*	—	++ septiechaemie	+	+	—	++	—
Haushalter 1891	Pasteurella	—	+	*	*	++	++	++	*	*	—	+ septiechaemie	—	+ septiechaemie	±	*	—
Loir et Ducloux 1894	Pasteurella	—	+	*	*	++	++	++ geel, wit	++ geel,wit	*	++ septiechaemie	++ septiechaemie	++ septiechaemie	++ septiechaemie	++	+	sterk contagieus
Veranus Moore 1895	Pasteurella	—	*	*	*	++	++	*	*	*	±	±	++ septiechaemie	—	—	—	—
Piana en Galli Valerio 1897—1904	cocco bacil	—	—	—	*	+ blauwachtig	+ troebeling	+ draden enkolven geen vervloeiing	±	onveranderd	—	—	*	*	—	—	—
Guérin 1901	cocco bacil	—	+	—	*	++	++	+ geen vervloeiing	—	onveranderd	—	+	*	+	—	+	—
Davalos 1904	cocco bacil	—	—	*	*	+	++	*	*	*	—	—	*	*	±	±	*
Hausser 1909	coli-achtig staafje	—	+	*	*	++ wit	++ troebeling	+ g. vervloeiing	*	onveranderd	±	±	±	+	—	—	*
Ferré 1895	echte coli	—	+	*	+	++	++	*	*	stolling	*	*	*	*	—	*	*
Hühner diphtherie bazillus: R. Müller 1905	staafje van wisselende lengte	+	—	*	*	++ op bloedagar met haemolytische zône	++ troebeling	+ g. vervloeiing	—	stolling 5e dag	±	±	*	++ pyaemie	—	+	—
Roup bacillus: Harrison and Streit 1903	staafje 1/2-1/4 μ lg. 1/4-1/8 μ br.	—	++	*	*	++	++ Sterke troebeling	+ vervloeiing	+	stolling 4e dag	±	—	±	+ septiechaemie	+	*	*
Bordet et Fally 1909	fijne micrococcus	*	*	*	*	—	±	—	—	*	+	*	*	*	+	*	* Groeit uitsluitend op den kinkhoest-voedingsbodem v. Bordet en Gengou. Kleurtzich goed volgens Giemsa.

* = gegevens ontbreken.

HOOFDSTUK II.

VERBAND TUSSCHEN DIPHTHERIE VAN DEN MENSCH EN DIPHTHERIE VAN DE KIP.

De vraag of er een aetiologisch en epidemiologisch verband bestaat tusschen aviaire en humane diphtherie is van het allergrootste belang en heeft sedert eeuwen de algemeene aandacht gehad.

Door talrijke vooraanstaande mannen zijn verschillende inzichten gepubliceerd en door velen is dit verband mogelijk geacht op grond van klinische en bacteriologische waarneming.

Het zijn vooral deze bacteriologische onderzoekingen, welke stof tot critiek hebben geleverd. Bacteriën uit vogelmembranen, welke als *„diphtheriebacillen"* werden beschreven, waren vaak niet voldoende nauwkeurig gedetermineerd om deze uitspraak te rechtvaardigen.

Ik heb daarom gemeend in § 1 van dit hoofdstuk een overzicht van de eigenschappen van den diphtheriebacil (A) en daarmede verwante diphtheroiden (B) benevens hunne differentieering (C) niet achterwege te mogen laten.

§ 2 geeft een overzicht van de gevallen, waarin deze bacteriën in keelmembranen van de kip werden gevonden (A), benevens van den uitslag van het eigen onderzoek (B). Dit laatste was met betrekking tot den diphtheriebacil negatief. Wel werden een achttal diphtheroiden geïsoleerd.

In § 3 B sub b worden gevallen vermeld, waarin de gevonden diphtheriebacil tot het verwekken van diphtherie bij de kip in staat bleek.

Door infectieproeven met oorspronkelijk diphtheriemateriaal (B sub a) en met den bacil zelve en zijne toxine (B sub b) heb ik getracht deze uitkomsten aan eigen onderzoek te toetsen.

Het nauwe verband tusschen diphtheroiden en den diphtheriebacil gaf mij aanleiding infectieproeven met diphtheroiden (§ 2 sub B) in dit hoofdstuk te plaatsen (B sub c).

In § 4 wordt een overzicht gegeven van de literatuur, welke op het epidemiologisch verband tusschen humane en aviaire diphtherie betrekking heeft en door eigen onderzoekingen nagegaan of dit standpunt te verdedigen is.

In dit hoofdstuk heb ik de beschouwingen zooveel mogelijk laten volgen op de verschillende onderdeelen van de aangehaalde literatuur en van het eigen onderzoek.

§ 1. DIPHTHERIEBACILLEN EN DIPHTHERIE-ACHTIGE BACILLEN.

A. *Eigenschappen van den Bacil van Klebs-Löffler.*

Morphologie: De bacil is een onbeweeglijk, Gram positief, 3—5 μ lang, slank staafje van wisselende grootte (kleine, middel, grove vormen). Ververschillende media geven vormverschillen. Karakteristiek is: het optreden van evolutievormen (kogels, korrels, kolven) na 24 uur groei; de groepeering als palissaden ////, L en V vormen, gespreid handvormig enz. en de vorming van metachromatische korrels na 18 uur op de Löffler-serumplaat, welke een electieven voedingsbodem voor den bacil is. Die korrels liggen aan één of beide polen, soms een derde in het midden en bestaan uit „volutine", een nucleïnzure proteïne. Zij verdwijnen na 24 uur groei.

Cultuur: Groei facultatief aëroob.

Op de *Löffler-serumplaat* na 12—18 uur speldeknopgroote, grauwwitte, gewelfde, vochtig glanzende koloniën, vaak met geelachtigen tint.

In *bouillon* groeien ze vrij goed onder vorming van een oppervlaktevlies, dat na schudden bezinkt. Ook wordt wel een brokkelig bezinksel of stoffig neerslag op den glaswand gevormd, waarbij de vloeistof helder blijft. Karakteristiek is, dat de bouillon van alkalisch, zuur wordt (omzetting van spiersuiker). In suikervrije bouillon wordt alkali gevormd.

Op *agar* zwakke groei (na 24 uur) van dunne, onregelmatig gevormde beslagen. Na eenige dagen kunnen geïsoleerde koloniën enkele m.m. groot zijn en bevatten dan een kristallijn, centraal gelegen lichaampje. Dit is een karakteristiek verschijnsel.

Op *gelatine:* groei als op agar. Na eenige dagen vorming van een moerbei-figuur door groei van dochterkoloniën. Gelatinesteekkanaal stoffig beslagen, na eenige dagen een harde ijskegelvorm. Geen vervloeiïng. Op gelatine neemt men af en toe de vorming van twee koloniesoorten waar,

n.l.: *a.* een gewelfde vorm met concentrische inzinking en *b.* een vlakke vorm met radiaire streeping z.g. ganzebloemvorm (zeldzamer). Op Löfflerserum overgeënt veranderen beide vormen in de uniforme, gewelfde kolonie.

(Ik heb dit verschijnsel bij mijn stammen H. 3 en H. 7 waargenomen.)

Op *aardappel* een nauwelijks zichtbaar, uiterst fijn, witglanzend beslag. Eisch is, dat de aardappel alkalisch is gemaakt.

Resistentie: Licht, vocht en hooge temperatuur verkorten den levensduur. In bouilloncultuur sterven de bacillen vaak reeds na 5—6 dagen af door hun eigen stofwisselingsproducten. Op serumplaten kunnen ze een jaar blijven leven. In rauwe melk sterven ze binnen 24 uur. In gekookte melk blijven ze dagen lang leven. Tegen uitdrogen, vooral in membraansubstantie, zijn ze goed bestand.

Dierpathogeniteit. Het is nog niet gelukt door overbrenging van diphtheriebacillen op het intacte keelslijmvlies, echte diphtherieverschijnselen, bij welk dier dan ook, te veroorzaken. In algemeenen zin gedraagt de Bacil van Klebs-Löffler zich als een specifiek, voor menschen pathogeen microorganisme. Toch kunnen bij kleine proefdieren specifieke reacties worden opgewekt, welke als een „analogon" der humane diphtherie zijn op te vatten.

Henke toonde aan, dat door intratracheale infectie van den bacil bij cavia, jongen hond, duif, kip en konijn diphtherische membranen optreden, welke echter een locaal karakter dragen en niet voortschrijden.

Bij konijnen en honden treden bovendien af en toe paralysen op, waardoor het diphtherie-ziektebeeld wordt verscherpt. Ook grootere huisdieren, met name paarden, zijn gevoelig voor de schadelijke werking van den bacil. Ratten en muizen zijn refractair.

Zeer karakteristiek is de reactie bij de cavia na subcutane infectie in de buikstreek. Zij vormt het belangrijkste differentieel diagnosticum bij twijfel aan de identiteit van den bacil. Een kleine dosis bouilloncultuur, op bovengenoemde wijze ingebracht, veroorzaakt den dood, binnen 2—4 dagen, onder de volgende verschijnselen: Na 12—24 uur treden algemeene ziekteverschijnselen op. De dieren zitten in elkaar, eten niet, de haren staan overeind. Zij zijn zeer pijnlijk bij opnemen. Op de injectieplaats vormt zich eene oedemateuze zwelling.

Sectie: Grauwwitte, fibrine-achtige belegsels op de injectieplaats, haemorrhagisch vocht in borst- en buikholte; lobulaire, bruinroode atelectase van de longen en als criterium eene zeer duidelijke *zwelling en hyperaemie van de bynieren.*

Toxinevorming. *Löffler* was één der eersten die aantoonde, dat niet de bacil zelve, doch zijne secretieproducten, met name de diphtherietoxinen, pathogeen zijn.

Door *Römer* is een methode gevonden om door intracutane infectie van kleine proefdieren (cavia) deze toxinen aan te toonen.

Vindplaats. Praedilectieplaats van den bacil is het slijmvlies van de mondkeelholte en van de grootere luchtwegen bij den mensch, in het bijzonder bij kinderen. De bacil zelf schijnt zelden in de circulatie te komen; zijn schadelijke werking berust op toxinevorming.

Ook op wonden bij den mensch neemt men af en toe echte diphtheritische membranen waar, waarin de bacil een rol speelt.

Door *Formad, Ferré, Faguet, Piorkowsky, Loir* en *Ducloux, Rappin, De Jong* en *Bakker* werd de bacil in keelmembramen van de kip aangetoond. In § 2 wordt hierop nader teruggekomen.

Belangwekkend zijn de publicaties van *Kliewe* en *Westhues* (1925) die na onderzoek van wonden bij paarden (versche, oude goed granuleerende en vervuilde) in 17 % der gevallen echte, deels pathogene diphtheriebacillen konden aanwijzen.

Zij achten de aanwezigheid van den bacil van Klebs-Löffler in wonden bij paarden van belang, omdat daardoor eendeels een ongunstige invloed op het wondgenezingsproces kan worden uitgeoefend, terwijl anderdeels daaruit nieuwe gezichtspunten voortspruiten, die de aanwezigheid van diphtherie anti-toxinen in normaal paardenserum kunnen verklaren.

Zij onderzochten wonden van 70 paarden op diphtheriebacillen (castratiewonden, straal- en hoefkanker, schoftfistels) en vonden 12 maal morphologisch met den diphtheriebacil overeenkomende staafjes, bij welke verlengde Gramkleuring (Langer) in de meeste gevallen een negatief beeld gaf.

In het vergisten der suikers: maltose, levulose en saccharose; in hunne verhouding ten opzichte van de oleïnezuurplaat; in cultureele eigenschappen; zuurvorming in glucose bouillon enz. was er geen verschil met echte diphtheriebacillen. Door het schema van *Engering* (zie § 1 sub C) te volgen konden zij 9 stammen als echte diphtheriebacillen identificeeren.

Daarnaast vonden zij ook pseudo-diphtheriebacillen (Bacil

van Hofmann-Wellenhof) en bacillen overeenkomend met den Paradiphtheriebacil van Lubinski.

Drie der negen echte stammen waren pathogeen voor de cavia, welke respectievelijk na 30, 48 en 35 uur stierven, onder karakteristieke verschijnselen van diphtherie (hyperaemie van de bynieren, serohaemorrhagisch oedeem in de omgeving van de injectieplaats, enz.). Met twee dezer werden immuniteitsproeven verricht, n.l. gelijktijdig met de subcutane infectie werd diphtherie-serum toegediend. Terwijl de met antitoxine behandelde dieren in leven bleven, stierven de anderen binnen 3—4 dagen.

De overige stammen waren zwak virulent; de daarmede geïnfecteerde caviae vertoonden algemeene en locale verschijnselen in verschillenden graad, doch stierven niet.

Eén ernstig ziek dier werd den vijfden dag gedood en vertoonde duidelijke infiltratie op de injectieplaats en zwelling, doch geen hyperaemie van de bynieren.

Betreffende het aspect der wonden, waaruit de bacillen werden gekweekt, merken Kliewe en Westhues op, dat vooral het onderzoek van versche castratiewonden vele positieve gevallen uitwees, terwijl ook necrotiseerende processen dikwijls den diphtheriebacil te zien gaven. Hoewel in mindere mate, bleken toch ook goed granuleerende wonden heel vaak met diphtheriebacillen geïnfecteerd te zijn.

Opmerkelijk was, dat bij de castraten met positieven diphtherie-uitslag vaak streptococcen werden gevonden. Kliewe en Westhues brengen dit in verband met de waarneming van Roux en Yersin, die avirulente diphtheriebacillen in symbiose met streptococcen virulent konden maken.

Ook van immuun-biologisch standpunt achten deze onderzoekers hunne bevindingen van belang. Hierdoor zou voor het paard eene oplossing gevonden zijn voor de aanwezigheid der z.g. normaal antitoxinen tegen diphtherie. Daarbij zou men moeten aannemen, dat door langdurige of herhaalde wondinfectie met diphtheriebacillen zich accidenteel antitoxinen

vormen in paarden en men de opvatting, dat deze toxinen aangeboren zijn, moeten prijsgeven.

Het onderzoek van een aantal paarden op de aanwezigheid van diphtheriebacillen op het neusslijmvlies gaf een negatief resultaat. Wel werden diphtheroïden aangetroffen, welke echter als habitueele slijmvliesbewoners bij verschillende diersoorten bekend zijn.

Volgens hen zou men een epidemiologisch verband kunnen zoeken tusschen het optreden van diphtherie van den mensch en de aanwezigheid der bacillen bij het paard.

Intusschen schijnt het besmettingsgevaar niet groot te zijn, althans 6 personen, die deze paarden verpleegden, waren vrij van diphtherie-bacillen in de keel. (Voor het voorkomen van diphtheriebacillen bij kippen wordt verwezen naar § 2 sub A.)

B. *Eigenschappen van de meest bekende diphtherie-achtige bacillen.*

1. *De pseudo-diphtheriebacil (Bacil van Hofmann-Wellenhof).*

Deze diphtherie-achtige bacil is door Löffler (1887) het eerst waargenomen en later door Hofmann-Wellenhof beschreven en leeft bij voorkeur in neus- en keelholte van zuigelingen.

Morphologisch en cultureel vertoont hij overeenkomst met den Bacil van Klebs-Löffler, o.a. door de palissaden, L en V groepeering en door weligen groei op Löffler-serum. De grootte is veel constanter dan die van verschillende diphtheriestammen en overschrijdt zelden den middel-grooten vorm; ook is de vorm wat plomper. Verder vertoont de bacil slechts zeer spaarzaam de Neissersche korreling, vergist geen enkele suiker en is volkomen avirulent.

Prochaska (1897) was een der eersten die nauwe verwantschap tusschen diphtherie- en pseudo-diphtheriebacil aannam. Aangezien enkele pseudostammen bij de cavia ent-oedemen veroorzaken en sommige zwak virulente diphtheriestammen weinig meer te zien geven, namen *Roux* en *Yersin* aan, dat de eersten een verzwakten vorm zijn van de laatsten en de overgang „pseudo-avirulent-virulent" mogelijk is. In hunne meening versterkt doordat zij zwak-virulente diphtheriebacillen in symbiose met streptococcen meerdere virulentie konden geven, slaagden zij er nochtans niet in avirulente bacillen in virulente om te zetten.

Wel heeft men kunnen aantoonen, dat virulente bacillen bij het terugwinnen uit de organen van daarmede gedoode proefdieren verzwakte

virulentie bezitten, terwijl *Roose, Runge* en *Jacobsthal* totaal avirulente stammen konden isoleeren uit de organen van aan algemeene diphtherie gestorven menschen.

Bernard en *Paneth* beweren den langzamen overgang te hebben vastgesteld van echte diphtherie- in pseudo-diphtheriebacillen.

Hewlett en *Knight* hielden vol, dat zij pseudo's door dierpassage hadden virulent gemaakt en dat men den Bacil van Klebs-Löffler door voorzichtig verwarmen in den Bacil van Hofmann-Wellenhof kon doen overgaan.

Kiszkalt (1918) onderzocht talrijke stammen van diphtherie-achtigen, afkomstig uit de vrije atmospheer, water, aarde, bladeren enz., welke geen eenheid in de vergisting van suikers vertoonden. Op grond van dit onderzoek acht hij de mogelijkheid niet buitengesloten, dat in de vrije natuur levende saprophyten in het menschelijk lichaam hun kleurstof verliezen, zich geschiktheid tot zuurvorming verwerven en overgaan in pseudo-diphtheriebacillen.

Dat in deze materie het laatste woord nog niet is gesproken en men het standpunt dezer onderzoekers nog niet algemeen aanvaardt, blijkt uit een voortdurenden stroom van nieuwe onderzoekingen, onder welke de publicaties van *Bitter, Gundel* en *Garcia Sancho* (1926), die samenhang tusschen zuurvorming en virulentie meenden te zien en overgang van zwakke virulentie in avirulentie toeschreven aan ongunstige waterstofionenconcentratie van den voedingsbodem, de bijzondere aandacht verdienen.

2. *De para-diphtheriebacil (van Lubinski) (1924).*

Deze bacil is korter en plomper dan de Bacil van Klebs-Löffler; vertoont echter in tegenstelling met den pseudo meestal na 24 uur fijne Neissersche korreling aan beide pooleinden, zelden in het midden. De groei op Löffler-serum is welig, witachtig. Op agar dikker groeiend dan de echte diphtheriebacil, krijgt de bacil daarop geen poolkorreling. Komt hoofdzakelijk voor op diphtherische wonden bij den mensch.

Virulentie ontbreekt. Meerdere suikers worden aangetast, onder anderen ook saccharose. Later heeft *Pesch* aangetoond, dat er ook para-diphtheriebacillen zijn, welke geen saccharose vergisten.

Radice (1923) was de overtuiging toegedaan, dat deze, spontaan in wonden voorkomende, para-diphtheriebacillen omgezette diphtheriebacillen zijn.

3. *De Xerose-bacil.*

Deze bacil groeit overwegend in korte vormen, doch er zijn volgens *Heinersdorff* stammen, die in niets van den echten diphtheriebacil afwijken.

De culturen zijn meer of minder droog en groeien op Löffler-serum niet zoo welig als die van den echten diphtheriebacil.

Er bestaat geen of spaarzame poolkorreling en de vindplaats beperkt zich hoofdzakelijk tot den conjunctivaalzak van mensch en dier. Pathogeniteit ontbreekt, terwijl nagenoeg alle suikers onveranderd worden gelaten.

Andere diphtherie-achtigen, welke niet tot de bovengenoemde soorten zijn te brengen, werden door *K. Pesch* bijeengevoegd in groepen met bepaalde kenmerken, onder anderen kleurstofvormers, welke geel of lichtbruin groeien; huid- en slijmvlies-saprophyten, welke door een opvallenden, drogen groei op de Löffler serumplaat gekenmerkt zijn.

C. Differentieering.

Men heeft getracht door verschillende methoden van onderzoek — in grensgevallen — een scheidingslijn te trekken tusschen den diphtheriebacil en diphtheroiden.

Proschaska (1897) was een der eersten die de noodzakelijkheid betoogde, dat de morphologische en cultureele verschillen niet voldoende voor eene scheiding waren en door biologische moesten worden aangevuld.

Sedert heeft men zoo goed als alle bekende, bacteriologische en serologische onderzoekingsmethoden gevolgd om den diphtheriebacil van diphtheroiden te scheiden.

Precipitatie, bacteriolyse, complementbinding, agglutinatie, bepaling van den phagocytairen index werden onderscheidenlijk verricht door *Van Riemsdijk, Spiegelberg* (1915), *Bachmann* (1921) en anderen.

Pesch en *Gotschalk* trachtten verschillen op te sporen in de zuurstofbehoefte der verschillende soorten zonder afdoende resultaat te bereiken.

Van de kenmerkende verschillen, welke in de laatste jaren tot eene systematische splitsing hebben bijgedragen, zijn achtereenvolgens te noemen:

1. **Gram-vastheid.**

De bacillen behoorende tot de diphtheriegroep zijn Gram positief. Indien men echter bijzondere Gram kleuringmethoden toepast, blijkt dat de Bacil van Klebs—Löffler minder Gramvast is dan de met hem verwante vormen, met name pseudo's, para's, xerose-bacillen en andere diphtheroiden.

Dit heeft onder meer *Engering* (1923) aanleiding gegeven

tot een nader onderzoek van 27 diphtheriestammen en van 47 stammen van diphtherie-achtigen.

Voor de bepaling der Gramvastheid maakte hij gebruik van de Langer'sche Gramkleuring, bij welke de ontkleuring in alcohol absol, tot 15 min is verlengd.

carbolgentiaanviolet 2 min., lugol 5 min., alcohol absol. 15 min., verdunde fuchsine 1 sec.

Alle 27 Klebs-Löffler stammen waren Gram negatief.

Van de 47 diphtherie-achtigen, afkomstig van: wonden, conjunctiva, uit neus, smegma, vagina van de cavia, kniegewrichtspunctaalvocht, lumbaalvocht enz., bleken er 11 Gram negatief; 12 twijfelachtig en de overige 24 Gram positief te zijn.

