



Dermanyssus avium en haar betekenis voor de overbrenging van vogelcholera

<https://hdl.handle.net/1874/299511>

DERMANYSSUS AVIUM EN
HAAR BETEKENIS VOOR
DE OVERBRENGING VAN
VOGELCHOLERA

DERMANYSSUS AVIUM EN HAAR BETEEKENIS VOOR DE OVER- BRENGING VAN VOGELCHOLERA

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE VEEARTSENIJKUNDE

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT
OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS
JHR. DR. B. C. DE SAVORNIN LOHMAN
HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER RECHTS-
GELEERDHEID VOLGENS BESLUIT VAN DEN
SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN DE
BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER
VEEARTSENIJKUNDE TE VERDEDIGEN OP

VRIJDAG 12 DECEMBER 1930
DES NAMIDDAGS TE 3 UUR DOOR

EGBERT VROOM

GEBOREN TE VRIES

1930

FIRMA JAN HAAN — GRONINGEN

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

AAN MIJN VERLOOFDE

Gaarne maak ik van de mij thans geboden gelegenheid gebruik om U, Hoogleeraren, Lectoren, Conservatoren en Prosectoren in de faculteit der Veeartsenijkunde, dank te zeggen voor het onderwijs, dat ik van U heb mogen ontvangen.

In het bijzonder betuig ik U, Hooggeleerde de Blicck, hooggeachte promotor, mijn grooten dank voor den steun dien ik van U mocht ontvangen. Gij hebt mij niet alleen in de gelegenheid gesteld, mijn onderzoek aan uw Instituut te verrichten, maar ook mocht ik van U veel belangstelling in mijn werk ondervinden, wat mij steeds tot bemoediging is geweest.

Weledelzeergeleerde Nieschulz, vooral ook U blijf ik dankbaar. Het aangeven van het onderwerp, den krachtigen steun ten allen tijde van U ontvangen, zoowel tijdens het onderzoek als ook bij de correctie van dit proefschrift, maken aanspraak op mijn groote erkentelijkheid.

Ook U, weledelzeergeleerde Wawo-Roentoe zeg ik dank voor den steun, dien ik van U heb mogen ontvangen.

Aangenaam is het mij, weledelzeergeleerde Bakker en Hofkamp terug te mogen denken aan den tijd, dien ik met U heb mogen samen werken.

Tenslotte een woord van dank aan allen, die op eenigerlei wijze mij behulpzaam zijn geweest bij de bewerking van dit proefschrift.

UIT DE AFDEELING VOOR TROPISCHE ZIEKTEN VAN
HET INSTITUUT VOOR PARISITAIRE-
EN INFECTIEZIEKTEN TE UTRECHT,
DIRECTEUR: PROF. DR. L. DE BLIECK

INLEIDING.

Onderzoekingen, in de laatste tientallen jaren verricht, hebben aan het licht gebracht, dat arthropoden voor de verspreiding van vele infectieuze ziekten in meerdere of mindere mate verantwoordelijk mogen worden gesteld.

Opmerkelijk is het nu, dat er in dezen tijd nog zoo weinig aandacht is besteed aan de beteekenis, welke bloedzuigende parasieten zouden kunnen spelen voor het ontstaan en de verspreiding van de pluimveeziekten.

Een bijdrage op dit gebied te leveren is het doel van navolgende onderzoekingen; nagegaan zal worden welke beteekenis *Dermanyssus avium* kan hebben voor het ontstaan en de verspreiding van de vogelcholera. Uitgebreide proeven werden hiermede tot dusver nog niet genomen.

Dermanyssus avium is een algemeen verspreide parasiet bij het pluimvee. In vrijwel alle verblijfplaatsen van kippen wordt ze in een meer of minder groot aantal aangetroffen, dikwijls zelfs in groote massa's, bij millioenen en milliarden. Zeer waarschijnlijk zal deze parasiet een rol kunnen spelen bij de verspreiding van vogelcholera.

Achtereenvolgens zal nagegaan worden, ten eersten: de aanwezigheid van den bacil in *Dermanyssus avium*; ten tweeden: de mogelijkheid van overbrenging van den bacil door de steek van de mijt en ten derden: het verwekken der infectie door opname van de mijt per os.

De kwestie van bacillenpassage door het ei en passage via de vervellingen, alsook het optreden van den bacil in de excrementen en zijn virulentie daarin, zal eveneens besproken worden.