De uitkomsten van *Engering* hebben dus bewezen, dat de echte humane bacil in Gramvastheid belangrijk van diphtherie-achtigen verschilt.

Ik zelf heb met deze Gramkleuring soortgelijke ervaring opgedaan. Mijn diphtherie-achtigen bleken alle sterk Gram positief te zijn.

Mijn echte diphtheriestammen waren deels Gram negatief, dit waren de meest toxische (H. 3 en H. 7), terwijl de minder toxische (H. 4 en H. 5) twijfelachtig Gram positief waren.

2. Groei en kleurverschillen op bepaalde voedingsbodems.

Als voedingsbodems zijn gebruikt:

1. *De Oleïnezuurplaat volgens Lingelsheim.*

Samenstelling: 10 % opl. natr. oleïnicum; krachtig schudden; hiervan 0.4 c.c. op 20 c.c. vloeibare agar en daarna tot platen gieten.

Diphtherie-achtigen groeien goed op deze plaat, zijn lipophyll, diphtheriebacillen daarentegen niet.

Engering beschrijft deze plaat als zeer doelmatig. Hij kreeg daarmede betrouwbare uitkomsten.

Mij heeft deze methode niet bevredigd. Groeiverschil na uitzaaiïng mijner diphtherie- en diphtherie-achtige bacillen heb ik niet waargenomen.

Ik vervaardigde de platen zelf; nauwkeurig volgens de aan-

gegeven voorschriften en gebruikte steeds versche. Met een glasspatel entte ik 24 uur oude, goed gegroeide Löffler-serum of agarculturen paarsgewijze op één oleïnezuurplaat, zoodanig dat ik op de eene helft der plaat diphtheriecultuur uitstreek en op de andere helft cultuur van eene diphtherie-achtige.

In alle gevallen groeiden beide soorten even flink.

B. *Tellurium voedingsbodem* volgens *Conradi.*

Samenstelling: paardenserum 50 c.c. NaCl. opl. 0.8 %, 1 c.c. kal. tellurosum opl., 1 eierdooier.

NaCl. opl. kal. tellurosum ½ uur steriliseeren; bij 100 °, eierdooier in steriele flesch gieten, daarbij serum en steriele NaCl., kal. tellurosum opl. voegen, mengen, aftappen in buisjes, drie achtereenvolgende dagen steriliseeren, daarna op waterbad bij 56 ° gedurende ½ uur.

Op deze plaat groeien humane bacillen zwart, de pseudo en andere diphtherie-achtigen grijs.

Ook de uitkomsten met deze plaat hebben mij teleurgesteld. Weliswaar groeiden de koloniën van de diphtheriegroep daarop met donkere kleur, doch zonder duidelijk verschil tusschen echte humane en diphtherie-achtige bacillen.

Door andere onderzoekers is hetzelfde verschijnsel waargenomen en bovendien aangetoond, dat ook bacteriën, welke met den diphtheriebacil in geen enkel verband staan, een donkeren groei op deze plaat te zien geven.

Moge nu al door enkele onderzoekers het gebruik dezer platen zijn aanbevolen, zoo kunnen de daarmede verkregen resultaten toch hoogstens gelden als schakel in een reeks van meerdere onderzoekmethoden, waarvan de som der resultaten de mogelijkheid tot eene positieve uitspraak opent.

3. **Suikervergisting.**

Van meer beteekenis is het gedrag der bacillen ten opzichte van verschillende suikers. Door *Thiel* is de aanwending van den volgenden voedingsbodem aanbevolen.

Pepton-nutrose-glucose aa 1.0, keukenzout 0.5, Lakmoes opl. Kahlbaum 0.5, water 100.

Diphtheriebacillen kleuren deze vloeistof binnen 24 uur sterk rood. Pseudo-diphtherie en xerose-bacillen laten haar onveranderd. De kleuromslag ten opzichte van andere diphtheroiden is echter niet steeds constant. Een belangrijk kenmerk voor den humanen diphtheriebacil is, dat deze nooit saccharose vergist, daarentegen wel andere suikers. De pseudo-diphtheriebacil (Hofmann—Wellenhof) vergist geen enkele suiker. De paradiphtheriebacil vergist wel saccharose en gedraagt zich overigens min of meer als de humane bacil. Andere diphtherieachtigen weer komen te dezen opzichte ten nauwste overeen met den humanen bacil.

Deze feiten hebben ten slotte tot pogingen geleid om door suikervergisting eene splitsing van diphtheriebacillen en diphtherie-achtigen in het algemeen en van de laatsten onderling, te bewerkstelligen.

In een twee-tal systemen van onderzoek, welke door mij zijn gevolgd, het eene van *P. Engering* (1923) en het andere van *K. Pesch* (1924) neemt deze suikervergisting een belangrijke plaats in.

Systeem P. Engering (1923).

Hij stelde vast:

1. *Groei op de oleïnezuur plaat* (humane niet, diphtherieachtigen wel).
2. *Vergisting van saccharose* (humane nooit, diphtherieachtigen af en toe).
3. *Vergisting van maltose* (humane af en toe, diphtherieachtigen als regel niet).

Zijn suikervoedingsbodem had de volgende samenstelling:

1. één gram pepton, 0.5 NaCl. opl., 100 c.c. H_2O, koken, filtreeren.
2. één gram lakmoes opl. (Kahlbaum), 1 gram suiker (saccharose of maltose), 5 min. koken.
1. en 2. mengen in buisjes tot 5 c.c.

Volgens *Engering* pleiten de volgende combinaties tegen echte diphtheriebacillen en voor diphtherie-achtigen.

a. Maltose onveranderd: groei op oleïnezuurplaat.

b. Maltose veranderd: groei op oleïnezuurplaat.

c. Maltose onveranderd: geen groei op oleïnezuurplaat.

Systeem K. Pesch (Tabel II).

Pesch (1924) onderzocht 190 stammen, welke door vorm, kleureigenschappen en onbeweeglijkheid tot de diphtheriegroep behoorden. Hij koos tot uitgangspunt:

1. *De invloed van den voedingsbodem op vorm en poolkorreling van den bacil, op kleur en groei-intensiteit van de kolonie.*

2. *De vergisting van een vijftal suikers (dextrose, saccharose, maltose, lactose en levulose) in den volgenden voedingsbodem:*

pepton 1 %, NaCl. ½ %, lakmoestinctuur 6 % en suiker 1 %. Deze oplossing werd met 10 % soda op een Ph. 7.8 gebracht en 3 maal 20 min. gesteriliseerd bij 100 °.

Ik voegde hier als 6e voedingsbodem aan toe eene met galactose.

3. *Pathogeniteit voor de cavia.* Hij infecteerde met 24 uur oude bouillonculturen subcutaan en bij twijfelachtige reacties met oudere cultures of met eene suspensie van Löffler-serum cultuur.

Langs dezen weg kon hij eene splitsing in 6 groepen formuleeren.

Groep 1. Lange, slanke bacteriën met toegespitste einden; op bloedagar matig groeiend als kleurlooze koloniën, met algemeene poolkorreling; met uitzondering van saccharose, de meeste suikers vergistend.

Pathogeen (of niet-pathogeen) voor de cavia. *Echte diphtheriebacillen* (Bacil van Klebs-Löffler).

Groep 2. Middel-lange staafjes van gelijkmatigen vorm, afgestompte pooleinden, groei op bloedagar middel-sterk, witachtig, poolkorreling uiterst spaarzaam. Suikers niet vergist, niet pathogeen.

Pseudo-diphtheriebacil (Bacil van Hofmann-Wellenhof) (keel en neus van zuigelingen enz.).

Groep 3. Korte, plompe, wigvormige staafjes; poolkorreling sterk wisselend. Groei op bloedagar zeer welig met witte koloniën. A. saccharose vergistend; B. saccharose niet vergistend. *Para-diphtheriebacil* van *Lubinski.* Op wonden, enz.

Groep 4.

A. Middel-lange en lange vormen, doch plomper dan echte diphtheriebacillen, meer palissaden ligging. Poolkorreling als bij den echten diphtheriebacil. Groei op bloedagar zwak, helder en kleurloos als bij echte diphtherie. Suikers niet of twijfelachtig vergist. Niet pathogeen.

B. Poolkorreling atypisch, meerdere naast elkaar, overeenkomend met het *„bacterium septatum van Gelbke"*.

Deze bacillen vormen de *„Xerose groep"*, welker stammen bij voorkeur op de conjunctiva leven.

Groep 5. Alle *kleurstof vormende diphtheroiden.* Vooral op Löffler-serum mooie kleurstofontwikkeling. Vorm, poolkorreling en suikervergisting vertoonen bij verschillende stammen groote afwisseling. Niet pathogeen. Het zijn saprophyten.

Groep 6. Alle overige niet onder de overige rubrieken te rangschikken diphtheroiden. Opvallend is op bloedagar de droge, vlakke groei en de taaiheid der culturen, die moeilijk zijn fijn te wrijven. Tot deze groep behooren o.m. enkele diphtheroiden uit de vogelkeel geïsoleerd.

Voor de indeeling mijner stammen heb ik mij gehouden aan het systeem van Pesch (tabel A) nadat ik te voren had uitgemaakt of de bacil pathogeniteit voor de cavia bezat.

Deze cavia-enting geschiedde subcutaan in de buikstreek met 2—5 dagen oude, goed gegroeide bouilloncultuur. Bovendien stelde ik een onderzoek in op toxinevorming, zooals dit onder anderen door Lubinski wordt aangegeven.

10—14 dagen oude bouillonculturen bij 37° gekweekt worden met chloroform gedood en 24 uur in de ijskast bewaard, waarbij de vloeistof nagenoeg helder wordt. Van de bovenste vloeistoflaag wordt 0.05 c.c. intracutaan in de buikholte eener cavia geïnjicieerd, na voorafgaande ontharing met strontium sulfide. Bij toxinevormnig ontstaat 48—72 uur later een rood infiltraat op de entplaats, dat sterker wordt en na 5—6 dagen in necrose overgaat.

Deze methode heeft het voordeel, dat men op één cavia wel 8 stammen kan toetsen.

Ten slotte bepaalde ik de Gramvastheid van den bacil.

Het sterkste bewijs voor de identiteit van den humanen diphtherieverwekker wordt echter geleverd door eene immuniteitsproef. Daartoe infecteere men voor den bacil of zijne toxinen gevoelige proefdieren, onder gelijktijdige toediening

van het specifieke anti-serum, waarbij eene reactie moet uitblijven of slechts zeer verzwakt optreden.

Mijne voor infectieproeven gebruikte diphtheriestammen zijn allen met behulp dezer immuniteitsproef geïdentificeerd.

§ 2. DIPHTHERIEBACILLEN EN DIPHTHERIE-ACHTIGEN IN MOND- EN KEELMEMBRANEN VAN DE KIP.

A. Literatuur.

Het voorkomen van den diphtheriebacil in diphtheritische mond- en keelprocessen van de kip staat vast, indien de verdachte bacil al de kenmerkende eigenschappen van den Bacil van Klebs-Löffler bezit.

Verschilt deze bacil echter in enkele eigenschappen, hetzij morphologische, cultureele dan wel biologische (gemis aan pathogeniteit) van den humanen diphtherieverwekker, dan is zijn identificatie met dezen, op grond van de in § 1 sub C aangehaalde differentieering, niet zonder meer te rechtvaardigen.

Van dit standpunt bezien hebben mededeelingen, waarin het micro-organisme niet nauwkeurig is gedetermineerd, slechts betrekkelijke waarde en kan men de op dit onderwerp betrekking hebbende literatuur splitsen in twee groepen, n.l.:

Groep 1. Gevallen, waarin de identiteit van het micro-organisme met den diphtheriebacil niet is geleverd.

Groep 2. Gevallen, waarin deze identiteit op grond van ingestelde biologische- en dierproeven zou zijn aan te nemen.

GROEP 1.

Formad (1887) was een der eersten, die een bacil uit membranen van diphtheritische kippen isoleerde, welke hij om zijn morphologische en cultureele eigenschappen als een Bacil van Klebs-Löffler beschouwde.

Met reinculturen van dezen bacil zag hij bij konijnen, na scarificatie van de buiten oorvlakte, en bij caviae, na subcutane

injectie, diphtheritische verschijnselen op de entplaats optreden.

Ferré (1900) isoleerde uit diphteritische keelmembranen van kippen met verlammingsverschijnselen een Gram positief staafje, dat in drie grootten (kort, middel, lang) voorkwam; palissaden, L en V vormen vertoonde en op serum welig groeide, in ronde, gewelfde koloniën.

Op de onthaarde oorschelp van het konijn ontstond, na voorafgaande scarificatie, met reinculturen een diphtherische korst.

Door subcutane infectie traden bij konijn, kip, duif en cavia verlammingen op. Met het filtraat van deze culturen verkreeg hij bij kip en konijn, door subcutane infectie eveneens verlammingen.

Ferrè maakte daaruit op, dat de toxine van dezen, uit de vogelkeel geïsoleerden bacil, volkomen gelijk was aan de diphtherie-toxine.

Later kon hij denzelfden bacil kweeken van het keel- en anaalslijmvlies van gezonde, niet geïnfecteerde kippen.

Faguet (1900) vond een bacil met dezelfde eigenschappen als die van Ferré, doch met zwakkere virulentie en ook *Creignou* (1900) nam dit — als den Bacil van Klebs-Löffler beschouwde — staafje op het gezonde keelslijmvlies van meerdere diersoorten (o.a. parelhoenders, roodborstjes, musschen, duiven, papegaaien, katten, honden, konijnen, ratten, caviae en paarden) waar.

Loir en *Ducloux* (1894) isoleerden bij hun onderzoek naar de oorzaak van de Tunesische vogelsterfte eenmaal een staafje dat morphologisch en cultureel met den diphtherie-bacil overeenkwam; daarnaast namen zij bacillen waar, die zij als pseudo's beschouwden.

Stephen Artault (1895) paste serumbehandeling bij diphtheritische kippen toe met diphtherieserum van Roux, en concludeerde tot de aanwezigheid van den Bacil van Klebs-Löffler uit de gunstige resultaten, die hij daardoor verkreeg.

Gallez en *Van Ermanghen* isoleerden een bacil met zwakke virulentie uit de keel van kippen, lijdende aan een „*catarrhe*

contagieux". Door dierpassage konden zij deze virulentie versterken.

Stephenson (1898), *Gordon Sharp* (1900) en *Lambotte* vonden bij kippen, lijdende aan *coryza infectiosa* en *kippendiphtherie*, bacillen met verzwakte virulentie.

Louis (1909) vond in uitstrijkpreparaten van materiaal uit de keel, den gehoorgang en het oviduct eener diphterische kip, talrijke op den Bacil van Klebs-Löffler gelijkende staafjes.

Naast deze publicaties zijn er talrijke, waarin op het voorkomen van — met den diphtheriebacil overeenkomende — staafjes bij duiven en andere vogels wordt gewezen, welke echter van minder belang zijn en daarom stilzwijgend worden voorbijgegaan.

GROEP 2.

Van meer belang zijn de volgende publicaties, omdat daarin de bacil op pathogeniteit voor de cavia is onderzocht en bovendien in enkele gevallen kunstmatige infectie bij kippen is geschied. Op deze infectieproeven zal in § 3 B van dit hoofdstuk uitvoeriger worden teruggekomen.

In 1907 beschreef *Piorkowsky* een staafje, dat morphologisch en cultureel volkomen met den Bacil van Klebs-Löffler overeen kwam en dat pathogeniteit voor de cavia bezat. Met dit uit de membranen van diphtheritische kippen geïsoleerde staafje, kon door subcutane injectie van 1 c.c. serumcultuur, een cavia binnen 24 uur worden gedood. De sectie gaf een beeld, dat gelijk was aan dat door den Bacil van Klebs-Löffler teweeggebracht (hyperaemie van de bynieren, enz.).

Uit de zeer twijfelachtige resultaten, welke hij door toediening van diphtherieserum bij diphtheritische kippen verkreeg, concludeerde Piorkowsky, dat de Bacil van Klebs-Löffler de oorzaak der ziekte was.

Rappin en *Vanney* (1911). In 33 onderzochte gevallen kon Rappin microscopisch steeds op diphtherie gelijkende bacillen aantoonen.

Rappin wijst erop, hoe moeilijk het isoleeren van deze staafjes is en slechts 6 keer gelukte het hem een reincultuur te winnen van bacillen, welke in geen enkel opzicht van den Bacil van Klebs-Löffler waren te onderscheiden.

Deze bacillen waren zwak virulent, welke virulentie kon worden versterkt door collodiumzakjes met cultuur in de buikholte van kleine vogels te brengen („cultuur in vivo"). Toxinevorming kon worden aangetoond door cavia-enting. Aanvankelijk bleken groote dosis cultuur noodig om een cavia in 5 dagen te dooden. Door doelmatig kweeken van den bacil, volgens de methode van *Roux* en *Yersin*, in bouillon van varkensmaag en kippenvleesch, werd de toxinevorming verhoogd en daardoor de doodelijke dosis tot 2 c.c. teruggebracht. Caviae vertoonden bij de sectie dezelfde laesies als na infectie met den diphtheriebacil van den mensch.

Voor den hond was deze dosis eveneens doodelijk, doch met langzaam verloop en bijna steeds onder paralytische verschijnselen.

„Il nous paraitrait bien difficile, après l'obtention des résultats semblables, de nier l'identité du bacille ainsi isolé dans la diphtérie des poules avec le Bacille de Klebs-Löffler", zegt Rappin en voegt daaraan toe, dat men van „dualistische" zijde zijn conclusies met voorbehoud zal aanvaarden op grond van het vrij groote pathogeniteitsverschil van sommige zijner stammen met den echten diphtheriebacil. Maar dit voorbehoud zal op grond van zijn latere onderzoekingen niet meer te handhaven zijn, vervolgt Rappin en hij brengt daarbij in herinnering de uitspraak van *Louis Martin* (1898), gegrond op eene nauwgezette studie over humane diphtherie, welke luidt:

„Combien est artificielle la distinction que l'on veut trouver entre les bacilles diphtériques et les bacilles pseudo-diphtériques.

..... Il faut, dans l'intérêt du malade, cesser d'attacher une grande importance, à ces distinctions subtiles, et regarder comme atteints de diphtérie tous les malades dont l'exsudat,

ensemencé sur sérum fournit en 24 heures de nombreuses colonies de bacilles ayant l'aspect et les réactions colorantes de celui de la diphtérie".

Rappin betoogt verder, dat men niet vol kan houden, dat bacillen, die van den Bacil van Klebs-Löffler slechts verschillen door hunne pathogeniteit voor de cavia, micro-organismen van een andere soort zijn en als zoodanig de verschillende, uit vogeldiphtherie geïsoleerde variëteiten-specificiteit moet worden toebedeeld.

Daarmede geeft hij dus min of meer te kennen, dat z.i. onderlinge overgang van de verschillende soorten in de groote diphtheriegroep mogelijk te achten is en men in niets verhinderd wordt te gelooven, dat dezelfde vogelbacillen door successievelijken overgang in andere, betere levensvoorwaarden biedende media tot het type van den echten humanen diphtheriebacil kunnen overgaan.

Bovendien is verzwakte- of een totaal gemis aan virulentie, volgens Ferré, in deze materie geen criterium om daarop de uitspraak *„diphtheriebacil"* c.q. *diphtherie-achtige bacil"* te doen, want door *Simonnin* en *Benoit* zou zijn aangetoond, dat de Bacil van Klebs-Löffler pathogeniteit voor de cavia kan missen, deze daarentegen voor kippen, duiven en kleine vogels kan bezitten, terwijl het bestaan van den avirulenten Bacil van Klebs-Löffler door een ieder wordt erkend.

De Jong (1915) demonstreerde te Leiden een bacteriecultuur, door hem geïsoleerd uit den bek van een kip met diphtheritische membranen op den tongrand en in den pharynx. Morphologisch noch cultureel was deze bacil van den Bacil van Klebs-Löffler te onderscheiden. De bacillen vertoonden duidelijke Neissersche korreling.

Vijf caviae werden subcutaan geïnfecteerd met bouilloncultuur en kregen oedemen op de entplaats. Één vertoonde algemeene ziekteverschijnselen en twee anderen een diphtheriekorst op de entplaats, doch allen genazen.

Spiegelberg (1915) isoleerde uit de keel van gezonde en

diphtheritische kippen staafjes met poolkorreling en karakteristieke palissaden L en V groepeering, welke ook cultureel niet van den humanen bacil waren te onderscheiden. Op grond van zijne agglutinatieproeven met verschillende stammen uit duiven- en kippenkeel, naast echte diphtheriestammen komt hij tot de conclusie, dat al deze bacteriesoorten zonder markante scheidingslijn in één continueerende reeks zijn te brengen. En hoewel niet al deze stammen tot pathogeniteit voor den mensch kunnen worden geprikkeld acht hij de mogelijkheid daartoe toch zeer waarschijnlijk. Tenslotte uit Spiegelberg de veronderstelling, dat het klaarblijkelijk lang niet zeldzame voorkomen van humane diphtheriebacillen bij gezonde dieren, voor den mensch nog gevaarlijker is dan hunne aanwezigheid bij zieke vogels.

Bakker (1922) te Leiden isoleerde uit de keel van een ter onderzoek aangeboden gestorven kip, met een grijswitte diphtheriemembraan op het gehemelte, een Gram positief staafje met Neissersche korreling en kolfvorming.

Als voedingsbodem gebruikte hij glycerine-serum, waarop de diphtheritische membraan werd afgestreken. Als bijzonderheid diene, dat het rechteroog van deze kip door diptheritische massa's gesloten was en zich pokken op den kam bevonden. In membraanuitstrijkjes waren bacillen met Neissersche korreling te zien. Deze bacil was sterk pathogeen en doodde een cavia in 36 uur, na subcutane injectie van 0,75 c.c. 24 uur oude bouilloncultuur. De sectie wees op diphtherie, n.l. gelatineus oedeem en necrose in de omgeving van de entplaats, puntbloedingen op het peritoneum, zwelling en hyperaemie van de bynieren.