Voordat echter tot de bespreking van het experimenteel gedeelte wordt overgegaan, zal het wenschelijk zijn eenige aandacht aan de mijt zelf te besteden, wat betreft haar morphologie en biologie voor zoover dat de mogelijkheid van ziekteoverbrenging kan verduidelijken.

Tot slot volgt nog een klein experimenteel onderzoek omtrent den duur van de aanwezigheid van bipolaire bacillen in de bloedzuigende insecten, *Stomoxys calcitrans* en *Stegomyia fasciata* en in de teek, *Ornithodoros moubata*.

HOOFDSTUK I.

LITERATUUROVERZICHT.

A. OVERZICHT OMTRENT DE OVERBRENGING VAN VOGELCHOLERA (HAEMORRHAGISCHE SEPTICHAEMIE- GROEP) DOOR DERMANYSSUS AVIUM EN ANDERE ARTHROPODEN.

De literatuur geeft weinig gegevens omtrent de overbrenging van vogelcholera door arthropoden. Dit is wel opvallend, daar de vogelcholera voldoende belangrijk geacht mag worden om vorenstaande kwestie bij deze ziekte nader na te gaan, te meer omdat zij vanwege haar septichaemisch karakter zoo bij uitstek geschikt is om door arthropoden (insecten) te kunnen worden overgebracht.

Bij de bespreking der literatuur zal achtereenvolgens nagegaan worden, welke rol *Dermanyssus avium* heeft vervuld bij de overbrenging van ziekten, zoowel vogelcholera als andere en welke de rol van andere parasieten voor de overbrenging van vogelcholera is geweest. Daar de vogelcholera tot de groote groep der haemorrhagische septichaemie behoort en de overige dierziekten tot deze groep behorende, dus aan de vogelcholera zeer na verwant zijn, zullen ook de resultaten met deze ziekten verkregen, nader in het kort vermeld worden.

1. DERMANYSSUS AVIUM ALS ZIEKTEOVERBRENGER.

Directe aanwijzingen geeft de literatuur omtrent de ziekteoverbrenging door de *Dermanyssus* al heel weinig; veelal blijft het bij vermoedens. Waar, meerendeels door toevalligheden, pathogene organismen in de mijt werden aangetroffen, kreeg het vermoeden een vasteren grond, dat de mijt een rol zou moeten spelen bij het overbrengen van ziekten. Werden als gevolg van deze bevindingen proeven genomen met het doel betere gegevens aangaande de overbrenging van ziekten te verkrijgen, dan bleef

het echter bij enkele experimenten, zonder nu het bewijs geleverd te hebben dat de *Dermanyssus* een beteekenis heeft voor de ziekteoverbrenging en verspreiding.

a. *Dermanyssus avium* en vogelcholera.

Dat *Dermanyssus avium* een rol zou kunnen spelen bij de overbrenging van vogelcholera, is blijkbaar tot heel weinig schrijvers doorgedrongen.

Hertel (1904) constateerde de aanwezigheid van vogelcholerabacillen in *Dermanyssus avium*. Enkele mijten, van een aan cholera gestorven gans afgezocht, werden bij duiven subcutaan geïnjecteerd. In één van de vier aldus genomen experimenten stierf een duif aan een cholera-infectie.

Hertel liet voorts in 2 experimenten 100 geïnfecteerde mijten op een gezonde kip zuigen. Beide experimenten verliepen echter negatief.

Klee (1910) is overtuigd dat de mijt infectieziekten (o.a. vogelcholera) kan overbrengen en waar hij in zijn boek handelt over de verspreiding van de vogelcholera schrijft hij:

Bloedzuigende parasieten als wandluizen, *Dermanyssus avium* en vlooiën kunnen de ziekte overbrengen en zijn zeer waarschijnlijk als bacillendragers in hoogere mate de oorzaak van de verspreiding in een koppel dan tot dusver werd aangenomen.

Plasaj (1925) is van meening dat vogelcholera zeer waarschijnlijk door de mijt wordt overgebracht. Experimenten zou hij hiertoe willen nemen.

Voor zoover nagegaan kon worden, zijn *Hertel*, *Klee* en *Plasaj* de eenige schrijvers, die eenige gegevens hebben verstrekt omtrent het verband tusschen *Dermanyssus avium* en vogelcholera. Dit is wel erg weinig, gezien de belangrijkheid van een septichaemische ziekte als de vogelcholera en het veelvuldig voorkomen der mijten.

b. *Dermanyssus avium* en andere ziekten.