B. Eigen onderzoek.

Bij het stelselmatig onderzoek van de diphtheritische keelprocessen van 48 (hoofdstuk I) deels zieke, deels gestorven kippen, heb ik den Bacil van Klebs-Löffler niet gevonden.

Wel heb ik, als zoovele onderzoekers bij allen de aanwezig-

heid van staafjes met poolkorreling, in uitstrijkpreparaten kunnen vaststellen.

Tenslotte is het mij gelukt *acht* verschillende stammen van diphtherie-achtigen rein te kweeken, welke achtereenvolgens met behulp van het schema van *K. Pesch* zijn gedetermineerd.

Al deze bacillen waren onbeweeglijke, Gram positieve staafjes, met meer of minder duidelijke poolkorreling, gelatine niet vervloeiend; geen indol vormend; facultatief aëroob of anaëroob; melk onveranderd latend.

Als voedingsbodem gebruikte ik versch gegoten platen van:

a. Löffler-serum.

b. Bloedagar.

5 dl. tot 45 ° afgekoelde, vloeibaar gemaakte agar, 2 dl. steriel schapenbloed.

c. Serumagar.

1 dl. serum, 4 dl. agar.

d. Agar.

Kleuring van den bacil geschiedde volgens Neisser.

De uitstrijkpreparaten werden gekleurd in versch bereide Neissersche vloeistof.

Hoe voortreffelijk de Löffler-serumplaat ook moge zijn, voor het isoleeren van den humanen bacil, welke daarop goed groeit en door de verontreinigers uit de menschenkeel als regel niet overwoekerd wordt, voor het reinkweeken uit de kippenkeel is ze minder verkieslijk, omdat de aanwezigheid van lucht- en bodemkiemen tot vervloeiïng aanleiding geeft. Bovendien blijken de diphtherie-achtigen geen bepaalde voorkeur voor deze plaat te hebben en groeien even goed op de algemeen gebruikelijke media.

Voor het winnen van diphtheroiden bezigde ik dan ook af en toe gewone agarplaten. Het meeste succes had ik echter met bloedagar-platen.

Slechts éénmaal gelukte het mij om na eerste uitzaaiïng op eene Löfflerplaat een reincultuur eener diphtheroide te

kweeken. Door den weligen groei van nagenoeg uitsluitend op diphtherie gelijkende koloniën dacht ik aanvankelijk den Bacil van Klebs-Löffler voor mij te hebben, welke meening bovendien werd versterkt door een microscopisch beeld van korte, slanke, uiterst fraai gekorrelde staafjes, overwegend in palissaden-, L en V groepeering.

Eerst door het toepassen van meerdere differentieeringsmethoden ontpopte zich deze bacil in een diphtherie-achtige.

Diphtherie-achtige bacillen afkomstig uit diphtheriemembranen van de kip.

STAM I.

Afkomstig uit de diphtheritische keelmembranen van een den 14en Januari 1925 ter onderzoek aangeboden, gestorven kip met pokken op kam en lellen (vogelpokkendiphtherie).

Morphologie: Een korte, vrij slanke bacil; kolfvorming overwegend; vrij algemeene Neissersche korreling, palissaden en L groepeering. De korreling treedt op na 24 uur. Evolutievormen na 24 uur.

Cultuur: Op *Löffler-serum* geelachtig witte, vochtig glanzende, gewelfde koloniën; welige groei.

Op *bloedagar* als op Löffler-serum.

Op *serumagar* zeer spaarzame groei van fijne heldere koloniën.

In *bouillon* homogeen bezinksel, dun oppervlakte vlies, vloeistof licht troebel.

Suikervergisting:

maltose:	saccharose:	levulose:	dextrose:	lactose:	galactose:
—	—	±	++	—	±

Gramkleuring (volgens Langer) sterk positief.

Pathogeniteit voor cavia: C 691 op 3. 2. '25 subcutaan geïnfecteerd in de buikstreek met 1 c.c. 3 dagen oude, goed ge-

groeide bouilloncultuur. Na 14 dagen is de cavia nog volkomen gezond zonder verschijnselen van entoedeem te hebben vertoond. Zes maanden later wordt wederom geïnfecteerd met dezen stam bij cavia C *817* (subcutaan 1 c.c. 3 dagen oude bouilloncultuur). Geen reactie. Stam I is dus na langen tijd nog constant in zijne avirulentie, ondanks herhaaldelijk overenten op versche Löffler's serumplaten.

Toxinevorming: Niet aanwezig.

STAM II.

Afkomstig uit de keel van een haan, welke den 26. 5. '25 met een keelwatje (W 7) met menschelijk diphtheriemateriaal, na scarificatie van het keelslijmvlies, was geïnfecteerd.

Morphologie: Een fijn, zeer slank en lang gebogen staafje met prachtige poolkorreling en duidelijke palissaden V en L groepeering. Korreling treedt op na 18 uur.

Cultuur: Op *Löffler-serum,* grijswitte, vlakke, paarlmoerachtige, dof glanzende koloniën in velden. Groei matig.

Op *bloedagar,* koloniën meer verheven, witachtig, groei weliger.

Op *serumagar,* droog glanzende, blauwachtig doorschemerende koloniën, groei matig.

In *bouillon,* na 3 dagen een homogeen bodembezinksel; vloeistof licht troebel.

Suikervergisting:

maltose:	saccharose:	levulose:	dextrose:	lactose:	galactose:
+	—	+	+	—	—

Gramkleuring (volgens Langer): sterk positief.

Pathogeniteit: Cavia C 822 subcutaan geïnfecteerd in de buikstreek met 1 c.c. 3 dagen oude, goed gegroeide bouilloncultuur. Na 14 dagen nog volkomen gezond.

Toxinevorming: Niet aanwezig.

STAM III.

Afkomstig uit de keel van een haan, welke 24 uur te voren submukeus was geïnfecteerd met een sterk toxinischen humanen diphtheriestam (H 3) en dientengevolge 48 uur later succombeerde.

Morphologie: Korte, zwak gebogen, verspreid liggende bacillen met spaarzame korreling en veel kolven. De korreling treedt op na 48 uur. Weinig palissaden en V vormen.

Cultuur: Op *Löffler-serum* grijswitte, glanzende koloniën tot velden samenvloeiend. Koloniën niet duidelijk gescheiden. Groei zeer spaarzaam.

Op *bloedagar,* witte, vlakke koloniën, groei spaarzaam.

Op *serumagar,* fijne, speldeknopgroote, heldere koloniën, groei matig.

In *bouillon,* na 3 dagen een dun oppervlaktevlies, dat bij schudden bezinkt, vloeistof helder.

Suikervergisting:

maltose:	saccharose:	levulose:	dextrose:	lactose:	galactose:
+	—	±	+	±	+

Gramkleuring (Langer): Sterk positief.

Pathogeniteit: Cavia *C 828,* 13. 9. '25 subcutaan geïnfecteerd in de buikstreek met 1 c.c. 3 dagen oude bouilloncultuur vertoont geen spoor van reactie.

Toxinevorming: Niet aanwezig.

STAM IV.

Afkomstig uit een droog diphtheritisch kaakproces bij een kip. Deze kip was overigens volkomen gezond en leefde in een met humane diphtherie besmette omgeving. (Zie § 4 B sub c).

Morphologie: Een korte slanke bacil met prachtige, algemeene poolkorreling en sterk op den voorgrond tredende

palissaden V en L groepeering. De poolkorreling treedt op na 24 uur. Evolutievormen na 28 uur.

Cultuur: Op *Löffler-serum,* duidelijke, gele, vochtig glanzende, gewelfde koloniën; groei zeer welig.

Op *bloedagar,* grauwgrijze koloniën met heldere randzône; groei zeer welig.

Op *serum-agar,* witachtige, speldepuntgroote koloniën; groei goed.

In *bouillon,* na drie dagen een homogeen bodembezinksel; na 6 dagen een oppervlaktevlies; vloeistof helder.

Suikervergisting:

maltose:	saccharose:	levulose:	dextrose:	lactose:	galactose:
—	—	++	++	—	++

Gramkleuring (Langer): Sterk positief.

Pathogeniteit: Cavia *C 818,* 23. 7. '25 subcutaan geïnfecteerd in de buikstreek met 1 c.c. 4 dagen oude bouilloncultuur. Geen reactie.

Toxinevorming: Niet aanwezig.

STAM V.

Afkomstig uit de keel van een haan, welke den 6. 8. '25 submukeus werd geïnfecteerd met een sterk toxischen humanen bacil (H 7) en dientengevolge 2 dagen later succombeerde, nadat zich diphtheritische membranen op de entplaatsen hadden gevormd.

Morphologie: Een kort, plomp staafje, min of meer wigvormig, met vrij algemeene poolkorreling na 24 uur. Palissaden weinig op den voorgrond tredend. De bacil ligt meer in hoopjes bijeen.

Cultuur: Op *Löffler-serum,* grijswitte, vochtig glanzende, gewelfde koloniën, zeer veel overeenkomst vertoonend met echte diphtheriekoloniën; groei zeer welig.

Op *bloedagar*, welige groei van grauwgrijze koloniën.

Op *serumagar*, speldeknopgroote, witte koloniën, overeenkomend met coccenkoloniën; groei spaarzaam.

In *bouillon*, een vlokkig bezinksel; vloeistof troebel.

Suikervergisting:

maltose:	saccharose:	levulose:	dextrose:	lactose:	galactose:
±	—	++	+	—	±

Gramkleuring (Langer): Positief.

Pathogeniteit: Cavia *C 840* subcutaan geïnfecteerd met 1 c.c. 3 dagen oude bouilloncultuur; geen reactie.

Toxinevorming: Niet aanwezig.

STAM VI.

Afkomstig uit de keel van een gezonde kip, welke leefde in eene met humane diphtherie besmette omgeving. (Zie § 4 B sub c).

Morphologie: Een middel-lang tot kort, vrij plomp staafje met vrij algemeene poolkorreling en karakteristieke groepeering //// L V. Poolkorreling treedt op na 48 uur.

Cultuur: Op *Löffler-serum*, slecht groeiend als een dun beslag van dunne, *gele*, vochtig glanzende koloniën, welke tot velden ineenvloeien.

Op *bloedagar*, groei intensiever, gelig wit.

Op *serumagar*, matig groeiend als heldere speldepuntgroote koloniën.

In *bouillon*, vlokkig bezinksel, vloeistof licht troebel.

Suikervergisting:

maltose:	saccharose:	levulose:	dextrose:	lactose:	galactose:
—	—	+	++	—	±

Gramkleuring (Langer): Gram positief.

Pathogeniteit: Cavia C *834* 26. 9. '25 subcutaan geïnfecteerd met 1 c.c. 3 dagen oude bouilloncultuur; geen reactie.

Toxinevorming: Niet aanwezig.

STAM VII.

Afkomstig uit de gezonde keel van eene kip, welke leefde in eene met humane diphtherie besmette omgeving. (Zie § 4 B sub c).

Morphologie: Een middel-groot, tot kort, vrij grof staafje met zeer spaarzame poolkorreling en op den voorgrond tredende kolfvorming. Palissaden V en L groepeering aanwezig.

Cultuur: Op *Löffler-serum,* matig groeiend als vlakke, droge, paarlmoerachtig glanzende koloniën.

Op *bloedagar,* matig groeiend als witte, meer verheven, vlakke koloniën.

Op *serumagar,* beslag van zeer fijne, transparante koloniën.

In *bouillon,* een oppervlaktevlies en homogeen bezinksel; vloeistof helder.

Suikervergisting:

maltose:	saccharose:	levulose:	dextrose:	lactose:	galactose:
+	+	+	++	—	+

Gramkleuring (Langer): Sterk positief.

Pathogeniteit: Cavia C *691* 5. 4. '26 subcutaan geïnfecteerd met 1 c.c. 3 dagen oude bouilloncultuur; geen reactie.

Toxinevorming: Niet aanwezig.

STAM VIII.

Afkomstig uit een diphtheritisch kaakproces van een haan, welke kunstmatig met vogelpokken was geïnfecteerd.

Morphologie: Een middel-lang tot kort staafje met weinig poolkorreling en veel kolfvorming. Poolkorreling na 48 uur

gering. De bacil ligt in groepjes en minder palissadengewijs.

Cultuur: Op *Löffler-serum,* een dun, duidelijk *geel* getint beslag van vochtige, ineenvloeiende, vlakke koloniën.

Op *bloedagar,* matige groei van witachtige koloniën ter grootte van een speldeknop.

Op *serumagar,* matige groei van speldeknopgroote heldere koloniën.

In *bouillon,* een dun oppervlaktevlies en homogeen bezinksel; vloeistof licht troebel.

Suikervergisting:

maltose:	saccharose:	levulose:	dextrose:	lactose:	galactose:
±	—	++	±	—	±

Gramkleuring (Langer): Positief.

Pathogeniteit: Cavia *C 78* 2. 5. '26 subcutaan geïnfecteerd met 1 c.c. 3 dagen oude bouilloncultuur; geen reactie.

Toxinevorming: Niet aanwezig.

Van deze acht diphtheroïden kunnen er aan de hand van het systeem Pesch 3 worden gerekend tot groep 5 als kleurstofvormers, n.l. de stammen IV, VI en VIII.

Twee waren te brengen onder groep 6 door hunne droge, matglanzende koloniën, n.l. de stammen II en VII. Stam I vormde een overgang naar de groep der pigmentvormers door zijn geelwitten groei op Löffler-serum.

De stammen III en V kunnen op grond van hunne herkomst uit de vogelkeel eveneens onder groep 6 worden gebracht.

Entoedeem, zooals injectie van pseudo- en parastammen af en toe bij de cavia kan veroorzaken, werd bij deze 8 diphtheroiden niet waargenomen.

Morphologisch en biologisch staan zij echter veel dichter bij den humanen bacil dan de pseudo-diphtheriebacil, die geen poolkorreling bezit en geen enkele suiker vergist.

Tal van onderzoekers hebben dus met meer of minder succes

den Bacil van Klebs-Löffler in diphtheriemembranen van de vogelkeel kunnen aantoonen.

Dit is mij niet gelukt na een systematisch onderzoek van 48 diphtheritische vogels.

Met betrekking tot de verlammingsverschijnselen, door *Formad, Ferré* e.a. — na infectie met op den diphtheriebacil gelijkende staafjes bij konijn, cavia en verschillende vogelsoorten — waargenomen, zij opgemerkt, dat *Löffler*, als ontdekker van den humanen diphtherieverwekker, bij zijn proefdieren nooit paralysen na het overleven eener kunstmatige infectie met den Bacil van Klebs-Löffler waarnam.

Eerst door de onderzoekingen van *Beck, Tangl, Spronck, Yersin, Brieger, C. Fraenkel* e.a. werd aangetoond, dat deze verschijnselen wel degelijk bij genoemde proefdieren kunnen optreden, zij het ook beperkt tot de extremiteiten.

De ontdekking van het voor den diphtheriebacil pathognomonische sectiebeeld bij de cavia heeft de aandacht voor deze paralysen doen verflauwen.

Verlammingen bij kleine laboratoriumdieren, veroorzaakt door infectie met op den diphtheriebacil gelijkende staafjes, zouden op bovengenoemde gronden als bewijs kunnen gelden voor de identiteit van dezen met den Bacil van Klebs-Löffler. Bij de beoordeeling dezer verlammingsverschijnselen dient men echter rekening te houden met het feit, dat kleine proefdieren, indien zij lang in observatie blijven en eenzijdig gevoed worden, aan avitaminosen kunnen gaan lijden, welke met verlammingen gepaard gaan.

§ 3. DIPHTHERIEBACILLEN EN DIPHTHERIE-ACHTIGE BACILLEN ALS DIPHTHERIE-VERWEKKERS BIJ DE KIP.

A. Inleiding.

Verschillende onderzoekers hebben getracht door infectie met diphtheriemembranen of met diphtheriebacillen, afkomstig

van den mensch, diphtherie te verwekken bij kleine proefdieren en vogels.

In de enkele gevallen, waarin het gelukte den diphtheriebacil te isoleeren uit keelmembranen van de kip, bepaalde men zich meestal tot het vaststellen van de morphologische en cultureele gelijkenis en tot het doen van infectieproeven bij konijn en cavia.

Slechts Rappin, De Jong en Bakker gingen verder en infecteerden ook kippen en duiven met den gevonden bacil.

B. Eigen onderzoek.

Doel van het onderzoek was om na te gaan of de *„Bacil van Klebs-Löffler* en *„diphtherie-achtigen"* tot de vorming van diphtheritische keelprocessen bij de kip aanleiding kunnen geven.

Daartoe werden infectieproeven verricht met:

1. *oorspronkelijk diphtheriemateriaal van den mensch;*
2. *reinculturen van den diphtheriebacil en zijne toxinen;*
3. *reinculturen van verschillende diphtherie-achtige bacillen.*

a. Infectieproeven met oorspronkelijk diphtheriemateriaal van den mensch.

Literatuur.

Als een merkwaardigheid zij hier vermeld, dat de bekende Fransche diphtherie-onderzoeker *Trousseau* en na hem nog tal van anderen, op zichzelve en hunne leerlingen infectieproeven verrichtten op gehemelte en tonsillen, zelfs na voorafgaande scarificatie, met membraanstukjes van echte diphtherielijders, en daarvan geen nadeelige gevolgen ondervonden.

Vreemd daartegenover staan de vroeger herhaaldelijk waargenomen, vaak doodelijke infecties van artsen, door aspiratie van membraansubstantie, tijdens tracheotomie van een patiënt.

Door *Trendelenburg* en *Ortel* werd langs den weg van het slijmvlies getracht eene infectie te veroorzaken. *Trendelenburg* infecteerde 52 dieren, meest konijnen, doch ook enkele duiven.

Zijn materiaal bestond uit membranen van pas getracheotomiseerde diphtherielijders of van diphtherielijken. Meestal deed hij vooraf tracheotomie bij de konijnen en infecteerde daarna op de mucosa van de trachea.

In 11 gevallen zag hij membraanvorming in de trachea optreden in den vorm van eilandsgewijze, vlakke, grauwwitte membranen, op sommige plaatsen ringvormig het geheele slijmvlies bedekkend. Infectie in de keelholte gelukte hoogst zelden en een descendeerende „croupe" nam hij daarbij nooit waar. Het diphtherische proces kenmerkte zich door een zuiver locaal karakter; neiging tot uitbreiding werd niet opgemerkt.

Merkwaardig noemde *Trendelenburg* den verschillenden uitslag bij dezelfde infectie modus. Werden bijvoorbeeld vier even groote konijnen op dezelfde wijze met hetzelfde materiaal geïnfecteerd, dan kwam het vaak voor, dat het eene onder alle verschijnselen van diphtherie ziek werd en na den dood duidelijke membraanvorming te zien gaf, terwijl het tweede slechts ecchymosen op de mucosa; het derde een ernstige catarrh kreeg en het vierde geen enkel ziekteverschijnsel vertoonde. De membranen waren tot 1 mm. dik, taai, grauwwit; in andere gevallen week en papierdun, maar toch in hun geheel van het onderliggende weefsel te scheiden. De mucosa was steeds sterk hyperaemisch en met ecchymosen bezaaid en het geheele proces kwam in 2—3 maal 24 uur tot stand. Bij positieve reactie vertoonden de proefdieren steeds min of meer dyspnoïsche verschijnselen en bijna allen kregen bij de tracheotomie-wond een abces met roomachtige pus gevuld.

Ortel zag bij zijne onderzoekingen analoge verschijnselen, doch verkreeg betere membraanvorming, eens zelfs tot voorbij de bifurcatie van de trachea benedenwaarts en tot in de keel bovenwaarts voortschrijdend. Ook *Rosenbach* kreeg soortgelijke resultaten.

Ebert en *Nassiloff* beschouwden eene door cornea-infectie met membraansubstantie bij het konijn verkregen keratitis in zekeren zin als specifiek voor diphtherie. *Schwenninger* heeft deze proeven door eigen onderzoekingen gecontroleerd en

kwam tot de conclusie, dat door infectie met diphtherisch materiaal van den mensch bij dieren geen proces kan worden veroorzaakt, dat als specifiek voor deze ziekte is op te vatten. Hij deed hoofdzakelijk cornea-infecties. Wat men te zien krijgt, nl. muco purulente belegsels, entulcera, beperkte necrose enz. ziet men — volgens hem — even goed optreden indien men pyaemisch materiaal gebruikt. Van belang is de mededeeling, dat hij wel een reactie kreeg als hij bij infectie van de keelholte van te voren het slijmvlies laedeerde.

Aan mijn voornemen om deze infectieproeven te verrichten met membranen van den mensch heb ik geen gevolg kunnen geven.

Omdat tegenwoordig reeds in verdachte gevallen, meestal vóór de vorming van membranen tot toediening van diphtherieserum wordt overgegaan, worden zij langzamerhand eene zeldzaamheid.

Als oorspronkelijk materiaal heb ik mij van keelwatjes moeten bedienen, afkomstig van patiënten bij wien het bacteriologisch onderzoek op diphtheriebacillen aan het Centraal Laboratorium te Utrecht positief was.

Uit een vijftal van deze watjes W2, W3, W4, W5 en W7 kon ik een echten diphtheriebacil isoleeren. Uitsluitend deze vijf watjes werden voor bovengenoemde infectieproeven gebezigd.

Met elk dezer keelwatjes werden twee hanen geïnfecteerd en wel de eene door afwrijven van het watje op het vooraf geërodeerde keelslijmvlies; de andere zonder scarificatie, doch gevolgd door ingestie van het virus, d.w.z. dat het geheele watje met een klein pincet zoo ver mogelijk in den slokdarm werd geschoven.

Infectieproeven met W2.

26. 6. '25 *K. 321* na scarificatie: geen reactie. (gedurende drie weken).

26. 6. '25 *K. 322* zonder scarificatie, met ingestie.