Gegevens omtrent de beteekenis van de mijt voor de overbrenging van andere, eveneens infectieuze ziekten, zijn al even schaarsch.

Gallagher (1923) acht het voor zeer waarschijnlijk, dat stekende en zuigende arthropoden, o.a. mijten, een infectie-ziekte kunnen verspreiden. Hij noemt in dit verband alleen de diphtherie (chicken pox).

Gerlach (1925) kon de overbrenging van vogel-spirochaetosis door *Dermanyssus avium* aantoonen. Dit deed hij door een gezonde kip in een kooi te plaatsen, waarin tevoren een ziek dier was geweest, en waarop vele mijten hadden gezogen. Deze aldus geïnfecteerde mijten waren in de kooi achtergebleven. Vijf dagen later vertoonde het proefdier de verschijnselen van spirochaetosis.

Slechts in één experiment kon een positief resultaat verkregen worden. Nauwkeurige onderzoekingen heeft *Gerlach* niet verricht.

Volgens *Riedmüller* (1930) heeft *Dermanyssus avium* als directe overbrenger

van vogelspirochaetosis geen betekenissen. Hoogstens zal de mijt secundair voor de overbrenging in aanmerking kunnen komen.

Wood (1920) geeft een verhandeling over *Lyponyssus bursa* (Berlese) (de tropische vogelmijt), de gewone mijt in die streken waar *Dermanyssus avium* niet voorkomt, n.l. in Afrika, China, Indië, Mauritius, Comora-Islands, Bahamas en Zuid-Amerika.

Deze mijt zou volgens het vermoeden van *Hirst*, aldus *Wood*, de Spirochaetosis bij hoenders overbrengen.

Beller (1924) beschrijft de vergeefsche pogingen, die werden aangewend ter bestrijding van T.B.C. in een pluimveestapel. Dit zou te wijten zijn geweest aan het voortdurend verzwakt houden der dieren door herhaalde aanvallen van de mijten.

Ook *Bishopp* en *Wood* (1917) wijzen in die richting, n.l. dat de dieren veel van de mijten hebben te lijden met het gevolg meerdere vatbaarheid voor ziekten.

Niet alleen vogelziekten, doch ook ziekten van andere dieren zouden door de *Dermanyssus* overgebracht kunnen worden.

Zoo bericht *Hirst* (1926) van de waarschijnlijkheid van overbrenging van pest door *Dermanyssus* van rat op mensch.

Ook protozoaire ziekten zouden in de mijt een tusschengastheer vinden. *Nöller* (1920) geeft dit voor de *Haemaphysalis* aan.

Ook *Macfie* en *Thomson* (1929) vermelden dit. Zij vinden in de mijten de veroorzakers van trypanosomiasis bij kanaries. Voor de directe overbrenging dezer ziekte komen de mijten echter niet in aanmerking.

Nöller vindt tijdens zijn onderzoekingen, in uitstrijkjes van talrijke mijten, een coccobacil van het geslacht *Rickettsia*, die naar de ligging in het uitstrijkje te oordeelen intracellulair zou moeten liggen. In een volgend artikel (*Nöller* en *Kuchling* 1923) uiten hij en zijn medewerker zich voor de mogelijkheid, dat deze *Rickettsia* een rol als ziekteverwekker bij kippen zou kunnen spelen, daar, waar veel mijten voorkomen. Dit zou volgens hem nader onderzocht moeten worden.

Na lezing van het voorgaande is het voldoende duidelijk geworden, hoe weinig er met de *Dermanyssus* is geëxperimenteerd ter bestudeering der aetiologische problemen van heerschende infectieuze pluimveeziekten.

2. VERSCHILLENDE ANDERE ARTHROPODEN ALS OVERBRENGERS VAN VOGELCHOLERA.

Verstrekt de literatuur weinig gegevens omtrent de overbrenging van vogelcholera door *Dermanyssus avium*, eveneens is dit het geval omtrent het overbrengen van deze ziekte door andere arthropoden.

Nuttall (1898) heeft enkele proeven verricht met vogelcholera, miltvuur en muizensepticaemie om na te gaan in hoeverre stekende insecten voor de overbrenging van infectieuze ziekten in aanmerking kunnen komen. Voor zijn experimenten gebruikte hij wandluizen en vlooiën.