Den 7. 7. '25 vertoonde deze haan een klein diphtheritisch stolsel, dat zich los in de larynxspleet bevond en eenige omschreven donkerroode vlekjes op het slijmvlies naast den tongbasis. Den 15. 7. '25 was het geheele mond-keelslijmvlies bezaaid met speldeknopgroote, half bolvormige, witte verhevenheden, welke eene kaasachtige substantie bevatten en waarin microscopisch geen diphtheriebacillen te zien waren. Het dier vertoonde vermagering, apathie en geringe eetlust. Na verwijdering van het diphtheritisch stolsel uit den larynx werden geen verdere diphtheritische processen meer gevormd en den 28. 7. '25 trad de dood in. Bij de sectie bleek het ziekteproces in de keelholte zich te hebben uitgebreid tot ver in den slokdarm. In den conjunctivaalzak bevond zich ingedikt oogvocht. De nieren waren geelachtig rose getint en wit geaderd (gemarmerd).

Dit lijden bleek in geen enkel verband te staan met de voorafgegane infectie en werd herkend als de door Beach en Freeborn in 1922 beschreven: *„Nutritional disease resembling roup"*, welke door hen wordt toegeschreven aan eenzijdige voeding, n.l. groenvoedselhonger.

Infectieproeven met W3.

26. 6. '25 K. 324 na scarificatie; geen reactie.

26. 6. '25 K. 323 zonder scarificatie, met ingestie; geen reactie.

Infectieproeven met W4.

26. 6. '25 K. 326 na scarificatie; geen reactie.

26. 6. '25 K. 320 zonder scarificatie, met ingestie; geen reactie.

Infectieproeven met W5.

26. 6. '25 K. 327 na scarificatie. Den 27. 6. '25 vertoont deze haan een doffe, grijswitte plek op de entplaats, welke 3 dagen later is verdwenen. Algemeene gezondheidstoestand niet gestoord.

26. 6. '25 K. 325 zonder scarificatie met ingestie; geen reactie.

Infectieproeven met W7.

26. 6. '25 K. 319 na scarificatie; geen reactie.

26. 6. '25 K. 328 zonder scarificatie, met ingestie; geen reactie.

De ingestieproeven met keelwatjes verrichtte ik met het oog op de in de literatuur aangehaalde gevallen van besmetting van verschillende diersoorten, door het verzwelgen van membranen en andere uitscheidingsproducten van diphtherielijders.

Zoo zag *Rossi* in 1872 een hazenwindhond sterven onder verschijnselen van diphtherie, 4 dagen na het verzwelgen van de excrementen van een aan diphtherie gestorven kind. Bij de sectie vertoonde deze hond karakteristieke membraanvorming in de keel.

Nesti nam een analoog geval waar bij een hond, welke vier dagen van te voren speeksel had opgelikt van een diphtherisch kind.

Türner en *Jacob* zagen diphtheritische verschijnselen bij een kat, welke braaksel van een diphtherisch kind had opgelikt.

Bruce Lew zag een kat zich op dezelfde wijze infecteeren en daarna een vijftal meisjes besmetten, die hem verpleegden.

In 1860 beschreef *Sanderson* een geval van besmetting van drie zeugen, door het verzwelgen van dejecten en excrementen van diphtherielijders. Deze dieren stierven snel en vertoonden bij de sectie membraanvorming in de keel en zwelling van de regionnaire lymphklieren.

Delthil zag kippen aan diphtherie sterven, nadat zij aan braaksel en bevuild linnengoed van een diphtherisch kind hadden gepikt.

Teissier zag een dergelijk geval bij een haan, welke bloed en membranen had opgepikt van een pas getracheotomiseerden patiënt.

Trendelenburg en anderen hebben dus diphtheritische membranen bij konijnen en enkele duiven kunnen opwekken door intratracheale infectie met membraansubstantie.

Neiging tot uitbreiding of generaliseering van het kunstmatig verkregen ziekteproces hebben zij echter niet gezien en de algemeene ziekteverschijnselen waren van weinig beteekenis.

Trendelenburg brengt speciaal naar voren hoe verschillend de uitslag eener gelijke infectie bij verschillende proefdieren kan verloopen, zonder daarvoor eene verklaring te kunnen vinden. Voortschrijding der diphtherische processen in de mond-keelholte nam hij nimmer waar.

Hoewel deze onderzoekers werkten met zeer virulent materiaal (membranen van lijken en pas getracheotomiseerde patiënten) was de uitslag hunner infectieproeven niet voldoende overtuigend om daaruit de vatbaarheid van de proefdieren voor den diphtheriebacil te kunnen concludeeren.

Dat mijn eigen infectieproeven met oorspronkelijk diphtheriemateriaal negatief verliepen acht ik verklaarbaar uit het feit, dat bovengenoemde onderzoekers, die met zeer virulent materiaal infecteerden — bij kippen zoo ook bij andere kleine diersoorten — slechts geringe, vaak in het geheel geen membraanvorming zagen optreden.

De zooeven genoemde gevallen van spontane infectie van zoogdieren en vogels door het verorberen van diphtheriemembranen van den mensch zijn uit een klinisch oogpunt interessant. Hun aantal is echter zeer beperkt en als overtuigend bewijs voor het diphtherie verwekkend vermogen van den bacil voor zoogdieren en kippen kunnen zij moeilijk gelden.

b. Infectieproeven met den Bacil van Klebs-Löffler en zijne toxinen.

Literatuur.

Henke (1896) bestudeerde het diphtherie verwekkend vermogen van den bacil bij verschillende diersoorten, onder andere bij hond, kat, konijn, duif en kip. Hij infecteerde als regel met 2 dagen oude serumculturen in larynx en trachea.

Bij honden en konijnen deed hij daartoe vooraf tracheotomie. Dit was bij vogels overbodig, omdat men bij voldoende

opensperren van den bek, het virus door den larynx gemakkelijk in den vooraf lichtelijk geërodeerden trachea kon brengen. Bij konijnen kon hij langs dezen weg duidelijke diphtheriemembranen opwekken, — soms reeds na 18 uur, — welke neiging tot uitbreiding vertoonden en in enkele gevallen tot stikkingsverschijnselen aanleiding gaven. Bij duiven waren de resultaten minder goed en vaak nauwelijks meer dan eene lichte mucopurulente catarrh. In enkele gevallen werd een witachtig membraantje gevormd.

Van vijf — op dezelfde wijze als de duiven — geïnfecteerde kippen zag hij bij twee, na 8—10 dagen eene omschreven, vrij dikke, gele membraan optreden, die hoog boven het slijmvliesniveau uitstak en tot stenose verschijnselen aanleiding gaf. De bacil was in deze membranen terug te vinden.

Een zeker percentage kippen reageerde niet merkbaar op kunstmatige infectie met den Bacil van Klebs-Löffler. Een ander vertoonde uitsluitend locale reacties in de keel zonder op den voorgrond tredende algemeene ziekteverschijnselen. Verlammingen nam ook Henke niet waar. Deze werden echter wel weer geconstateerd door vroegere onderzoekers, Brieger, Fraenkel.

Basset (1925) infecteerde kippen submukeus met diphtheriecultuur in den conjunctivaalzak en zag daarbij enorme oedemen aan den kop optreden, zonder een spoor van membraanvorming.

Hij cauteriseerde bij een andere kip het gehemelte en de conjunctiva, waarna onder gebruik van groote hoeveelheden cultuur van diphtheriebacillen de gelaedeerde plaatsen werden geïnfecteerd. Aan het oog traden geen diphtheritische verschijnselen op. In den bek vormden zich een paar omschreven, witte, vlakke membraantjes, welke 6 dagen later waren verdwenen. Algemeene ziekteverschijnselen werden niet waargenomen. Vijf dagen na de infectie kon hij bacteriologisch den diphtheriebacil niet meer met zekerheid aantoonen.

„L'ensemble de ces observations prouve que le bacille de la diphtérie humaine n'est nullement pathogène pour la poule,

c'est à dire qu'il est incapable de s'y cultiver, de s'y multiplier", zegt *Basset.*

Onder verwijzing naar de in groep 1 § 2 sub A van dit hoofdstuk gegeven eigenschappen van de door *Rappin* (1911), *De Jong* (1915) en *Bakker* (1922) uit membranen van de kip geïsoleerde diphtheriebacillen, volgt thans eene korte beschrijving hunner infectieproeven bij kip en duif.

1. *Rappin* (1911) infecteerde meerdere kippen en kuikens met cultuur op het geërodeerde keelslijmvlies en zag bij één kip en één kuiken typische membraanvorming optreden.

Deze membranen breidden zich bij de kip zelfs uit tot den snavelcommissuur; bovendien werden de vogels apathisch, vervolgens min of meer paralytisch en succombeerden tenslotte. De ingebrachte bacil kon zonder moeite in de membranen worden teruggevonden.

2. *De Jong* (1915) infecteerde 4 kippen, waarvan 3 submukeus in de keelholte en 1 submukeus in den conjunctiva. Eén dezer kippen stierf na 23 dagen met diphtheritische belegsels in de keel, larynx en op den snavelrand. Een tweede kip vertoonde na 31 dagen ademnood en diphtheritische membranen op de entplaats, doch genas. De beide andere kippen bleven gezond. In membraanculturen der geïnfecteerde kippen kwamen bacillen voor met Neissersche korreling. Een gehemeltemembraancultuur was zelfs een reincultuur van diphtheriebacillen.

3. *Bakker* (1922) infecteerde drie kippen in de keel, na scarificatie, met 24 uur oude bouilloncultuur. Bij twee dezer trad na 6 dagen dofheid van het slijmvlies op tot ver over de entplaats en een van hen kreeg een 5 mm. groot entulcus. Deze kippen vertoonden vochtgeruischen bij de ademhaling en massa's diphtheriebacillen in de keel.

De derde kip vertoonde niets en de ingebrachte diphtheriebacillen konden niet worden teruggevonden.

Uit de keel van de kip met het ulcus kon na eenige overentingen een reincultuur van diphtheriebacillen worden gewonnen, welke een cavia na 48 uur doodde onder verschijnselen van diphtherie.

Mijne voor infectieproeven gebezigde diphtheriestammen H2, H3, H4, H5 en H7 werden geïsoleerd uit de keelwatjes W2, W3, W4, W5 en W7 (zie § 3 B sub a).

Door middel van eene immuniteitsproef werd de identiteit dezer bacillen nader bevestigd. Dit geschiedde aldus: Gelijktijdig met de subcutane infectie van ¼ c.c. bouilloncultuur aan de linker dijvlakte eener cavia, werd rechts 1 c.c. diphtherieserum toegediend.

Het resultaat was als volgt:

Stam H2, welke cavia C 803 in 24 uur doodde, onder typische diphtherieverschijnselen, bleek daartoe bij cavia C 820 op de boven aangegeven wijze geïnfecteerd niet in staat. Wel vormde zich locaal oedeem op de plaats van injectie en traden lichte algemeene ziekteverschijnselen op, doch na drie dagen was het dier weer gezond met als eenige herinnering aan deze infectie een erwtgroote induratieve zwelling, welke drie dagen later was verdwenen.

Stam H3, welke cavia C 797 na drie dagen doodde, onder typische diphtherieverschijnselen, gaf thans geen reactie bij cavia C 826.

Stam H4, welke cavia C 802 na 17 dagen doodde, onder plaatselijke necrose van de huid en verschijnselen van cachexis zonder de typische hyperaemie van de bynieren, was thans voor cavia C 823 volkomen onschuldig.

Stam H5, welke zwak virulent was voor cavia C 804, gaf geen reactie bij cavia C 821, terwijl de voor cavia C 795 sterk virulente *stam H7* (hyperaemie van de bynieren) bij deze

immuniteitsproef slechts tot het verwekken van een gering locaal oedeem en lichte ziekteverschijnselen bij cavia C 827 in staat was.

Van deze 5 humane stammen waren er 3 virulent: H2, H3 en H7 en 2 zwak virulent: H4 en H5. De hiermede uitgevoerde infectieproeven bij kippen geschiedden:

a. na scarificatie op het keelslijmvlies met in 3—5 dagen oude, goed gegroeide bouilloncultuur gedrenkte watjes;

b. door afwrijven van watjes besmet met Löffler-serumcultuur op het intacte keelslijmvlies, waarna het gebezigde watje in den slokdarm werd gebracht (ingestie);

c. door submukeuze injectie van een ½ c.c. bouilloncultuur links en rechts van de gehemeltespleet;

d. door diphtherieserumcultuur met een fijnen, glazen spatel te brengen in larynx en trachea (methode Henke).

a. Infectieproeven na scarificatie met bouilloncultuur.

Stam H2 *K. 360* 14. 7. '25. Geen reactie.

Stam H3 *K. 323* 20. 7. '25. Geen reactie.

Stam H4 *K. 326* 20. 7. '25. Geen reactie.

Stam H5 *K. 325* 22. 7. '25. Na 24 uur vormen zich op de gescarificeerde plekken twee uiterst smalle (1 m.m.) circa drie m.m. lange witte membraantjes, welke 24 uur later weer verdwenen zijn.

Stam H7 *K. 328* 22. 7. '25. Na 48 uur, vorming van twee uiterst smalle, witte membraantjes, welke na 24 uur zijn verdwenen.

b. *Infectieproeven zonder scarificatie*, met *ingestie* (Löffler-serumcultuur).

Stam H2 *K. 361* 14. 7. '25, Na 48 uur twee smalle, streepvormige membraantjes, 24 uur later zijn deze verdwenen.

Stam H3 *K. 321* 20. 7. '25. Geen reactie.

Stam H4 *K. 324* 20. 7. '25. Na 48 uur hebben zich twee kleine, ovale entulcera gevormd, welke den 24. 7. '25 zijn genezen.

Stam H5 *K. 320* 22. 7. '25. Geen reactie.

Stam H7 *K. 327* 22. 7. '25. Na 48 uur, vorming van een smal streepvormig membraantje links, dat 24 uur later is verdwenen.

c. Infectieproeven door submukeuze injectie (½ c.c. bouilloncultuur links en rechts van de gehemeltespleet).

Stam H2.

K. 379 geïnfecteerd 1. 8. '25.

2. 8. '25. Uitwendig is een duidelijke zwelling van keel en ondersnavelstreek zichtbaar. De stem is heesch. In de keel zwelling op de injectieplaats; links en rechts van de gehemeltespleet geribde, gele dihtheriemembranen van ½ bij 1½ cm. Gezondheidstoestand niet gestoord.

3. 8. '25. De diphtheriemembranen zijn grooter geworden en reiken thans van den snavelcommissuur tot voorbij den larynx en zijn ongeveer 1 c.m. breed.

4. 8. tot 6. 8. '25. Membranen beginnen los te zitten en worden donkerbruin. De linkermembraan wordt gemakkelijk afgestreken, waardoor eene granulatievlakte bedekt met jong epitheel zichtbaar wordt.

10. 8. '25. Rechter membraan verdwenen, een lange, vlakke granulatie achterlatende.

17. 8. '25. Keelslijmvlies normaal, zwelling van keel en ondersnavelstreek verdwenen.

Stam H3.

K. 380 geïnfecteerd 1. 8. '25.

2. 8. '25. Het dier is ernstig ziek, zit in elkaar gedoken, kam en lellen zijn cyanotisch. Enorme zwelling van kop en keelstreek, kam en lellen zijn oedematisch verdikt, de oogleden gezwollen en de oogen gesloten. De bek is half geopend en er ontlast zich slijmige uitvloeiïng uit snavel en neusgaten. In de keel hebben zich dikke diphtheriemembranen in de omgeving der entplaatsen gevormd, ver naar achter voortschrijdend en

zijwaarts de wangvlakten bedekkend. 's Avonds is het dier moribund.

3. 8. '25. Gestorven.

Sectie: Op de serosae van borst- en buikorganen talrijke donkerroode bloedingen. Uitgebreide bloedingen op peri- en epicard; longen hyperaemisch, niet gezwollen; lever zeer donker getint en een weinig gezwollen. Inwendige organen steriel.

K. 388 geïnfecteerd 6. 8. '25.

7. 8. '25. Het dier is soporeus, zit ineengedoken, reageert niet op het aanpakken en steunt de punt van den snavel op den bodem van de kooi. Piepende en reutelende ademgeruischen zijn de eenige teekenen, dat het nog in leven is. In de keelholte beginnende membraanvorming, welke zich door witte verkleuring van het slijmvlies aankondigt. Op de entplaatsen 1—2 c.m. groote, ronde, gele, diphtheriemembranen. Er bestaat geen oedemateuze zwelling van den kop.

8. 8. tot en met 10. 8. '25. Toestand van depressie blijft bestendig. Mond- en keelholte zijn thans over de geheele oppervlakte bedekt met diphtheriemembranen.

11. 8. tot en met 18. 8. '25. De algemeene toestand wijzigt zich ten gunste. Het dier wordt levendiger. Loopt af en toe door de kooi en neemt voedsel op. Paralysen worden niet waargenomen. De membranen in de keelholte verschrompelen en verkleuren en den 20. 8. '25 is nog slechts een klein rond membraantje aan de linkerzijde over. Het dier eet en drinkt goed en is den 24. 8. '25 volkomen hersteld.

Stam H4.

K. 381 geïnfecteerd 1. 8. '25.

2. 8. '25. Gezondheidstoestand niet gestoord. In de keel mooie omschreven diphtheriemembranen op de entplaatsen, welke zich als geribde, gele, dunne linten uitstrekken van den snavelcommissuur tot aan den larynx en ongeveer 1 c.m. breed zijn. Het dier is heesch en laat reutelende geruischen hooren.

3. 8. '25 tot en met 5. 8. '25. Toestand stationnair.

6. 8. '25. De membranen zijn minder adhaerent aan het onderliggende weefsel, verschrompelen en verkleuren.

6. 8. '25. De linker membraan is verdwenen, rechts is nog een membraangedeelte aanwezig.

15. 8. '25. Gezondheidstoestand normaal. In de keel zijn geen afwijkingen meer te zien.

Stam H5.

K. 382 geïnfecteerd 1. 8. '25.

2. 8. '25. Gezondheidstoestand niet gestoord. In de keel twee mooie diphtheriemembranen, welke als geribde linten loopen van den snavelcommissuur tot aan den larynx. De stem is heesch en het dier laat vochtige ademhalingsgeruischen hooren.

3. 8. tot en met 7. 8. '25. Langzame verschrompeling en verkleuring der diphtheriemembranen.

10. 8. '25. Beide membranen verdwenen, ter plaatse bevindt zich eene vlakke, gezonde granulatie, welke den 14. 8. '25 niet meer terug te vinden is.

K. 384 geïnfecteerd 1. 8. '25.

2. 8. '25. Gezondheidstoestand niet gestoord. In de keel twee diphtheriemembranen op de entplaatsen; heeschheid en ademhalingsgeruischen.

3. 8. tot en met 6. 8. '25. Langzame verschrompeling en verkleuring der diphtheriemembranen.

10. 8. '25. Linker membraan verdwenen, rechter nog aanwezig als een bruin-gele, verschrompelde, kaasachtige massa.

12. 8. '25. Rechter membraan verdwenen.

14. 8. '25. Granulaties niet meer te vinden.

21. 8. '25. Afgemaakt.

Stam H7.

K. 383 geïnfecteerd 1. 8. '25.

2. 8. '25. Ernstige ziekteverschijnselen, heeschheid, vochtgeruischen, snavel half geopend, slijmige uitvloeiïng uit bek en neusgaten. Kop, hals en keelstreek zijn ballonvormig ge-

zwollen. Het zachte gehemelte sluit den keelgang nagenoeg geheel af. De geheele mond- en keelholte is bedekt met een melkwit beslag, dat zich op de entplaatsen tot een twee c.m. lang en één c.m. breed diphtheriemembraan verdikt. Oogen gesloten door oedeem van de oogleden, kam en lellen oedemateus gezwollen.

3. 8. '25. Gestorven.

Sectie: Serosae van borst- en buikorganen bezaaid met petechien en ecchymosen. Peri- en epicard nagenoeg geheel donkerviolet door uitgebreide bloedingen. Longen zeer hyperaemisch. Milt niet gezwollen, normaal van kleur. Lever een weinig gezwollen, zeer donker getint. Nieren niet gezwollen; geen hyperaemie. Inwendige organen steriel.

K. 389 geïnfecteerd 6. 8. '25.

7. 8. '25. Enorme zwelling van kop en keelstreek. Oogen gesloten door oedemateuze zwelling van de oogleden. Slijmige uitvloeiïng uit de neusgaten en den half geopenden snavel, reutelende ademhalingsgeruischen, groote sopor. De lellen zijn oedemateus gezwollen. In mond- en keelholte ontstaat eene uitgebreide melkachtig witte verkleuring, welke op de entplaatsen in duidelijk membraanvorming overgaat.

8. 8. '25. De witte verkleuring is thans een geelachtig diphtheriemembraan geworden. De haan is iets vroolijker en reageert op aanroepen. De zwellingen aan den kop en de keelstreek zijn toegenomen.

10. 8. '25. Toestand stationnair, het dier beweegt zich moeilijk; laat den kop en de vleugels hangen en vermagert zienderoogen. Voedsel wordt niet opgenomen. Deze haan wordt voor verdere proefnemingen aangehouden tot hij den 15. 8. '25 sterft.

(Voor de lijkverschijnselen wordt verwezen naar § 4 B sub a.)

Tenslotte heb ik het effect van intraveneuze en subcutane infectie bij kippen nagegaan.

Intraveneuze infectie van ½ c.c. bouilloncultuur van den virulenten stam H7 in den vleugelader bij twee hanen veroorzaakte den dood na 36 uur, zonder verschijnselen van locaal oedeem of membraanvorming in de keel.

Bij de sectie vertoonden deze dieren — met uitzondering van enkele ecchymosen op het epi- en pericardium — geen orgaanafwijkingen.

Na subcutane infectie eener dubbele hoeveelheid dezer cultuurvloeistof in de buikstreek bij twee hanen vormde zich een erwtgroote verdikking op de injectieplaats, welke acht dagen bleef bestaan. Bovendien traden de eerste drie dagen na infectie lichte, algemeene ziekteverschijnselen op (gestoorde eetlust, doffe bevedering). Membraanvorming in de keel werd niet waargenomen (contrôle drie weken).