Ter verkrijging van geïnfecteerd materiaal liet *Nuttall* hongerende wandluizen op, aan bovengenoemde ziekte gestorven of stervende, muizen zuigen (wandluizen zuigen zeer goed op doode dieren). Bloedopname werd gemakkelijk geconstateerd door de wandluizen tegen het licht te houden. 66 van op deze wijze met vogelcholera geïnfecteerde wandluizen werden direct na de opname van de bacillen op te zamen 5 gezonde muizen gebracht. Hoewel alle

op de gezonde muizen hadden gezogen, trad er toch bij geen van deze dieren een infectie op.

Dezelfde negatieve uitkomsten verkreeg hij bij zijn miltvuur- en muizenseptichaemie-proeven.

Om aan te toonen, hoe lang de vogelcholerabacil met behoud van zijn virulentie in de wandluizen aanwezig blijft, werden er dierproeven verricht, door muizen met maaginhoud van wandluizen te infecteeren.

96 uren na de infectie van de wandluizen (bij 13—16° C. bewaard), kon een muis, na subcutane injectie met maaginhoud van deze, doodelijk geïnfecteerd worden (muis na 48 uur dood). Na 148 uur was met maaginhoud geen doodelijke infectie meer bij de muis op te wekken.

Tevens viel hierbij een behoorlijke achteruitgang van virulentie waar te nemen.

Enkele overbrengingsproeven met vlooiën genomen, verliepen eveneens negatief. Ook in vlooiën constateerde hij een afsterven der bacillen binnen zeer korten tijd.

Nuttall komt tenslotte tot de conclusie:

„Obwohl ich nicht die Behauptung aufstellen will, dass es unmöglich sei, dass Wanzen und Flöhe eine Infektion an Milzbrand, Pest, Hühnercholera und Mäuseseptikämie durch ihre Stiche übertragen können, so glaube ich doch aus meinen Versuchen schliessen zu dürfen, dass ein solcher Uebertragungsmodus zu den Seltenheiten gehört.“¹⁾

Küster (1903) verrichtte ook onderzoekingen met vogelcholera naast andere ziekten als miltvuur, tuberculose en pest. Hij stelde zich ten doel om het lot van den bacil in den darm van de kakkerlak (*Periplaneta orientalis*) na te gaan.

De vogelcholerabacil kon door hem in de excrementen niet aangetoond worden; in den darminhoud, binnen de eerste 24 uur na de infectie, echter wel. De opgenomen bacillen hadden op de kakkerlak geen invloed.

Hertel (1904), die uitgebreide onderzoekingen verrichtte met vogelcholera, heeft zich ook bezig gehouden met de kwestie, welke rol insecten vervullen bij het ontstaan en het verspreiden van deze ziekte.

Door voeding van vliegenlarven, die zich op geïnfecteerd materiaal hadden ontwikkeld, kon hij in twee gevallen een doodelijke infectie bij een proefdier verkrijgen.

Acht dagen oude larven kunnen volgens hem nog virulente bacillen in het darmkanaal bevatten, oudere echter niet meer.

Klee (1910) is van meening dat verschillende bloedzuigende insecten de vogelcholera kunnen overbrengen.

Alleen *Hertel* komt dus tot positieve resultaten. Geen van alle auteurs hebben echter het verband tusschen vogelcholera en insecten grondig bestudeerd.

3. ANDERE ZIEKTEN, TOT DE HAEMORRHAGISCHE SEPTICHAEMIE-GROEP BEHOORENDE, EN INSECTEN.

Opmerkelijk is het eveneens dat er met de overige ziekten, tot

¹⁾ Het is echter niet onmogelijk, dat wandluizen en vlooiën inderdaad een rol zouden kunnen spelen bij de overbrenging van vogelcholera. Zoo bericht *Nöller* (1919) van de aanwezigheid van wandluizen (*Cimex columbarius*), naar schatting ver over de duizend stuks per nest, en vogelvlooiën (*Ceratophyllus gallinae*) in legnesten van kippen. *Railliet* (1866) (ref. *Nuttall* 1898) vond *Cimex lectularius* in groote hoeveelheden in nesten van broedende hoenders. Ook in zwaluwnesten en bij duiven werden deze parasieten gevonden.

de haemorrhagische septichaemiegroep behorende, nog zeer weinig overbrengingsproeven zijn genomen.

Slechts *Nieschulz* en *Kraneveld* hebben zich in Indië er op toegelegd om de verspreidingsmogelijkheden door insecten bij één dezer ziekten, n.l. de buffelseptichaemie, nader te bestudeeren.

De overige gegevens zijn uit de practijk verkregen of door toevalligheden ontdekt.