Intratracheale infectie bij vier hanen met groote hoeveelheden serumcultuur, door middel van een smalle spatel in den larynx gebracht, gaf geen aanleiding tot de vorming van membranen. Bij twee dezer hanen werd het tracheaalslijmvlies te voren geërodeerd. Voor deze infectieproef gebruikte ik de sterk pathogene stammen H3 en H7.

Immuniteitsproeven bij de kip.

Op overeenkomstige wijze als bij de cavia werden 5 hanen met de 5 verschillende diphtheriestammen submukeus in de keel geïnfecteerd, onder gelijktijdige toediening van 1 c.c. diphtherieserum in de borstspier.

Stam H2, welke oedemen en membranen na submukeuze keelinfectie bij de kip (K. 379) veroorzaakte, gaf thans geen reactie.

Stam H3, welke zeer heftige ziekteverschijnselen veroorzaakte (K. 380 en K. 388) (uitgebreid oedeem, membranen, dood na 24 uur), gaf thans lichte depressieverschijnselen,

vochtgeruischen en vorming van omschreven diphtheriemembranen te zien.

De zwak virulente *stam H4* (K. 381) gaf thans geen infectiebeeld, evenmin als *stam H5* (K. 382 en K. 385).

De sterk virulente *stam H7*, welke een kip (K. 383) in 24 uur doodde, onder enorme oedeem- en membraanvorming, bleek thans slechts in staat tot het verwekken van een klein diphtheriemembraan, gepaard aan lichte ziekteverschijnselen.

Ter contrôle infecteerde ik twee hanen K. 410 en K. 411 met eene dosis van ¼ c.c. onverdunde diphtherietoxine, submukeus in de keel, van welke K. 411 onder gelijktijdige toediening van 1 c.c. diphtherieserum in de borstspier.

a. K. 410 geïnfecteerd 7. 9. '25.

7. 9. '25. Gestorven na 18 uur.

Sectie: Geen zwellingen aan den kop, of membraanvorming in de keel. In de keelholte veel ingedikt slijm. De serosae van maag en darmen bezaaid met donkerroode, groote en kleine bloedingen. Peri- en epicard bezaaid met ecchymosen. Milt een weinig gezwollen, zeer donker getint. Nieren licht hyperaemisch, niet gezwollen. Longen hyperaemisch. Lever een weinig gezwollen.

b. K. 411 geïnfecteerd 7. 9. '25 onder gelijktijdige toediening van 1 c.c. specifiek anti-serum.

8. 9. '25. Geringe depressieverschijnselen, vochtgeruischen in de keel, zwelling van kop, lellen en oogleden. Op de injectieplaats in de keel mooie 1—2 c.m. groote diphtheriemembranen. Eetlust gestoord.

10. 9. '25. Oogen gesloten, membranen voortgeschreden tot achter in de keel; snavel half geopend, uitvloeiïng uit bek en neusgaten; zwellingen aan den kop stationnair.

13. 9. '25. Toestand vooruitgaande. Het dier is opgestaan, loopt traag door het hok en heeft een atactischen gang. Geen paralysen, vleugels goed aangesloten.

15. 9. '25. De membranen verschrompelen, laten los en zijn den 24. 9. '25 verdwenen. Het dier is dan weer volkomen gezond.

Henke is er dus in geslaagd om door intratracheale infectie met diphtheriecultuur, met en zonder voorafgaande erosie van het slijmvlies, een diphtheritisch proces van eenigen omvang in de trachea bij vogels (kip en duif) te veroorzaken.

Mijn eigen pogingen faalden. *Henke* geeft echter aan, dat het resultaat zijner infectieproeven zeer wisselend was en hij in meerdere gevallen geen reactie zag optreden. Infecties in de mond- en keelholte werden blijkbaar door hem niet verricht.

Dit geschiedde wel door *Rappin* en *Bakker*, welke vooraf het slijmvlies scarificeerden. Rappin zag membranen optreden, welke zich uitbreidden, Bakker verkreeg niet meer dan een entulcus, waarin de bacil was terug te vinden; terwijl de bacil van den laatste toch zeer virulent was en een cavia in 48 uur doodde.

Mijn eigen infectieproeven op het intacte en gescarificeerde keelslijmvlies verliepen allen negatief. Ook *Basset* infecteerde in de mond- en keelholte van de kip en zag daarna eene kortstondige, oppervlakkige membraanvorming.

De Jong infecteerde submukeus in de keelholte en zag na 23 respectievelijk 31 dagen bij twee kippen diphtherieverschijnselen (met membraanvorming) optreden. Zijn bacil was zwak virulent.

Dit is niet in overeenstemming met de resultaten, welke ik zelf door submukeuze infectie van den diphtheriebacil in de kippenkeel heb verkregen en waarbij oedemen, al of niet gepaard aan zeer duidelijke membraanvorming, afhankelijk van de toxiciteit van den bacil, **binnen 48 uur** optraden.

De diphtherieverschijnselen, welke bij de proefkippen van *De Jong* eerst 3—4 weken na infectie optraden, wijzen mijns inziens meer in de richting eener toevallige besmetting met vogelpokkenvirus, welke tot de kunstmatige infectie met den geïsoleerden bacil in geenerlei verband stond.

Voor mijne opvatting meen ik steun te mogen zoeken in het resultaat van de submukeuze conjunctivaalinfectie, welke *Basset* met een sterk toxischen diphtheriebacil bij eene kip verrichtte en waarbij de dood binnen 48 uur volgde, onder vorming van enorme oedemen aan den kop.

Uit deze infectieproeven is gebleken, dat door submukeuze infectie in de mond- en keelholte — dus onder voor den diphtheriebacil bijzonder gunstige omstandigheden — diphtheriemembranen bij de kip zijn op te wekken. Deze membranen komen microscopisch overeen met jonge diphtheritische processen door vogelpokkenvirus veroorzaakt. Het groote verschil met deze laatsten schuilt echter hierin, dat zij reeds 36 uur na infectie worden gevormd, terwijl bij submukeuze infectie met vogelpokkenvirus (zie Hoofdstuk I sub C) de membranen eerst 12—14 dagen na infectie optreden (incubatie-stadium).

Uit de contrôleproef met diphtherietoxine blijkt, dat infectie met den bacil hetzelfde ziektebeeld te zien geeft als infectie met het specifieke toxine.

Het snellere laethale verloop bij de toxine-infectie kan worden verklaard uit een graadsverschil in de hoeveelheid ingebrachte toxine.

Met *Basset* ben ik van meening, dat de ziekteverschijnselen, na submukeuze infectie van den diphtheriebacil bij kippen, berust op toxinewerking.

Vijf dagen na kunsttmatige infectie van den bacil op het geërodeerde keelslijmvlies van de kip, kon Basset deze daarop niet meer terug vinden en hij komt tot de conclusie, dat de diphtheriebacil daar geen geschikt milieu vindt voor zijn voortbestaan; dat de kip dan ook onvatbaar is voor den diphtheriebacil, doch gevoelig voor het diphtherie-toxine.

c. **Infectieproeven met uit de menschen- en vogelkeel afkomstige diphtherie-achtige bacillen.**

Voor de herkomst dezer bacteriën wordt verwezen naar § 2 sub B van dit hoofdstuk.

STAM I.

De infectie geschiedde in de mond-keelholte.

a. *Na scarificatie* (bouilloncultuur).

K. 107 en K. 109. 14. 2. '25. *K. 107* geen reactie. Bij *K. 109* vormen zich den 2den dag twee smalle, streepvormige membraantjes. Den 3den dag zijn deze wederom verdwenen.

b. *Zonder scarificatie met ingestie* (Löffler-serumcultuur).

K. 103 en *K. 104.* 14. 2. '25. Geen reactie.

c. *Submukeus.*

K. 110 en *K. 102.* 14. 2. '25. *K. 110* vertoont niet de minste reactie. Bij *K. 102* vormen zich den 5den dag twee ovale, 2—3 m.m. groote, witte membraantjes, welke 4 dagen later zijn verdwenen.

Emulsie van een dezer membraantjes wordt den 21. 2. '25 submukeus geïnjicieerd bij *K. 108,* welke geen reactie vertoont.

Ten overvloede wordt den 16. 2. '25 *K. 78 intraveneus geïnfecteerd* (vleugelader) met 2 c.c. bouilloncultuur, zonder dat eenige reactieverschijnselen binnen 3 weken volgen.

Nogmaals werd den 3den Maart 1925 een haan *K. 136* geïnfecteerd met ½ c.c. 4 dagen oude bouilloncultuur, submukeus in de keelholte links en rechts van de gehemeltespleet.

Gelijktijdig werd ½ c.c. 4 dagen oude bouilloncultuur in den linker conjunctivaalzak geïnjicieerd.

Den 3den dag na de infectie vormde zich een 2 m.m. groote gele stip op het donkerblauw gezwollen keelslijmvlies ter hoogte van de linker injectieplaats.

Dit zeer kleine membraantje had een levensduur van 14 dagen, doch vertoonde geen spoor van uitbreiding. Het werd gedeeltelijk overgeënt op Löffler-serumplaten en na 3 dagen

kon de oorspronkelijke bacil worden teruggewonnen (morphol. cultureel; biologisch en in Gram-kleuring en gemis aan pathogeniteit voor de cavia). Het algemeen welzijn was niet gestoord. Aan het linker oog trad geen reactie op.

Den 10den Maart werd haan *K. 144* submukeus geïnfecteerd in de keel links van de gehemeltespleet met eene emulsie van membraansubstantie van *K. 136;* rechts met eene 24 uur oude bouilloncultuur van den uit dit membraantje reingekweekten oorspronkelijken pseudostam. Gedurende eene contrôle van 3 weken werd geen spoor van locale of algemeene reactie waargenomen.

STAM II.

a. Na scarificatie. K. 381 1. 8. '25. Geen reactie.

b. Zonder scarificatie met ingestie. K. 383 1. 8. '25. Geen reactie.

c. Submukeus. K. 384 1. 8. '25. Den 2den dag vormt zich een geringe, blauwachtige zwelling op de injectieplaats, welke den 5den dag verdwenen is. Den 7. 8. '25 wordt *K. 388* geïnfecteerd. Geen reactie.

STAM III.

a. Na scarificatie. K. 420 18. 9. '25. Geen reactie.

b. Zonder scarificatie met ingestie. K. 419 18. 9. '25. Geen reactie.

c. Submukeus. K. 421. Den 3den dag vormt zich links naast den tongbasis een klein entulcus, dat na 4 dagen weder verdwenen is. Microscopisch was in deze entulcus de bacil in groote hoeveelheden terug te vinden. Met afkrabsel der ulcus werd 23. 9. '25 geïnfecteerd (submukeus) *K. 429,* bij welke geen reactie optrad.

STAM IV.

a. Na scarificatie. K. 383 1 8 '25. Geen reactie.

b. Zonder scarificatie met ingestie. K. 382 1. 8. '25. Geen reactie.

c. Submukeus. K. 385 5. 8. '25. Vertoont 24 uur na de

infectie links een streepvormig membraantje, dat den volgenden dag weer verdwenen is. Den 7den dag vormden zich op de injectieplaatsen twee 3—5 m.m. doffe ovale plekjes op het slijmvlies, welke den 9den dag weer verdwenen waren. Den 16. 8. '25 werd wederom geïnfecteerd *K. 390.* Geen reactie.

STAM V.

a. Na scarificatie. K. 460 6. 10. '25. Geen reactie.

b. Zonder scarificatie met ingestie. K. 461 6. 10. '25 Geen reactie.

c. Submukeus. K. 463 6. 10. '25. Geen reactie.

STAM VI.

a. Na scarificatie. K. 451 26. 9. '25. Geen reactie.

b. Zonder scarificatie met ingestie. K. 449 25. 9 '25 Geen reactie.

c. Submukeus. K. 455 26. 9. '25. Den 28. 9. '25 heeft zich op de linker entplaats een duidelijk, geelachtig membraantje gevormd van 1½ c.m. lengte bij 1½ c.m. breedte, terwijl de omgeving blauwachtig cyanotisch getint is. De algemeene toestand is normaal, behoudens het vertoonen van lichte vochtgeruischen in de keel. Van het membraantje wordt een weinig uitgestreken op serumplaten, waarop zich naast coccen en bodemkiemen talrijke koloniën ontwikkelen van bacillen, welke morphologisch volkomen overeenstemmen met den oorspronkelijken bacil. Na 3 maal overenten is deze culttuur rein.

Het membraantje blijft tot den 4. 10. '25, d.i. 6 dagen, bestaan, om van den 5den tot den 7den dag te verschrompelen en te verdwijnen, zonder eenige zichtbare laesie van het onderliggende slijmvlies achter te laten.

Den 1. 10. '25 wordt een weinig membraansubstantie afgewreven op eenige c.c. physiol. NaCl. opl. en hiermede submukeus geïnfecteerd haan *K. 457.* Geen reactie.

Den 19. 10. '25 werd het genezen proefdier *K. 455* opnieuw geïnfecteerd ter contrôle op eventueele immuniteit. Submukeus

werd toegediend links 2 c.c. 3 dagen oude bouilloncultuur, rechts 2 c.c. eener emulsie van 24 uur oude serumcultuur. Er trad geen reactie op, noch links, noch rechts.

Den 6. 10. '25 submukeus geïnfecteerd *K. 462*. Geen reactie.

Den 10. 10. '25 submukeus geïnfecteerd *K. 464* met de reincultuur uit *K. 455* gewonnen, welke intusschen na morphologische, cultureele en biologische onderzoekingen dezelfde blijkt te zijn als stam VI: haan *K. 464*. Geen reactie.

STAM VII.

a. Na scarificatie. K. 780 26. 4. '26. Geen reactie.

b. Zonder scarificatie met ingestie. K. 782 26. 4. '26. Geen reactie.

c. Submukeus. K. 781 26. 4. '26. Geen reactie.

STAM VIII.

a. Na scarificatie. K. 792 3. 5. '26. Geen reactie.

b. Zonder scarificatie met ingestie. K. 791 3 .5. '26. Den 3den dag ontstaat een streepvormig membraantje, dat 24 uur later is verdwenen.

c. Submukeus. K. 794 4. 5. '26. Geen reactie.

Intraveneuze en subcutane infectie bij verschillende kippen met deze 8 stammen van diphtheroiden gaf geen aanleiding tot ziekteverschijnselen; membraanvorming in de mond- en keelholte trad niet op.

Infectieproeven met den pseudo-diphtheriebacil. (Bacillus Hofmann-Wellenhof.)

Met een tweetal pseudo-diphtheriestammen, afkomstig uit de menschenkeel, werden infectieproeven bij kippen genomen. Een dezer pseudo-diphtheriestammen, No. 8, was afkomstig van het „Hygiënische Universitäts Institut" te Frankfort, de andere werd mij op aanvrage toegezonden door het „Lister Institute" te Londen. Deze laatste stam (Lister) had zeer

slechte groeieigenschappen en vormde op Löffler-serum een uiterst dun, nauwelijks zichtbaar beslag.

Een van het „Krall's Institut" te Weenen afkomstige pseudo-diphtheriestam vertoonde morphologische en cultureele overeenkomst met eene kleurstof vormende diphtheroide, op grond waarvan eene identificeering met den Bacil van Hofmann-Wellenhof uitgesloten was. De bacil groeide als een dik grauwgeel beslag (op Löffler-serum) van plompe, kolf- en haltervormige bacillen, met grove, onregelmatige poolkorreling. Suikervergisting en pathogeniteitsproeven met cavia's werden niet verricht. Wel werden den 21. 6. '26 eenige hanen geïnfecteerd met negatief resultaat.

„Stam No. 8" en *„stam Lister"* stemden morphologisch en cultureel overeen met den Bacil van Hofmann-Wellenhof. Het waren korte staafjes met toegespitste pooleinden. Poolkorreling werd niet waargenomen. Geen enkele suiker werd vergist. Gekleurd volgens *Langer* waren beiden sterk Gram positief. Toxinevorming en pathogeniteit voor de cavia ontbraken. Geïnfecteerd werd met eene 3 dagen oude bouilloncultuur.

Pseudo-diphtherie No. 8.

21. 6. '26. K. 870 na scarificatie. Geen reactie.

21. 6. '26. K. 869 submukeus. Geen reactie.

Pseudo-diphtherie Lister.

21. 6. '26. K. 872 na scarificatie. Geen reactie.

21. 6. '26. K. 871 submukeus. Geen reactie.

Na intraveneuze en subcutane injectie van bouilloncultuur bij verschillende kippen traden geen ziekteverschijnselen op. Membraanvorming werd niet waargenomen.

Deze diphtherie-achtige bacillen bleken dus geen van allen in staat om diphtheritische processen in de keel bij kippen te veroorzaken.

Zij waren volkomen onschadelijk en noch door keelinfectie na voorafgaande scarificatie, noch door submukeuze, intraveneuze zoowel als subcutane injectie met hunne culturen was een ziektebeeld op te wekken.

Merkwaardig was het gedrag van den bacil „*stam VI*", welke éénmaal een klein omschreven keelmembraan te zien gaf na submukeuze infectie. Infectie van meerdere kippen met dezen bacil verliep negatief en ook door vogelpassage gelukte het niet den bacil opnieuw tot het verwekken van een diphtheritisch membraan bij de kip te brengen. Cultureel en biologisch bezat hij alle eigenschappen van een diphtheroide (pigment-vorming), zoodat ik deze reactie niet anders weet te verklaren dan uit een individueele overgevoeligheid van haan K. 455 voor infectie met overigens onschuldige micro-organismen op het keelslijmvlies.

§ 4. EPIDEMIOLOGISCH VERBAND TUSSCHEN DIPHTHERIE VAN DEN MENSCH EN DIPHTHERIE VAN DE KIP.

A. *Literatuur.*

Het gelijktijdig optreden van diphtherie bij mensch en dier in verschillende streken gaf, vooral in de vorige eeuwen, aanleiding tot de gevolgtrekking, dat er een nauw verband tusschen beide ziekten moest bestaan.

De eerste aanteekeningen daaromtrent dateeren uit het begin der 17de eeuw, op welk tijdstip (1618) in Napels een moorddadige epidemie van de zeer gevreesde „Morbus Syriacus" heerschte. Voor het optreden eener niet minder ernstige epidemie in Parijs, in 1743, zocht men eene zelfde verklaring.

Een door *Dupont* in 1868 bestudeerde „acute duivendiphtherie" stond volgens zijne meening in verband met humane diphtherie.

Nicati zocht de oorzaak van eene epidemie in een stadskwartier van Marseille te verklaren uit besmetting door diphtherische kippen, welke in groote massa's stierven. Hij infecteerde gezonde kippen en konijnen met membraansubstantie van den mensch op de cornea, en zag daarna entmembranen optreden. Hij meende daaruit te kunnen verklaren, dat sommige diphtheriegevallen bij kinderen door de vogelsmetstof waren ver-

oorzaakt. Zijn conclusies werden aan den eenen kant gesteund door *Megnin*, aan den anderen kant bestreden door *Trasbot* en raakten in het vergeetboek, totdat door Klebs deze quaestie weer naar voren werd gebracht (1883) en nieuwe onderzoekingen door *Teissier* aangevangen (1885—'89).

In de „Rapports du Ier congres international de Pathologie Comparée" (17—23 October 1912) heeft *F. Arloing* op verdienstelijke wijze het in de literatuur over dit onderwerp voorkomende materiaal gegroepeerd en gerangschikt in vijf groepen, waardoor een aaneengeschakeld overzicht verkregen is.

In groep 1 spelen mesthoopen, strooafval en ander stadsvuil een rol bij de verspreiding van humane diphtherie.

In groep 2 zien we diphtherie van den mensch overgaan op de kip en op andere diersoorten, met in enkele gevallen terug-infectie op den mensch.

In groep 3 zien we gelijktijdig of snel na elkander volgend heerschen van humane- en aviaire diphtherie.

In groep 4 worden enkele klinisch overtuigende gevallen van besmetting van den mensch door vogels weergegeven, zonder nader bacteriologisch onderzoek.

Ten slotte worden in groep 5 gevallen als in groep 4 vermeld, doch gesteund door bacteriologisch onderzoek bij mensch of dier of wel bij beiden.

GROEP 1.

In 1881 zag *Teissier*, dat van 180 diphtheriegevallen er 27 in de onmiddellijke nabijheid van vuilnis- en 14 in de omgeving van groote mesthoopen voorkwamen. Hij schreef dit toe aan het feit, dat daarin diphtheritische kippen rondwoelden.

In 1883 wees *Klebs* op de rol van straat- en marktvuil bij het optreden van eene diphtherie-epidemie onder kinderen te Zürich en in 1885 wees *Ferrand* op hetzelfde gevaar.

In 1887 toonde *Longuet* aan, dat in cavaleriekazernes veel vaker diphtherie voorkwam dan in infanteriekazernes en hij berekende, dat in Frankrijk en Duitschland op 3 cavaleristen

1 infanterist door deze ziekte werd aangetast. Volgens hem was dit te wijten aan het veelvuldig contact van den cavalerist met mest- en stalvuil, waarin kippen gaarne rondwoelen.

In 1889 nam *Bard* een hevige diphtherie-epidemie waar, vlak naast de stallen eener tramwegmaatschappij.

In 1890 gaf *Rossigneux* een statistiek van 160 diphtheriegevallen. 51 traden op in de nabijheid van mesthoopen; 37 bij vuilnishoopen en stroomijten en 61 in de nabijheid van kippenhokken.

In 1892 wees *Destot* op het feit, dat bij eene epidemie in Villefranche (Rhône) naast elke diphtheriehaard een paardenstal was gelegen.

Ook *Arloing* acht mesthoopen en andere verzamelingen van stalvuil een geschikt milieu voor den diphtheriebacil, ofschoon hij hunne beteekenis bij de verspreiding der ziekte niet al te hoog wil schatten. Indien deze zienswijze juist is zouden kippen zeer gemakkelijk den bacil kunnen verspreiden zonder nog direct zelf behoeven te worden besmet.