Nieschulz en *Kraneveld* (1929) hebben op Java ter bestudeering van de rol, die insecten bij de verbreiding van buffelseptichaemie kunnen spelen, experimenten genomen met een groot aantal exemplaren van verschillende Tabanidensoorten, Musciden en Muggen, waarbij het konijn als proefdier werd gebruikt.

De overbrenging gelukte vrij gemakkelijk. Met *Tabanus rubidus* zelfs nog na 6 dagen, met de overige insecten, wel is waar binnen korteren tijd, maar toch ook na een zeer lang interval. Tevens verloren de insecten na de eerste zuiging hun infectie niet en konden er met één en hetzelfde exemplaar meerdere proefdieren na elkaar geïnfecteerd worden. Ook bezaten de gebruikte insecten een opvallend hooge overbrengingscapaciteit.

Schrijvers komen dan ook tot de conclusie:

„Wir glauben dasz eine grosse Zahl von Insektenarten und unter Ihnen besonders (aber durchaus nicht allein) die Tabaniden wegen ihren ausserordentlich hohen Übertragungskapazitäten eine wesentliche Rolle bei der Verbreitung der Büffelseuche spielen werden.

Die lange Dauer der Infektionsfähigkeit der verschiedenen Insektenarten erleichtert ausserdem noch eine Verschleppung der Seuche in bisher nicht infizierte Gegenden.”

De mogelijkheid van bacillenopname door een groot aantal insecten bij een ziek dier wordt nog vergroot door het feit, dat de bacil zoolang reeds voor het optreden van ziekteverschijnselen in het periphere bloed circuleert. *Kraneveld* en *Djaenoedin* (1928) hebben dit bij een tweetal buffels onderzocht. Bij den eenen konden zij door dierenting 21½ uur voor den dood de bacillen aantoonen, bij den anderen buffel dit zelfs 41 uur voor den dood.

Dammann en *Oppermann* (1905) kwamen op grond van verschillende aanwijzingen en door mededeelingen van vee-eigenaren in Duitschland (Hannover) tot de conclusie, dat de septichaemie onder deze runderen zou moeten overgebracht zijn door vliegen, welke waarschijnlijk in die streek niet inheemsch waren.

In een volgend artikel berichten schrijvers, dat zij in de gelegenheid zijn geweest deze vliegen (*Simulidae*) te verzamelen. Ze hebben hiermede onderzoekingen verricht en konden microscopisch, cultureel en door entingen op proefdieren aantoonen, dat *Simulidae*, genomen van een aan runderseptichaemie lijdende koe, de bipolaire bacillen bevatten. *Dammann* en *Oppermann* beschouwen de *Simulidae* dan ook als de overbrengers van deze veeziekte.

Schmidt (1925) vermoedt dat *Culicoides paraense* (na verwant aan de *simulium*-soorten) een rol bij de overbrenging der runderseptichaemie speelt. Onderzocht heeft hij dit echter niet.

Uit tekenen, genomen van zieke dieren, heeft hij geen bipolaire bacillen kunnen kweeken.

Gude (1925) heeft enkele gevallen waargenomen, waarbij het niet onwaarschijnlijk is, dat insecten een rol bij het ontstaan dezer ziekte hebben gespeeld.

Lüpke (1900) was in staat waarnemingen bij herten te verrichten. Opvallend was het, dat de septichaemie regelmatig in de warmste maanden optrad, en dus in den tijd wanneer talrijke vliegen aanwezig zijn.

In de gevallen door *Lüpke* waargenomen, vertoonden de ooren talrijke

vliegensteken, echter zonder dat daar ter plaatse eenige zwelling aanwezig was. Daarentegen vond hij de schapenluisvlieg (bij het wild veelvuldig voorkomend) op een schinkelzwelling. Maaginhoud van deze insecten, bij muizen ingespoten, veroorzaakte bij deze dieren een infectie.

Volgens *Lüpke* mag men dus aannemen, dat deze ziekte ook door de schapenluisvlieg van het eene dier op het andere kan worden overgebracht. De vele vliegensteken, zonder eenige zwelling, spraken tegen de infectie door de gewone vliegen.

Magnusson (1914) vermoedt dat insecten, in het bijzonder *Simulia*, bij de verspreiding der septichaemie onder rendieren, een rol zouden spelen, temeer daar de ziektegevallen in den zomer toenemen en de *Simulia* in dit gedeelte van het jaar een ware plaag voor de rendieren kunnen vormen. De natuurlijke infectie zou volgens hem bij deze dieren hoofdzakelijk door de huid moeten plaats vinden, daar voederinfectie of infectie via de luchtwegen niet waarschijnlijk is.