De diphtheriebacil is echter zeer gevoelig voor licht en vochtige warmte, daarentegen goed bestand tegen koude en indrogen. Dit zijn factoren, die de opvatting van Arloing niet versterken. Koude en droogheid zijn in het algemeen geen eigenschappen van mesthoopen. Hoe bestand de bacil is tegen indrogen bleek uit de onderzoekingen van *Abel*, die levensvatbare bacillen vond aan een maanden lang te voren besmetten steen van een bouwdoos.

GROEP 2.

A. *Kippen besmet door den mensch.*

Enkele hierop betrekking hebbende gevallen werden reeds vermeld onder § 2 A van dit hoofdstuk.

Barbier nam waar, dat kippen, gehouden in de nabijheid der isolatiebarakken van kinderziekenhuizen, vaak aan diphtherie leden.

Roth behandelde bij een gezin te Kitzingen twee kinderen,

welke leden aan roodvonk en diphtherische angina. Epidermisschubben en keeldejecten dezer kinderen werden met het vloerveegsel op den mestpluis geworpen, op welke 36 kippen rondliepen. Na eenige dagen werden al deze kippen ziek en vertoonden verloren eetlust en bemoeilijkte ademhaling. Oogleden, membrana nictitans, mond- en keelslijmvlies waren gezwollen en bedekt met een kazig, slijmige, zeer adhaerente massa.

Een der kippen had ulcera op de oogleden en perforatie van de cornea en bij allen werd de kam slap en donkerviolet van kleur. 44 % der dieren stierf.

Gallez behandelde in Mei 1889 een 7-jarige jongen, die in het reconvalescentie-stadium van diphtherie verlammingsverschijnselen kreeg. In dit tijdperk speelde het kind met een duif, welke na enkele dagen ziek werd en twee dagen later aan diphtherie stierf.

B. *Besmetting van den mensch door kippen, lijdende aan diphtherie van humanen oorsprong.*

Debrie (1892), militair arts, gaf de volgende bijzonderheden:

Te Sebdou heerschte eene diphtherie-epidemie, welke vermoedelijk was geïmporteerd door twee zouaven eener compagnie te Nemours, in welke twee maanden te voren diphtheriegevallen waren voorgekomen.

Terwijl de laatste patiënt te Sebdou nog in het hospitaal werd verpleegd, brak diphtherie onder de kippen uit en van de 10 stierven er 5. Deze dieren werden verzorgd door een hospitaalknecht en men nam aan, dat hij ze bij het voederen had geïnfecteerd.

De vogelziekte ging over op de kippen, bestemd voor het garnizoen El Aricha, die tot aan hunne opzending in de barakken van Sebdou waren ondergebracht en na aankomst aldaar ziek werden. Eenige dagen later trad een diphtheriegeval onder de manschappen van El Aricha op.

Bovendien kreeg de eigenaresse van het pluimvee te Sebdou,

die bij haar zieke kippen de keelmembranen verwijderde, ernstige diphtherieverschijnselen (dysphagie, koorts, membraanvorming en zwelling van de tonsillen).

Arloing vermeldt ook eenige gevallen van besmetting van zoogdieren met humane diphtherie (zie § 3 B sub a), namelijk honden, katten en varkens. Deze mededeelingen dateeren uit het vóór-bacteriologische tijdperk. Men vindt er geen van lateren datum vermeld en in de moderne handboeken leest men algemeen, dat humane diphtherie spontaan bij dieren niet voorkomt. Het is niet buitengesloten, dat deze gevallen met humane diphtherie niets uitstaande hebben gehad, doch dat zich toevalligerwijze, kort na ingestie van het met diphtherie besmette materiaal, diphtheritiden van anderen aard bij deze diersoorten openbaarden.

Die gevallen, welke op besmetting van gevogelte door den mensch betrekking hebben, geven een beeld van de vroeger heerschende inzichten. Slechts klinische en dan nog voor het meerendeel zeer oppervlakkig klinische verschijnselen werden als grondslag voor eene uitspraak voldoende geacht.

Het geval *Roth*, waarbij een kip ulcera op de oogleden (pokken) had, doet sterk aan vogelpokken denken.

Het onder B (Debrie) genoemde geval is als klinisch goed gedetermineerd te beschouwen, doch de onontbeerlijke schakel voor het aannemen van een aetiologisch verband tusschen vogel- en menschenziekte, namelijk het bewijs voor de identiteit van het ziekte-agens bij mensch en vogel, ontbreekt.

GROEP 3.

In 1879 wees de reeds eerder genoemde *Nicati* op het samengaan van humane diphtherie- en vogeldiphtherie-epidemiën.

In 1882 heerschte er in Palermo een zware diphtherie-epidemie na den invoer van 150.000 kippen uit Napels, onder welken diphtherie werd waargenomen (Chicoli).

Eene ernstige diphtherie-epidemie in Ressaix (1888) begon

volgens *Gallez* op eene boerderij, waar in enkele weken tijds nagenoeg alle kippen onder diphtheritische verschijnselen stierven.

Thoïnot achtte de zware epidemiën van Creil en Nemours in 1863 van aviairen oorsprong.

De epidemie van Brangling in 1891 werd volgens *Türner* voorafgegaan door een vogel-epizoötie, waarbij diphtheritische verschijnselen op den voorgrond traden.

Mercier schreef eene stijging van het aantal diphtheriegevallen in het 90e en 68e regiment infanterie toe aan de komst van recruten, uit met vogeldiphtherie besmette boerenhofsteden.

Het gelijktijdig of kort na elkander heerschen van diphtherie-epidemiën bij mensch en kip is van klinisch standpunt beschouwd de aandacht waard.

Echter is men zonder nadere bewijsvoering niet gerechtigd daaruit een epidemiologisch verband tusschen beide ziekten af te leiden en hangen veronderstellingen als deze in de lucht.

GROEP 4.

In 1886 behandelde *Boing* een 10-jarig meisje, lijdende aan diphtherie, dat diphtheritische kippen met den mond had gevoederd. De drie andere kinderen in hetzelfde gezin, die deze kippen niet hadden aangeraakt, bleven gezond.

In 1882 behandelde *Bilhaut* een diphtherielijder, die een diphtheritische duif met den mond had gevoederd. Een kind in dat gezin kreeg eveneens diphtherie; beiden herstelden.

In 1885 behandelde *Delthil* een diphtherie-patiënte, die haar diphtheritische kippen de membranen uit de keel verwijderde, hetgeen tot algemeene besmetting van de andere kippen, die in de gelegenheid waren deze membranen op te pikken, aanleiding gaf. Eenige dagen na de moeder werd het kind ziek en tenslotte de vader.

In 1888 behandelde *Delaunois* een 72-jarige vrouw met zeer heftige diphtherieverschijnselen. Zij had bij een eend met eene

diphtheritische keelaandoening dagelijks de membranen uit de keel verwijderd. De eend stierf, zijzelve genas.

In 1895 vermeldde *Gallez* een doodelijk diphtheriegeval bij een kind, dat naast een boerderij te Obigies woonde, waar twee kippen aan diphtherie stierven. Nog vier personen in de onmiddellijke nabijheid kregen diphtherie. Drie hunner stierven.

Te voren was geen diphtherie in het dorp geweest..

Te Lamain kreeg een kind van een vechthanenbezitter, onder wiens fazanten diphtherie voorkwam, diphtherie.

Te Thimougies stierf een kind aan diphtherie eenige dagen nadat het gespeeld had met een diphtheritischen vechthaan.

Te Warchin stierf een kind aan croupeuze laryngitis nadat het had gespeeld met een diphtheritischen haan. Een maand later werd een ander kind in dezelfde gemeente ziek. Dit kind had met het zieke geen contact gehad, doch speelde vaak bij buren, waar de kippen aan snot (coryza) leden.

Rossigneux vermeldde drie gevallen van diphtherie bij kinderen, waarbij contact met ziek pluimvee werd vastgesteld. In een der gevallen zocht men zelfs de oorzaak der besmetting in de melk, welke door een boer werd geleverd, wiens kippen aan diphtherie leden.

Burvenick, de Gand en *Schrevens* te Brussel hielden staande dat in groote gezinnen op afgelegen hoeven men bepaaldelijk het familielid, met de pluimveeverzorging belast, het eerste diphtherie zag krijgen.

De dierenarts *Eloire* te Caudry zag een diphtheritisch kind van 2 jaar, dat niet anders besmet had kunnen zijn dan door kuikens, die men bij zijn bedje bracht en bij welke hij diphtheritische keelmembranen waarnam.

In 1902 vermeldde *Billiard* een doodelijk diphtheriegeval van een meisje, dat zich niet anders dan door spelen met een diphtheritische kip kon hebben geïnfecteerd. De streek was diphtherievrij.

Bermont en *Poincarré* beschreven eveneens diphtheriegevallen bij kinderen, die met diphtheritische kippen 's winters in eene ruimte samen woonden.

Behalve het overbrengen van besmettelijke keelaandoeningen bij den mensch zijn er ook eenige gevallen bekend, waarbij diphtheritische vogels eene diphtheritische wondinfectie veroorzaakten.

Zoo zag *Roger* een geval van wonddiphtherie aan den gekneusden duim van een man optreden, kort na een pik van een diphtheritischen haan.

Gerhabt behandelde een kippenverzorger in eene pluimveehouderij, waar in enkele weken 1400 kippen aan diphtherie stierven en tevens 5 katten en een papegaai werden besmet. Deze man werd door een zieken haan in pols en voet gepikt, waarop zich ter plaatse diphtheriemembranen vormden, gepaard aan heftige zwelling van oksel- en liesklieren, en hooge temperatuur. Twee derden van de overige kippenverplegers leed aan diphtherische angina en een van hen besmette zijn drie kinderen. Er werd toen in Nesselhausen nergens anders diphtherie waargenomen.

Delthil vermeldt een geval van vaginale diphtherie bij eene oude dame, die een pessarium droeg. Zij behandelde zelf haar diphtheritische kippen.

Een kind met eene diphtherische angina en eene diphtheriemembraan op eene fistelopening bleek voortdurend met eene diphtheritische kip op bed te spelen.

Gallez zag een diphtheriemembraan optreden op een granuleerende wond aan de hand van een arbeider, die zijn handen had afgespoeld in den drinkensbak van zijn diphtheritische kippen. Verscheidene kinderen, die met deze kippen speelden, kregen een diphtherische angina.

Lebrun extirpeerde een tumor aan de lip eener vrouw, waarna zich een diphtheriemembraan op de operatiewond vormde. Later bleek, dat patiënte haar kippen, waaronder diphtheritische, met den mond voederde.

Ontegenzeggelijk wijzen deze gevallen van diphtheritische keel- en wondaandoeningen bij den mensch op een nauw verband met de heerschende vogelziekte. Of hier echter de Bacil

van Klebs-Löffler als oorzaak moet worden aangenomen is moeilijk uit te maken. Naast diphtherische angina's, d.w.z. die veroorzaakt door den echten diphtheriebacil, kent men meerdere z.g. pseudo-diphtherische angina's onder anderen door verschillende strepto- en staphylococcen.

Alleen door bacteriologisch onderzoek kan de aard van dergelijke angina's en wondinfecties worden vastgesteld.

Klinische indicaties zijn — hoe waardevol ook — niet altijd voldoende om de juistheid der diagnose „diphtherie" te waarborgen.

GROEP 5.

In de literatuur zijn vijf gevallen bekend, waarbij het aetiologisch verband tusschen aviaire en humane diphtherie bewezen wordt geacht op grond van de uitkomsten van het bacteriologisch onderzoek der diphtheritische processen.

In drie dezer gevallen, welke voor ons van belang zijn, werd de aanwezigheid van den Bacil van Klebs-Löffler vastgesteld. Eénmaal gelukte dit bij mensch en vogel en de beide andere malen bij den mensch alleen, aangezien het vogelmateriaal intusschen was verloren geraakt.

Het vierde geval houdt geen verband met echte humane diphtherie en betreft den *„bacille aviaire diphtéroide"* door *Loir* en *Ducloux* als verwekker van den Tunesischen vogeldiphtherie beschouwd, en uit de keelmembranen van diphtheritische kippen zoowel als uit die van een met dezen in contact geweest zijnd kind geïsoleerd.

Geval 1. Door *Ferré* werd in 1896 in de omgeving van Bordeaux een kind met eene diphtherische angina behandeld. Uit keelmateriaal werd op Löffler-serum een reincultuur van Klebs-Löffler bacillen gewonnen (lange vormen). Na injectie van 15 c.c. diphtherieserum trad genezing in. Aangezien *Ferré* de infectie van het kind niet kon verklaren, zocht hij verband met diphtherisch gevogelte, en daarbij bleek, dat het kind met

een haan had gespeeld, welke membranen in de keel had en tevens paralytisch was (hangende vleugels).

Deze haan stierf acht dagen na het eerste onderzoek en uit de diphtheritische keelprocessen kon men, na herhaaldelijk overenten, een morphologisch, met den humanen bacil overeenstemmend staafje kweeken, dat bij subcutane injectie een duif onder verlammingsverschijnselen doodde en geënt in den pharynx van de duif en op de inwendige oorvlakte van het konijn diphtheritische membranen te voorschijn riep.

Geval 2. In 1892 werd door *Haas* een geval gereleveerd, waarbij de dochter van een pluimveehouder eene typische diphtherie kreeg, nadat onder de kippen diphtheritische verschijnselen waren opgetreden. Na vijf cultuurproeven kon men uit de keel van het meisje den Klebs-Löfflerschen bacil isoleeren.

Vogelmateriaal werd niet onderzocht

Geval 3. Thomas stelde de diagnose „diphtherie van den duim door contact met diphtheritisch gevogelte" bij een patiënt, die zijn diphtheritische kippen had verzorgd, en een diphtheritische nagelbed-ontsteking kreeg, gepaard aan lymphangitis, lymphadenitis en koorts, tengevolge van infectie eener oude ulcus aan den duim.

In uitstrijkjes van het duimmateriaal werden op diphtherie gelijkende staafjes gevonden. Eenige jaren te voren behandelde hij een meisje, dat stierf aan diphtherie en zich — volgens hem — niet anders dan door diphtheritische kippen had kunnen infecteeren.

Morphologische overeenkomst van den bacil bij de zieke kippen en bij den mensch gaven *Ferré* aanleiding om identiteit met den diphtheriebacil aan te nemen en door het resultaat zijner infectieproeven met den bacil van de kip bij duif en konijn werd hij in zijne overtuiging gesterkt.

Het bewijs voor de juistheid dezer opvatting is daarmede echter niet geleverd en zou eerst verkregen zijn indien door cavia-infectie pathogeniteit was vastgesteld en door immuni-

teitsproeven de Bacil van Klebs-Löffler als zoodanig was onderkend.

Het geval *Haas* kan moeilijk als bewijs voor het aetiologisch verband tusschen aviaire- en humane diphtherie worden aangehaald, omdat het bacteriologisch onderzoek zich niet tot het diphtheritische kippenmateriaal uitstrekte.

Het geval *Thomas* is evenmin overtuigend voor het oorzakelijk verband tusschen de zieke kippen en de geïnfecteerde wond bij den mensch. Sedert het *Lubinsky* is gelukt om uit diphtheritische wonden diphtherie-achtigen te kweeken (paradiphtheriebacil) dient men de mogelijkheid onder het oog te zien, dat de door *Thomas* gevonden staafjes onschuldige saprophyten waren in een ulcereus proces.

B. **Eigen onderzoek.**

Indien men aanneemt, dat eene epizoötie of enzoötie bij vogels in epidemiologisch verband staat tot eene epidemie of endemie bij den mensch, dan wel omgekeerd, dan zal men in de eerste plaats dienen uit te maken, dat zoowel vogel als mensch, beiden vatbaar zijn voor dezelfde ziekte-oorzaak. Vatbaarheid van den vogel voor den diphtheriebacil wordt echter door velen betwijfeld.

Uit het voorafgaand onderzoek blijkt evenwel, dat het mogelijk is om onder bepaalde voorzorgen (submukeuze infectie) diphtherische keelprocessen bij de kip op te wekken en dat deze processen groote gelijkenis vertoonen met die, welke bij vogeldiphtherie voorkomen.

Indien men nu kan aantoonen, dat dergelijke, kunstmatig geïnfecteerde diphtherische kippen de ziekte spontaan op gezonde kunnen overdragen, dan is men gerechtigd om de mogelijkheid eener epizoötie of enzoötie van humane diphtherie bij de kip aan te nemen. Kan men bovendien bewijzen, dat de Bacil van Klebs-Löffler op het keelslijmvlies van de kip geruimen tijd levensvatbaar blijft, dan nadert deze mogelijkheid de grens van het zekere.

Diphtherische kippen zouden zoodoende aanleiding kunnen zijn tot verspreiding van den diphtherieverwekker onder den mensch, gezien het nauwe contact, dat er in sommige klassen der bevolking tusschen mensch en kip bestaat en het epidemiologisch verband tusschen de vogelziekte en het menschelijk lijden zou niet meer te ontkennen zijn.

Eene andere belangrijke aanwijzing voor het bestaan van het epidemiologisch verband tusschen beide ziekten wordt geleverd indien uit de keel van kippen, lijdende aan heerschende vogeldiphtherie en die gehouden worden in de onmiddellijke nabijheid van diphtherielijders, de Bacil van Klebs-Löffler kan worden geïsoleerd.

Met deze feiten rekening houdend, heb ik mijn onderzoek gericht op het nagaan van:

1. *de contagiositeit van kunstmatig met den Bacil van Klebs-Löffler geïnfecteerde kippen voor gezonde kippen;*
2. *de levensvatbaarheid van den diphtheriebacil in de keel van kunstmatig geïnfecteerde kippen;*
3. *de aanwezigheid van den diphtheriebacil in de keel van aan vogeldiphtherie lijdende of van gezonde kippen, welke gehouden werden in besmettingshaarden van humane diphtherie.*

a. **Contagiositeit van kunstmatig met den diphtheriebacil geïnfecteerde kippen voor gezonde kippen.**

Den 8. 8. '25 werd haan *K. 389*, welke den 6. 8. '25 met den humanen bacil H. 7 was geïnfecteerd en dientengevolge ernstige locale en algemeene ziekteverschijnselen kreeg, samengebracht met 5 jonge, gezonde hanen in een kleinen stal van ± 1.5 bij 2 M. in het vierkant. De gezonde hanen *K. 394*, *K. 395*, *K. 396*, *K. 397* en *K. 398* ontvingen het voedsel van den vloer en dronken uit één drinkbak met het hevig zieke dier. De toestand van het zieke dier *K. 389* verergerde dagelijks. Den zesden dag kon het niet meer opstaan en den 15. 8. '25 lag het dood in het hok. Het kadaver bleef 24 uur tusschen de gezonde kippen liggen en werd daarna geseceerd.

Sectie: In de keelholte flink ontwikkelde membranen. In den larynx een nagenoeg obtureerend diphtheritisch stolsel; trachea en bronchiën normaal. Op de serosae van borst- en buikorganen en op het epicard enkele ecchymosen, milt en nieren vertoonen geen zichtbare afwijkingen. Lever een weinig gezwollen en bezaaid met speldeknopgroote donkerviolette haardjes.

Hoewel deze vijf gezonde hanen gedurende zeven dagen in voortdurend innig contact hadden geleefd met den zieke; voedsel en drinken hadden opgenomen, dat door dezen werd besmet, was bij hen van eenig ziekteverschijnsel gedurende eene contrôle van drie weken en daaropvolgende observatie van een maand niets te bespeuren. Allen bleven volmaakt gezond en er vormden zich geen diphtheritische processen.

Het volkomen negatieve resultaat dezer contagiositeitsproef stemt overeen met de feiten, welke men waarneemt bij andere met humane diphtherie geïnfecteerde proefdieren. Daar is in de literatuur geen geval bekend van het overgaan van experimenteele diphtherie op gezonde proefdieren van dezelfde soort.

b. **Levensvatbaarheid van den diphtheriebacil bij kunstmatig geïnfecteerde kippen.**

Doel van dit onderzoek was om na te gaan of de Bacil van Klebs-Löffler op het gezonde dan wel diphtheritisch veranderde keelslijmvlies van de kip geruimen tijd kan voortbestaan. Indien dit mogelijk is schuilt hierin een groot gevaar voor de verspreiding van den Bacil van Klebs-Löffler onder den mensch door zieke zoowel als gezonde kippen. De laatsten vervullen dan min of meer de rol van „smetstofdragers".

Het onderzoek werd verricht bij de in § 3 B sub a. en b. genoemde, voor infectieproeven gebezigde hanen. Het terugwinnen van den Bacil van Klebs-Löffler geschiedde op overeenkomstige wijze als aangegeven in § 2 sub B van dit hoofdstuk.

Ook nu weer moest rekening worden gehouden met in de vogelkeel voorkomende diphtheroiden en diende een verdachte bacil zoo volledig mogelijk worden gedetermineerd op de eigenschappen van den voor infectie gebezigden stam.

Eerst wanneer al deze eigenschappen ook bij den geïsoleerden bacil aanwezig waren, mocht identiteit worden aangenomen.

In verband met het voor den mensch geldende incubatiestadium van 2—7 dagen, heb ik den 4en, 8en en 14den dag na infectie gekozen voor het uitzaaien van materiaal uit de keel der geïnfecteerde proefkippen op den Löfflerschen voedingsbodem.

Onderzoek van kippen, welke met oorspronkelijk diphtheriemateriaal (keelwatjes) waren geïnfecteerd.

K. 321. 26. 6. '25 geïnfecteerd met W2 na scarificatie.

1. 7. '25 eerste uitzaaiïng na 4 dagen. Enkele verdachte koloniën van fijne, gebogen staafjes met Neissersche korreling. Deze gaan bij het overenten verloren.

5. 7. '25 tweede uitzaaiïng na 8 dagen. Overdadige groei van coccen, lucht- en bodemkiemen; platen nagenoeg geheel vervloeid. Geen verdachte koloniën.

10. 7. '25 derde uitzaaiïng na 14 dagen. Coccen, pyocyaneus, vervloeiïngsbacteriën. Geen verdachte koloniën.

K. 324. 26. 6. '25 geïnfecteerd met W3 na scarificatie.

1. 7. '25 eerste uitzaaiïng na 4 dagen. Platen vervloeid. Geen verdachte koloniën.

5. 7. '25 tweede uitzaaiïng na 8 dagen. Enkele koloniën van diphtherie-achtige bacillen met duidelijke poolkorreling, welke bij het overenten teloor gaan.

10. 7. '25 derde uitzaaiïng na 14 dagen. Enkele verdachte koloniën. Na overenten groeit een reincultuur van helgele, gewelfde, op diphtherie gelijkende koloniën van grove bacillen, met spaarzame Neissersche korreling; veel kolven- en haltervormen. Verlengde Gramkleuring positief.

Suikervergisting:

maltose;	saccharose;	levulose;	dextrose;	lactose:	galactose:
+	+	—	—	—	—
(H3 +	—	+	++	—	—)

Pathogeniteit: Cavia N. 820 18. 7. '25 subcutaan geïnfecteerd met 1 c.c. 24 uur oude bouilloncultuur blijft volkomen gezond. De geïsoleerde bacil vertoonde morphologisch, cultureel en biologisch groote verschillen met stam H. 3, en bleek een toevallig aanwezige diphtherie-achtige bacil te zijn.

K. 320. 26. 6. '25 geïnfecteerd met W4 zonder scarificatie met ingestie.

1. 7. '25 eerste uitzaaiïng na 4 dagen. Geen diphtheriekoloniën.

5. 7. '25 tweede uitzaaiïng na 8 dagen. Geen diphtheriekoloniën.

10. 7. '25 derde uitzaaiïng na 14 dagen. Geen diphtheriekoloniën.

K. 326 geïnfecteerd met W4 na scarificatie.

1. 7. '25 eerste uitzaaiïng na 4 dagen. Geen diphtheriekoloniën.

5. 7. '25 tweede uitzaaiïng na 8 dagen. Geen diphtheriekoloniën.

10. 7. '25 derde uitzaaiïng na 14 dagen. Enkele verdachte koloniën.

Na het overenten groeit een reincultuur van vlakke, dofwitte koloniën van diphtherie-achtige bacillen. Grove kolven en halters, spaarzame korreling. Sterk Gram positief.

Suikervergisting:

maltose;	saccharose;	levulose;	dextrose;	lactose:	galactose:
—	+	+	—	+	—
(H4 —	—	++	++	—	+)

Op grond der morphologische en cultureele eigenschappen kon deze bacil als een diphtheroide worden onderkend.

K. 325 geïnfecteerd met W5 zonder scarificatie met ingestie.
1. 7. '25 eerste uitzaaiïng na 4 dagen. Geen diphtherie-koloniën.
5. 7. '25 tweede uitzaaiïng na 8 dagen. Geen diphtherie-koloniën.
10. 7. '25 derde uitzaaiïng na 14 dagen, geen diphtherie-koloniën.

K. 327 geïnfecteerd met W5 na scarificatie.
1. 7. '25 eerste uitzaaiïng na 4 dagen. Enkele verdachte koloniën.
5. 7. '25 tweede uitzaaiïng na 8 dagen. Geen diphtherie-koloniën.
10. 7. '25 derde uitzaaiïng na 14 dagen. Geen diphtherie-koloniën.

K. 328 26. 6. '25 geïnfecteerd met W7 zonder scarificatie met ingestie.
1. 7. '25 eerste uitzaaiïng na 4 dagen. Geeft enkele verdachte koloniën.
Na het overenten groeit een reincultuur van vlakke, dofwitte diphtherie-achtige bacillen van langgerekten, zeer slanken vorm, met fijne poolkorreling aan de uiteinden. Cultureel en morphologisch is deze bacil een diphtheroide.
5. 7. '25 tweede uitzaaiïng na 8 dagen. Geen diphtherie-koloniën.
10. 7. '25 derde uitzaaiïng na 14 dagen. Geen diphtherie-koloniën.

K. 319 26. 6. '25 geïnfecteerd met W7 na scarificatie.
1. 7. '25 eerste uitzaaiïng na 4 dagen. Twee soorten verdachte koloniën. Na het overenten groeien:
a. ronde, vochtig glanzende, geelwitte, verheven koloniën van staafjes met duidelijke Neissersche korreling, palissaden V en L groepeering, welke zeer veel overeenkomst vertoonen met den humanen bacil. Groeit op agar zwak.

Suikervergisting:

maltose:	saccharose:	levulose:	dextrose:	lactose:	galactose:
+	—	±	—	—	±
(H7 +	—	+	++	—	+)

Verlengde Gramkleuring: negatief.

Pathogeniteit: Cavia 812. 10. 7. '25 geïnfecteerd met 1 c.c. 24 uur oude bouilloncultuur, vertoont geen reactie.

Pathogeniteit voor kippen: ontbreekt. 1. 8. '25 K. 384 submukeus geïnfecteerd in de keelholte met 1 c.c. 24 uur oude bouilloncultuur. Geen spoor van reactie. Gemis aan pathogeniteit voor cavia en de neiging tot kleurstofvorming kenmerkten ook dezen bacil tot een diphtherie-achtige.

b. Vlakke, grijswitte, droge, tot linten vervloeiende koloniën van uiterst fijne, langgerekte, goed gekorrelde diphtherie-achtige bacillen.

5. 7. '25 tweede uitzaaiïng na 8 dagen. Geen verdachte koloniën.

10. 7. '25 derde uitzaaiïng na 14 dagen. Geen verdachte koloniën.

Onderzoek van kippen, welke met reinculturen van diphtheriebacillen waren geïnfecteerd.

K. 361 geïnfecteerd 14. 7. '25 met H. 2 zonder scarificatie, met ingestie.

18. 7. '25 eerste uitzaaiïng na 4 dagen. Platen vervloeid.

22. 7. '25 tweede uitzaaiïng. Enkele verdachte koloniën, welke bij het overenten verloren gaan.

28. 7. '25 derde uitzaaiïng. Geen diphtherie-koloniën.

K. 379 submukeus geïnfecteerd met H. 2. (1. 8. '25.)

5.8.'25 eerste uitzaaiïng na 4 dagen, van een membraanstukje en onderliggend epitheel. (De kip kreeg diphtheritische keelmembranen na de infectie.) Talrijke diphtheriekoloniën. Na het overenten groeit een reincultuur van witte, glanzende, gewelfde koloniën van slanke, korte diphtheriestaafjes met

algemeene, prachtige korreling en karakteristieke palissadengroepeering. Verlengde Gramkleuring negatief.

Suikervergisting:

maltose;	saccharose;	levulose;	dextrose;	lactose:	galactose:
+	—	+	+	—	—
(H2 +	—	+	++	—	—)

Cavia 824 wordt 10. 8. '25 subcutaan geïnfecteerd met 1 c.c. 24 uur oude bouilloncultuur en sterft 36 uur later onder verschijnselen van diphtherie (hyperaemie en zwelling van de bynieren).

Haan *K. 386* wordt 12. 8. '25 submukeus in de keel geïnfecteerd met 1 c.c. 24 uur oude bouilloncultuur en vertoont den volgenden dag depressieverschijnselen; 48 uur later hebben zich mooie diphtheriemembranen in de keel gevormd; 8 dagen later zijn deze verdwenen.

9. 8. '25 tweede uitzaaiïng (de membranen bij *K. 379* zijn thans aan het verschrompelen en het entmateriaal wordt onder de membraan afgestreken). Talrijke duidelijke diphtheriekoloniën, morphologisch en cultureel gelijk aan H. 2.

Suikervergisting vertoont geen verschil.

Cavia C. 830, 20. 8. '25 subcutaan geïnfecteerd, sterft 48 uur later (diphtherie).

Haan *K. 393*, 22. 8. '25 submukeus geïnfecteerd, vertoont gedurende 6 dagen diphtheritische membranen, doch herstelt.

5. 8. '25 derde uitzaaiïng. Geen diphtheriekoloniën. Uitsluitend groei van coccen en andere verontreinigers.

K. 389 6. 8. '25 submukeus geïnfecteerd met H. 7.

Dit dier werd in een reeds hiervoren beschreven proef (zie § 4 B sub a) samen gebracht met 5 gezonde hanen; vertoonde ernstige locale en algemeene verschijnselen en stierf 8 dagen later.

10. 8. '25 eerste uitzaaiïng (na 4 dagen) van membraansubstantie. Talrijke mooie diphtheriekoloniën.

Na het overenten groeit een reincultuur van korte, zeer fijne,

fraai gekorrelde diphtheriestaafjes met algemeene korreling en karakteristieke palissadengroepeering.

Verlengde Gramkleuring: negatief.

Suikervergisting:

maltose;	saccharose;	levulose;	dextrose;	lactose:	galactose:
+	—	+	+	—	+
(H7 +	—	+	++	—	+)

Cavia 840, 6. 10. '25 subcutaan geïnfecteerd met 1 c.c. 48 uur oude bouilloncultuur, sterft 36 uur later onder typische verschijnselen van diphtherie.

Haan *K. 463* 6. 8. '25 submukeus geïnfecteerd met 1 c.c. 6 dagen oude bouilloncultuur. (Deze infectieproef met cavia en kip had plaats 2 maanden na het reinkweeken van den bacil, welke in dien tusschentijd viermaal op versche Löffler-serum was overgezet.) 24 uur later was het dier moribund en vertoonde bij de sectie de karakteristieke verschijnselen van met pathogene diphtheriebacillen submukeus geïnfecteerde kippen (membraanvorming in de keel, zwelling van den kop en bloedingen op de serosae van borst- en buikorganen).

14. 8. '25 tweede uitzaaiïng. Wederom talrijke, zeer duidelijke diphtheriekoloniën in veldjes tusschen de begeleidende verontreinigers.

Microscopisch werd de overeenkomst met H. 7 vastgesteld. Reinkweeken mislukte. Een derde uitzaaiïng kon niet meer geschieden, aangezien K. 389 inmiddels was gestorven.

K. 388 6. 8. '25 submukeus geïnfecteerd met H. 3.

10. 8. '25 eerste uitzaaiïng. Talrijke coccen en verontreinigers; geen diphtheriekoloniën.

14. 8. '25 tweede uitzaaiïng. Enkele verdachte koloniën, welke geïsoleerd kunnen worden. Zij groeien na 48 uur als gele, vochtig glanzende, gewelfde koloniën van grove staafjes met spaarzame korreling, sterk Gram positief (Langer).

Suikervergisting niet ingezet, daar deze bacil zeer duidelijke kenteekenen eener kleurstof vormende diphtheroide had.

20. 8. '25 derde uitzaaiïng. Geen diphtheriekoloniën; platen nagenoeg geheel vervloeid.

K. 381 1. 8. '25 submukeus geïnfecteerd met H. 4.

5. 8. '25 eerste uitzaaiïng. Enkele op diphtherie gelijkende koloniën. Deze koloniën hebben een vochtigen, grijswitten glans, zijn gewelfd en volkomen gelijk aan die van den diphtheriebacil. De bacil is middel-groot en goed gekorreld.

Suikervergisting:

maltose;	saccharose;	levulose;	dextrose;	lactose:	galactose:
—	—	+	+	—	+
(H4 —	—	+	++	—	+)

Gramkleuring (Langer): negatief.

Pathogeniteit voor de cavia: zwak virulent.

Cavia 830, 2. 9. '25 subcutaan geïnfecteerd met 1 c.c. bouilloncultuur, sterft 2 weken later.

Sectie: Spekachtig oedemateuze infiltratie en locale necrose in de omgeving van de entplaats. Geen hyperaemie van de bynieren.

Haan *K. 400,* 4. 9. '25 submukeus geïnfecteerd, vertoont gedurende 8 dagen mooie, omschreven diphtheriemembranen in de keel, doch geneest.

De geïsoleerde bacil is dus volkomen identiek met stam H. 4.

9. 8. '25 tweede uitzaaiïng. Geen diphtheriekoloniën.

5. 8. '25 derde uitzaaiïng. Geen diphtheriekoloniën.

K. 323 20. 7. '25 geïnfecteerd met H. 3 na scarificatie.

24. 7. '25 eerste uitzaaiïng. Enkele vlakke, droog glanzende koloniën van diphtherie-achtigen met duidelijke poolkorreling.

28. 7. '25 tweede uitzaaiïng. Geen diphtheriekoloniën.

3. 8. '25 derde uitzaaiïng. Platen vervloeid. Geen diphtheriekoloniën.

K. 326 20. 7. '25 geïnfecteerd met H. 4 na scarificatie.

24. 7. '25 eerste uitzaaiïng. Enkele op diphtherie gelijkende koloniën. De reincultuur bestaat uit gewelfde, grijswitte, glan-

zende koloniën van middel-groote, goed gekorrelde staafjes.

Suikervergisting:

maltose;	saccharose;	levulose;	dextrose;	lactose:	galactose:
—	—	++	+	—	±
(H4 —	—	++	++	—	—)

Gramkleuring (Langer): negatief.

Pathogeniteit. Cavia 828, 1. 8. '25 subcutaan geïnfecteerd, vertoont na 48 uur lichte algemeene ziekteverschijnselen en succombeert 3 weken later. Bij de sectie wordt spekachtig oedeem en necrose op de plaats van infectie gevonden. Geen hyperaemie van de bynieren. De bacil is dus dezelfde als stam H. 4.

28. 7. '25 tweede uitzaaiïng. Geen diphtherie-koloniën.

3. 8. '25 derde uitzaaiïng. Geen diphtheriekoloniën.

K. 325 22. 7. '25 geïnfecteerd met H. 5 na scarificatie.

27. 7. '25 eerste uitzaaiïng. Platen sterk verontreinigd. Geen diphtheriekoloniën.

30. 7. '25 tweede uitzaaiïng. Enkele gele, matglanzende koloniën van staafjes met Neissersche korreling. De duidelijk gele kleur wijst op een kleurstof vormende diphtheroide.

3. 8. '25 derde uitzaaiïng. Geen diphtheriekoloniën.

K. 328 22. 7. '25 geïnfecteerd met H. 7 na scarificatie.

26. 7. '25 eerste uitzaaiïng. Talrijke vlakke, matglanzende koloniën van diphtheroiden. Daar tusschen zeer spaarzaam, enkele speldeknopgroote, grijze, vochtig glanzende diphtheriekoloniën, welke den 4en dag zijn reingekweekt. De bacil is lang en fijn, mooi gekorreld en overwegend in palissaden gerangschikt.

Suikervergisting:

maltose;	saccharose;	levulose;	dextrose;	lactose:	galactose:
+	—	+	+	—	+
(H7 +	—	+	++	—	+)

Gramkleuring (Langer): negatief.

Pathogeniteit. Cavia 829, 3. 8. '25 subcutaan geïnfecteerd,

sterft 36 uur later onder voor diphtherie karakteristieke verschijnselen (hyperaemie van de bynieren). De bacil is identiek met den ingebrachte.

30. 7. '25 tweede uitzaaiïng. Geen diphtheriebacillen.

3. 8. '25 derde uitzaaiïng. Geen diphtheriebacillen.

Zeventien gevallen van kunstmatige infectie bij de kip, deels met oorspronkelijk diphtheriemateriaal, deels met reincultuur van den Bacil van Klebs-Löffler, werden systematisch onderzocht op de levensvatbaarheid van den diphtherieverwekker op het gezonde dan wel diphtheritisch veranderde keelslijmvlies.

Slechts in 2 gevallen kon de diphtheriebacil nog 8 dagen na de infectie worden teruggevonden en in 3 gevallen 4 dagen daarna. In geen enkel geval kon 14 dagen na de infectie de diphtheriebacil bacteriologisch nog worden vastgesteld. Bovendien bleek, dat infectie met oorspronkelijk diphtheriemateriaal (keelwatjes) geen kansen biedt om den bacil terug te vinden, hetgeen mijns inziens moet worden toegeschreven aan het betrekkelijk geringe aantal bacteriën, dat met deze besmette watjes op het slijmvlies van de kippenkeel wordt gebracht en dat, aangezien de bacil daar niet tot voortplanting komt, spoedig met het speeksel afvloeit, of wel door pyocyaneus en andere secundaire bacteriën wordt verdrongen.

Alleen na het inbrengen van zeer groote hoeveelheden bacillen (watjes in cultuur gedrenkt, submukeuze infectie) bestaat de kans om na korten tijd nog sporen van den diphtheriebacil terug te vinden.

Blijkbaar blijft de bacil in diphtheritische processen langer levensvatbaar dan op het intacte keelslijmvlies, althans bij de submukeus geïnfecteerde hanen *K. 379* en *K. 389* kon hij acht dagen later nog worden aangetoond. Hij was toen bij de hanen *K. 381, K. 326* en *K. 328* (4 dagen na infectie aantoonbaar) alweer verdwenen.

Naar mijne meening wijst dit spoedig verdwijnen van den Bacil van Klebs-Löffler erop, dat het keelslijmvlies van de kip

geen geschikten voedingsbodem is voor zijn voortbestaan.

Dit stemt overeen met de conclusies van *Basset* en met dezen onderzoeker ben ik de overtuiging toegedaan, dat de kip onvatbaar is voor diphtherie van den mensch.

Mag men nu al aannemen, dat bij eene ernstige diphtherie-eruptie van den mensch, de in de onmiddellijke omgeving levende kippen kunnen worden besmet zonder ziekteverschijnselen te vertoonen, zoo is — door het bovenstaande — eene infectie van den mensch door besmette kippen toch nauwelijks denkbaar.

In hoeverre kippen als smetstofdragers kunnen fungeeren zal in het hierna volgende onderzoek worden nagegaan.

C. Diphtheriebacillen in de keel van zieke of gezonde kippen, afkomstig uit besmettingshaarden van humane diphtherie.

Door de vriendelijke bemiddeling van den Geneeskundigen Inspecteur in de provincies Noord-Holland, Utrecht en Gelderland (gedeeltelijk), *Dr. J. J. Th. Doyer* te Hilversum, werd ik in de gelegenheid gesteld om een onderzoek te doen naar de aanwezigheid van diphtheriebacillen bij kippen, gehouden in besmettingshaarden van humane diphtherie.

Hoewel mij geregeld opgave werd verstrekt van de in bovengenoemde Geneeskundige Inspectie gerapporteerde diphtheriegevallen, bedroeg het totaal aantal daarvan niet meer dan 48 en was voor het meerendeel van sporadischen aard.

Eene epidemie van eenigen omvang kwam niet voor en slechts in drie gevallen berichtte mij de behandelende geneesheer, dat er kippen in de onmiddellijke nabijheid van den diphtheriehaard werden gehouden.

Neemt men nu in aanmerking, dat een positieve uitslag van het bacteriologisch onderzoek in klinisch verdachte gevallen, zooals dit aan de verschillende laboratoria van onderzoek wordt verricht, nog geen onomstootelijk bewijs vormt voor den aard van het lijden, dan blijft dus de mogelijkheid bestaan, dat onder de mij verstrekte opgaven er hebben geschuild waarin de Bacil van Klebs-Löffler geen rol heeft gespeeld.

(Dit onderzoek bestaat n.l. in hoofdzaak in het uitzaaien van het verdachte keelmateriaal op Löffler-serum. Ontwikkelen zich daarop na 24 uur koloniën van staafjes, welke morphologisch en cultureel niet van den Bacil van Klebs-Löffler te onderscheiden zijn, dan neemt men het zekere voor het onzekere en acht diphtherie aanwezig. Tijd tot differentiëeren in twijfelachtige gevallen, tot het verrichten van pathogeniteits- en immuniteitsproeven, ontbreekt en is niet in het belang van den patiënt, bij wien vroegtijdige serumbehandeling een eerste eisch is.)

In de 3 gevallen, welke ik heb onderzocht, is het mij niet gelukt den Bacil van Klebs-Löffler uit de kippenkeel te isoleeren.

Wel heb ik enkele diphtherie-achtigen kunnen reinkweeken, die voor infectieproeven werden gebezigd en die morphologisch en biologisch zeer nabij den echten diphtheriebacil stonden.

GEVAL 1.

Den 27. 5. '25 werd diphtherie geconstateerd bij een 11-jarig meisje uit de stad A., dat den 5. 5. '25 in het kinderziekenhuis B. te Z. was opgenomen. Na serumbehandeling op 30. 5. '25 genas de patiënte.

In den tuin achter het hoofdgebouw, op circa 10 pas daarvan verwijderd, stond een groot kippenhok met 36 kippen. Deze dieren werden op geregelde tijden losgelaten en liepen dan op de speelplaats tusschen de kinderen rond, die hen in het speeluur voederden en met enkelen der tamsten speelden.

Sterfgevallen en ziekteverschijnselen waren bij deze dieren niet opgemerkt.

Bij een nauwkeurig onderzoek van den geheelen koppel bleek 1 kip in hevige mate te lijden aan coryza infectiosa, terwijl 5 anderen meer of minder ernstige diphtheritische processen in de mond-keelholte hadden.

Eén dezer laatsten had een uitgebreid diphtheritisch proces in den onderkaak, dat zich van den linker snavelcommissuur tot halverwege de ondersnavelpunt en mediaalwaarts tot aan

de tongbasis uitstrekte. Het been van den linker onderkaaks tak was necrotisch en een vrij groot beensequester kon worden verwijderd. Het proces gaf den indruk van chronischen en sporadischen aard te zijn en hoewel geen pokken bij de andere kippen werden waargenomen en allen kerngezond en in den vollen leg waren, werd toch met de mogelijkheid rekening gehouden, dat hier een metastase van vogelpokken aanwezig was, welke door secundair infectie chronisch was geworden.

Intusschen verliep infectie met membraansubstantie op de dij en in de keel van een gezonden haan volkomen negatief. (Dit is, zooals vroeger reeds medegedeeld, nog geen bewijs tegen de aetiologische beteekenis van het vogelpokkenvirus in dit geval.)

Er werd nu keelmateriaal verzameld (keelwatjes) van twee gezonde kippen en van de zes met locale ziekteverschijnselen, terwijl mij de kip met het ernstige kaakproces door den eigenaar welwillend werd afgestaan.

Herhaalde uitzaaiïng van bovengenoemd materiaal op Löffler-serumplaten (1 kip lijdende aan coryza infectiosa en 5 lijdende aan keeldiphtherie) gaf een negatief resultaat.

Noch diphtherie-achtige bacillen, noch echte diphtheriebacillen waren op de Löffler-serumplaten te zien. De kip met het kaakproces, welke intusschen in geneeskundige behandeling was genomen, werd herhaaldelijk op de aanwezigheid van diphtheriebacillen in het kaakproces onderzocht.

De eerste weken liet de gezondheidstoestand van het dier niets te wenschen over. De medicamenteuze behandeling ten spijt kwam het diphtherische proces telkens weer met groote hardnekkigheid terug. Toen drie weken na de eerste cultuurproeven de zieke plek nog eens werd gecuretteerd vóór de applicatie van jodiumtinctuur, werd wederom een weinig bloederig epitheel afschrapsel uitgezaaid op een Löffler-serumplaat. 24 uur later vertoonde deze plaat een reincultuur van prachtige koloniën van bacillen, zooals men zich den Bacil van Klebs-Löffler uit de menschenkeel niet mooier voorstellen kan.

(Stam IV der diphtheroiden.) De bacil was echter niet pathogeen. Infectieproeven bij de cavia en bij kippen verliepen negatief en bij het nader determineeren kwamen meerdere eigenschappen naar voren van diphtherie-achtigen, zooals pigmentvorming na 3 × 24 uur groei, groote Gramvastheid en weelderige groei op eenvoudige voedingsbodems (agar, gelatine).

Tien dagen na deze laatste cultuurproef stierf de kip aan inanitie tengevolge van uitgebreide destructie van den onderkaak.

GEVAL 2.

In het tweede kwartaal van 1923 traden eenige diphtheriegevallen op onder schoolkinderen in het dorpje V. Besmetting van buitenaf kon moeilijk worden aangenomen, totdat op school een bacillendrager werd ontdekt in het kind van een boerenarbeider, dat zelve nooit ziek was geweest en waar, volgens opgave, in huis ook geen diphtherie was voorgekomen.

Nadat het kind van de school was verwijderd kwamen geen nieuwe gevallen meer voor.

Den 5. 8. '25 stelde ik een onderzoek ter plaatse in en vond tegen de achterzijde van het huisje aangebouwd een kippenhok, waarin 12 kippen werden gehouden. Sterfgevallen of ziekteverschijnselen hadden zich — volgens de eigenares — onder deze dieren niet voorgedaan.

De kinderen speelden voortdurend in het kippenhok en met de kippen, waarvan er enkelen zeer tam waren.

Geen enkele kip had diphtheritische processen in de keel.

Van een 5-tal werd keelslijm verzameld en 6. 8. '25 op Löffler-serum uitgezaaid. Na 13 dagen werd een reincultuur gekweekt van middel-groote, zwak gebogen, slanke staafjes, met vrij onregelmatige poolkorreling. Deze bacil groeide zeer zwak op Löffler-serum en bleek pigment te vormen (geelkleuring). Bovendien was hij avirulent en sterk Gram positief volgens Langer. (Stam VI der diphtheroiden.) Submukeuze infectie van een gezonden haan veroorzaakte eenmaal een om-

schreven diphtheriemembraantje, dat overeenkomst vertoonde met de processen, welke optreden na submukeuze injectie van zwak virulente diphtheriebacillen in de kippenkeel.

GEVAL 3.

Den 19. 4. '26 was ik in de gelegenheid een 30-tal kippen te onderzoeken bij G. te L., wiens 8-jarig dochtertje herstellende was van diphtherie. Patiënte was een week te voren met diphtherie-serum behandeld.

Tien dagen vóór het kind ziek werd was een der kippen gestorven en had de eigenaar opgemerkt, dat het linker oog was opgezwollen en gesloten, hetgeen door hem voor „snot" (coryza infectiosa) was aangezien.

Drie dagen vóór mijn bezoek was wederom een kip gestorven en zonder nader onderzoek begraven. Overigens had de eigenaar geen ziekteverschijnselen in den koppel waargenomen; de kippen aten en dronken goed en verkeerden in den vollen leg.

De kort geleden gestorven kip werd opgegraven. Het kadaver was nog vrij goed geconserveerd. In de keel waren geen diphtheritische processen te zien. Ook de overige 30 kippen, welke een voor een werden onderzocht, waren volkomen gezond.

Van een drietal werd keelmateriaal verzameld en den volgenden dag op Löffler-serum uitgezaaid.

Het resultaat was, na talrijke overentingen, een reincultuur van sterk Gram positieve, zwak gebogen staafjes met mooie Neissersche korreling, die avirulent waren voor cavia's en bij kippen geen diphtheritische processen veroorzaakten.

Aan het resultaat van dit onderzoek is geen beslissende beteekenis toe te kennen voor de oplossing der vraag of een epidemiologisch verband tusschen humane en aviaire diphtherie mogelijk is. Het aantal onderzochte gevallen was daarvoor te gering. De mogelijkheid om dit aantal te vermeerderen heeft mij tot mijn leedwezen ontbroken.

Wel echter geeft de negatieve uitslag der gevallen 1, 2 en 3 een kijk op de geringe waarde van vele der vroegere publicaties, in welke bij gelijktijdig of kort opeenvolgend heerschen van humane en aviaire diphtherie een epidemiologisch verband tusschen de beide ziekten werd aangenomen op grond van het vinden van morphologisch en cultureel op den Bacil van Klebs-Löffler gelijkende staafjes in de kippenkeel.

CONCLUSIES.

Onder verwijzing naar de aan het einde van elke paragraaf, of gedeelte daarvan gegeven beschouwingen meen ik tot de volgende conclusies te mogen komen.

1. De *„Bacillus pyocyaneus"* veroorzaakt na submukeuze infectie in de mond-keelholte van de kip een locaal diphtheritisch proces, dat niet generaliseert en gepaard gaat met lichte algemeene ziekteverschijnselen. Dit ziektebeeld is geheel verschillend van dat der heerschende vogeldiphtherie, hetwelk zich kenmerkt door generaliseerende membraanvorming op de slijmvliezen van de mond-keelholte en het oog; door ernstige, vaak doodelijke ziekteverschijnselen en hevige contagiositeit voor andere kippen.

2. De *„Bacillus necrophorus"* speelt geen rol als primaire oorzaak van vogeldiphtherie. Wel zal hij als secundaire infectiebron, bij metastasen in de vogelkeel, aanleiding kunnen geven tot het chronisch worden dezer processen.

   De waarschijnlijkheid is groot, dat deze bacil in gevallen van chronische hardnekkige vogeldiphtherie een rol van beteekenis speelt. Het is wenschelijk dit door een uitgebreid onderzoek na te gaan.

   Onder bepaalde, gunstige omstandigheden (intramusculair) geïnfecteerd, zijn ook bij de kip necrotische weefselveranderingen met dezen bacil op te wekken.

3. De bacteriën, welke in de diphtheritische membranen van de kippenkeel voorkomen, daaronder ook de diph-

theriebacil en diphtherie-achtige bacillen, spelen geen rol in de aetiologie van de heerschende vogeldiphtherie.

4. Het voorkomen van den Bacil van Klebs-Löffler in de keel van zieke en gezonde kippen, is door mij niet waargenomen.

   De gevallen in de literatuur vermeld zijn sporadisch en wijzen op eene toevallige infectie van een bestaand diphtheritisch proces in de kippenkeel met dezen bacil, waaraan geen aetiologische beteekenis te hechten is.

5. Submukeuze infectie van den diphtheriebacil in de mond-keelholte van de kip veroorzaakt locale membraanvorming, welke niet generaliseert en op toxinewerking berust.

6. Een epidemiologisch verband tusschen diphtherie van den mensch en diphtherie van de kip is door mij niet aangetoond kunnen worden.

   Gezien echter de resultaten van mijn onderzoek acht ik het niet waarschijnlijk, dat dit verband bestaat.

7. Bij het differentieeren van diphtherie- en diphtherieachtige bacillen is het wenschelijk het schema van K. Pesch te volgen.

GERAADPLEEGDE LITERATUUR.

A. *Handboeken.*

1. *Baumgärtel:* „Grundriss der theoretischen Bakteriologie". 1924.
2. *Heim:* Lehrbuch der Bakteriologie. 1918.
3. *Hutyra* und *Marek:* Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. 1 en 2 Bnd. 1924.
4. *Jochmann* und *Hegler:* Lehrbuch der Infektionskrankheiten. 1924.
5. *Joest:* Spezielle pathologische Anatomie der Haustiere. 1919.
6. *Klimmer:* „Technik und methodik der Bakteriologie und Serologie". 1923.
7. *W. Kolle* und *H. Hetsch:* Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. 1 en 2 Bnd. 1919.
8. *W. Kolle* und *A. von Wassermann:* „Handbuch der pathogenen Microörganismen". 1913.
9. *K. B. Lehmann* und *R. O. Neumann:* Atlas und Grundriss der Bakteriologie. Dl. 1 en 2. 1920.
10. *Neveu* et *Lemaire:* Parasitologie des animaux domestiques. 1912.
11. *Reinhardt:* „Handbuch der Geflügel Krankheiten".

B. *Mededeelingen en brochures.*

1. *F. Arloing:* „Diphtérie humaine et aviaire". Rapp. du 1 Congrès internat. de Pathol. Comp. Oct. 1912.
2. *Bachmann:* „Echte Diphtherie- und diphtherie ähnliche Bazillen in phagazytose Versuch". Centralbl. f. Bakter. 1 Abt. orig. Bd. 86. H. 6. S. 438.
3. *Bakker:* „Vogeldiphtherie en de Löfflersche diphtheriebacillen". Tijdschrift v. vergel. Geneesk. Bnd. 7. H. 2. en 3. 1922.
4. *Barbier:* „De l'importance des fumiers et des oiseaux de basse-cour dans l'étiologie de la diphtérie". Gazette médicale de Paris. 1889.
5. *Basset: „Variole aviaire".* Rec. de med. vet. Tome C. No. 8. 1924. (Bulletins).
6. *Beach* and *Freeborn:* „Nutritional disease resembling roup". Circular No. 251. Aug. 1922. University of California.

7. *A. Bessemans:* „De huidige stand der Schickproef en der actief vrijwarende inenting tegen Diphteritis. (Broch., uittreksel Vlaamsch Geneesk. tijdschr. 1922—'23".
8. *Von Betegh:* „Beobachtungen über die Pathologie der Geflügelpocken und Geflügeldiphtherie". Deutsche tierärztl. Woch. Schr. 20e Jahrg. 1912 (Ref.)
9. *Birö:* „Beitrage zur Aetiologie der Geflügelpocken". Deutsche tierärztl. Woch. Schr. 22e Jahrg. 1914 (Ref.)
10. *Bitter, Gundel* und *Sancho:* Lebensäuszerungen von Corynebakteriën". Centr. f. Bakt. 97 Bnd. H. 2—3 1926. S. 132.
11. *De Blieck* en *Van Heelsbergen:* „Enting tegen diphtherie en vogelpokken bij kippen". Tijdschr. v. Diergeneesk. 1922. 49e Dl.
12. *Bordet* et *Fally:* „Le microbe de la diphtérie des poules". Annales de l'Inst. Pasteur. 1910 p. 565.
13. *Burnett:* „L'epithélioma contagieux des oiseaux". Annales de l'Institut Pasteur 1906.
14. *Creignou:* „Le bacille de Löffler chez les animaux sains" Thése. Bordeaux. 1898.
15. *Dannenberg:* „Zur Kenntnis der Schleimhautbakteriën und Oscillariën des Geflügels" (Inaugur. Diss.) Archiv f. Wissenschaftl. und prakt. Tierheilk. Bnd. 51. H. 3. 1924.
16. *Emmerich:* „Ursache der Diphtherie der Menschen und der Tauben". Congrès d'Hygiëne de la Haye 1884. p. 247.
17. *P. Engering:* „Zur bakteriologischen Differenzierung der Diphtheriebacillen von den Diphtherie-ähnlichen Stäbchen". Centr.bl. f. Bakt. 1 Abt. Orig. Bd. 89. H. 6. 1923.
18. *Ferré* et *Faguet:* „Contribution à l'étude des rapports qui existent entre la diphtérie humaine et la diphtérie aviaire". Soc. anat. et physiol. de Bordeaux. Juillet 1896.
19. *Galli-Valerio:* „L'état actuel de la question sur l'identité de la diphtérie de l'homme et des animaux". Centr. f. Bakt. 1897. 1 Abt. Bd. 22 P. 500.
20. *Gratia* et *Liénaux:* „Baktériologie de la diphtérie aviaire". Académie de la Belgique. 1898.
21. *Guérin:* „Sur la non-identité de la diphtérie humaine et de la diphtérie aviaire". Rec. de med. vet. 1905.
22. *Hadley* and *Beach:* „Controlling chickenpox, sore head or contagious epithelioma by vaccination". Amer. Vet. Rev. vol. 44. No. 3. '13.
23. *Halasi:* „Beitrage zur Kenntnis der Geflügelpocken und Geflügeldiphtherie". Deutsche tierärztl. Woch. Schr. 22e Jahrg. S. 627. 1914. (Ref.)
24. *Haring* and *Kofoid:* „Observations concerning the pathology of roup and chickenpox". Am. vet. rev. vol. 40. Dl. 6. 1912.

25. *Harrison* and *Streit:* „Roup: an experimental study". Ontario agricultur. coll. and experimental farm. Bull. 132. 1905.
26. *Haushalter:* „Note sur la diphtérie aviaire et ses rapports avec la diphtérie humaine". Rev. med. de l'Est. 1891. p. 289.
27. *Hausser:* „Bakteriologische Untersuchungen über Geflügeldiphtherie". Centr. f. Bakt. 1. Abt. B. 48. 1909. p. 535.
28. *Van Heelsbergen:* Bijdrage tot de kennis der vogelpokken, in het bijzonder met betrekking tot de verwantschap tusschen vogeldiphtherie, stomatitis pustulosa contagiosa equi en vaccine. Tijdschrift v. vergel. Geneesk. Dl. 3 afl. 3.
29. *Henke:* „Ueber experimentelle Diphtherie". „Arbeit aus der patholopathologischen Institut zu Tübingen". 1898.
30. *Jackley:* „A further study of the etiology of roup in fowls. Journal of amer. vet. med. assoc. Bd. 53. pag. 853.
31. *Jorgenson:* Some observations on avia diphtheria". North Amer. Vet. Chicago 1922. 3. p. 112—113.
32. *Kiszkalt:* „Untersuchungen über die Gruppe der Diphtheroiden". (Corynebakterien). Centr. f. Bakt. 1. Abt. orig. Bd. 81. H. 6. S. 444.
33. *Kliewe* und *Westhues:* „Ueber das Vorkommen von Diphtheriebazillen in Wunden bei Pferden". Münchener Medizin. Woch. Schr. 1925. S. 587.
34. *Loir* et *Ducloux:* „Contribution à l'étude de la diphtérie aviaire en Tunisie". Ann. de l'Inst. Pasteur S. 1894. p. 599.
35. *Lubinski:* „Bakteriologische Untersuchungen über Wunddiphtherie". Centr. f. Bakt. 1. Abt. orig. Bd. 85. H. 2. 1921.
36. *Mack* and *Records:* „The controll of contagius epithelioma in chickens by vaccination". (Ref. J. of amer. vet. ass. Bd. 48. S. 196. 1915.)
37. *Moore (Veranus):* „Preliminary investigation of diphteria in fowls". U. S. Dept. of Agric. Bull. No. 8. 1895. p. 39—61.
38. *R. Müller:* „Zur Aetiologie der Geflügeldiphtherie". Centr. f. Bakt. 1. Abt. orig. 31. 1906. p. 423.
39. *R. O. O.'brien:* „Problems in Schick testing and active immunisation". Journ. of Path. and Bact. 1924. 27. 138—939.
40. *Panisset* et *Verge:* „Diphtérie aviaire et epithélioma contagieux". Ref. Schweizer Archiv 30 Sept. 25. S. 441.
41. *K. Pesch:* „Untersuchungen zur Einteilung der diphtheroide Bakteriën. Centr. f. Bakt. 1. Abt. orig. Bd. 92. H. 1—2. 16 Juni 1924. S. 27.
— „Ueber experimentell erzeugte Wunddiphtherie". Centr. f. Bakt. 1. Abt. 93. Bd. 1924. H. 1—4. S. 261.
— „Ueber Natur und Bildung der Diphtheriepolkörnchen". Centr. f. Bakt. 1. Abt. 92. Bd. 16 Juni. H. 1—2. S. 27. 1924.

42. *Piorkowsky:* Berlin. Tierärztl. Woch. Sch. Märx 1907.
43. *Prochaska:* „Die Pseudo-Diphtheriebazillen des Rachens". Zeitsch. f. Hyg. und Inf. Krankheiten. Bd. 24. 1897. S. 373—393.
44. *Radice:* „Beitrage zur Kenntnis der Wunddiphtherie". Centr. f. Bakt. 1. Abt. orig. Bd. 91. 1923. S. 20.
45. *Rappin:* „Diphtérie humaine et aviaire". Rapp. I. congrès int. de Pathol. Comp. à Paris 1912.
46. *Records:* „Contagius epithelioma in chickens". Nevada Stat. Rpt. 1918. (Ref.)
48. *Reseneau* and *Howard Bailey:* „Diphteria immunity". Journ. of Infect. Diseases. Vol. 37. No. 2. Aug. 1925.
49. *Römer:* Berl. Klin. Wochenschr. 1914. S. 503.
50. *Staub* et *Truche:* „Quelques faits concernant la diphtérie aviaire". Congrès Soc. de Biol. Bd. 87. S. 21. 1922.
51. *Von Sturm:* Zeitschr. f. Fleisch- und Milch Hygiene. 24. Jahrg. 1915. S. 221—248.
52. *Uhlenhuth* und *Manteuffel:* „Zur Kenntnis der Geflügelpocken", Centr. f. Bakt. 1. Abt. orig. Bd. 85. H. 5. 1921.

h. 7164

TABEL II.

Tabel voor de indeeling van diphtherie-achtige bacillen volgens het schema van K. Pesch

GROEP	I **Humane diphtherie bacil** virulent — avirulent					II **Pseudo diphtherie bacil** Hofmann — Wellenhof					III A **Paradiphtherie bacil (Lubinski)** vergist saccharose					III B vergist geen saccharose					IV A **xerose groep**					IV B					V **kleurstof-vormer** mende diphtheroide					VI **diphtheroide** saprophyten (vogelbacil enz.)				
Invloed van den voedingsbodem op:	ascites agar	Kleinsche agar	Löffler serum	bloed agar	Levinthal agar	a. a.	K. a.	L. s.	bl. a.	L. a.	a. a.	K. a.	L. s.	Bl. a.	L. a.	a. a.	K. a.	L. s.	Bl. a.	L. a.	a. a.	K. a.	L. s.	Bl. a.	L. a.	a. a.	K. a.	L. s.	Bl. a.	L. a.	a. a.	K. a.	L. s.	Bl. a.	L. a.	a. a.	K. a.	L. s.	Bl. a.	L. a.
Vorm van de bacil . .	middel lang	lang	zeer lang slank	lang slank	lang kort	middel	middel	middel	middel	middel	middel kort	kort	kort	kort	kort	Middel lang tot zeer kort Geen zeer lange en slanke					Middel lang tot lang Dikker en plomper als I					afwisselend lang, slank. kort, plomp.					Afwisselend lang, slank, kort, plomp.				
Groei intensiteit	+++	++	+++	+	±	+++	++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	−	−	−	±	−	−	−	−	±	−	Afwisselend + tot −					Afwisselend + tot −				
Kleur				helder					wit achtig					wit					wit					helder						kleurstof vormend					droog vlak taai	droog vlak taai		
Poolkorreling	±	+	+++	+++	+++ atypisch (in klompen, bacillenlichaam onzichtbaar).	− ?	−	−	±	− ?	± ?	±	± tot ++	±	± ?	± ?	±	± tot ++	±	± ?	±	+	+++	+++	Als groep I (Bact. septatran v. Gelbhe)	±	+	+++	+++	+++	Sterk wisselend (zie Kiszkalt en Behrend)								
Suikervergisting	dextrose	saccharose	maltose	lactose	levulose	d.	s.	m.	lac.	lev.	d.	s.	m.	lac.	lev.	d.	s.	m.	lac.	lev.	d.	s.	m.	lac.	lev.	d.	s.	m.	lac.	lev.	d.	s.	m.	lac.	lev.	d.	s.	m.	lac.	lev.
Dierpathogeniteit	+	−	± +	−	+	−	−	−	−	−	+	+	+	−	+	+	−	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	Sterk wisselend					Sterk wisselend				

STELLINGEN

1.

Intra-bursale injectie van jodiumtinctuur is eene afdoende behandeling tegen bursitis olecrani serosa (legger) van het paard en verdient in de praktijk de voorkeur boven de andere gebruikelijke behandelingsmethoden.

2.

De vaccinatie tegen malleus, zooals deze bij het Indische legerpaard geschiedt, past niet in de voor deze besmettelijke ziekte geldende bestrijdingsmaatregelen.

3.

„Insolatio" en „Hyperthermia" berusten op eene acute hersenhyperaemie; de therapie zij bloedregelend.

4.

Bij de behandeling van acute hoefbevangenheid dient het al of niet afnemen der hoefijzers afhankelijk te worden gesteld van den bestaanden hoefvorm.

5.

Bij honden met eene natuurlijke exophtalmos is in gevallen van accidenteele prolapsus bulbi oculi, repositie van den bulbus, zonder voorafgaande chirurgische verwijding van den rima oculi, gecontraindiceerd.

6.

In streken waar osteoporose heerschend voorkomt, is het raadzaam, lichte voedingsstoornissen en afname van het uithoudingsvermogen als verdachte verschijnselen dezer ziekte te beschouwen.

7.

Het is wenschelijk om na te gaan, of aan den Schickproef bij de kip gelijke waarde toekomt als bij den mensch.