Dowson (1901) liet een (niet nader genoemde) vlieg de bacillen der varkens-septichaemie van een cultuur opnemen. Deze geïnfecteerde vlieg werd nu bij een konijn subcutaan ingespoten met het gevolg, dat het proefdier binnen 24 uur aan de infectie stierf.

Scott (1917—18) vond bij toeval in een huisvlieg uit zijn proefdierstal de *Bacillus cuniculicidae*, de verwekker der septichaemie bij konijnen en caviae. Deze bevinding was des te merkwaardiger, daar in den loop van de vorige 3 jaren twee epidemiën onder eigen konijnen en caviae waren uitgebroken, zonder echter een directe oorzaak te kunnen vinden.

Scott zegt dan ook:

„However, the discovery of *Bacillus cuniculicida* on the common house-fly (*Musca domestica*) indicates an explanation for the sudden occurrence of the epidemics. Doubtless, the house-fly at times carries *Bac. cuniculida* from pens of infested animals to pens of healthy animals.”

Nuttall (1898) heeft bij zijn overbrengingsproeven met muizenseptichaemie geen succes. De overbrenging der ziekte door wandluizen en vlooiën is niet gelukt.

Nieschulz en *Kraneveld* zijn dus de eenigsten die het vraagstuk van overbrenging voldoende hebben belicht. De overige auteurs hebben geen overbrengingsproeven genomen. De enkele experimenten door hen verricht, bewezen de aanwezigheid van den bacil in het insect maar gaven niet de zekerheid van overbrenging. Dit laatste werd slechts verondersteld. Deze veronderstelling kreeg echter vasteren voet naarmate de omstandigheden meer in deze richting wezen, zooals de bevindingen van *Dammann* en *Oppermann* en het door *Lüpke* constateeren van de aanwezigheid van insecten op de schenkelzwellingen.

B. SAMENVATTING DER LITERATUUR-GEGEVENS OMTRENT HET LOT VAN PATHOGENE BACILLEN IN ARTHROPODEN.

Het onderzoek betreffende de aanwezigheid van den vogelcholerabacil in *Dermanyssus avium* bracht aan het licht, zooals wij later zullen zien, dat deze pathogene bacil zich zeer lang in de mijt kan handhaven zonder in virulentie in sterke mate achteruit te gaan. Toen dit bleek, werden ook de literatuurgegevens verzameld betreffende het verband tusschen pathogene bacillen en arthropoden en nagegaan hoelang deze bacillen zich in de diverse arthropoden kunnen handhaven.

Het zou ons te ver voeren om de verkregen gegevens hieromtrent hier afzonderlijk nader te vermelden. Derhalve wordt slechts een globaal overzicht gegeven door alleen de hoofdzaken te vermelden.

Uit de literatuurgegevens valt te concludeeren, dat:

1. vliegen doorgaans gedurende slechts een korten tijd dragers van pathogene bacillen kunnen zijn (hoogstens enkele dagen).
 2. vlooien, wandluizen en teeken zeer lang pathogene bacillen in zich kunnen bergen (maanden lang).
 3. uitsluitend de pestbacil zich in arthropoden vermeerdert.
 4. de opname van pathogene bacillen slechts in enkele gevallen een schadelijken invloed op den levensduur van de arthropoden uitoefent. (B.v. het afsterven van de wandluis en de tarbaganluis t.g.v. een pestinfectie.)
 5. vele pathogene bacillen zich in het insect tijdens de metamorphose van larve tot imago kunnen handhaven, maar dat de overerving via het ei zelden voorkomt. (*Bacterium tularense* in *Dermacentor andersoni*.)
 6. slechts in enkele gevallen de bacil intracellulair komt te liggen. (*Bacterium tularense* in *Cimex lectularius* en in *Dermacentor andersoni*.)
 7. zelden de arthropoden gedurende het geheele leven dragers van eens opgenomen pathogene bacillen blijven; veelal zuiveren zij zich na korteren of langeren tijd van de toevallig opgenomen bacillen.
 8. veelal de opgenomen bacillen weer met de excrementen worden uitgescheiden.
-

HOOFDSTUK II.

MORPHOLOGIE EN BIOLOGIE VAN DERMANYSSUS AVIUM.

1. MORPHOLOGIE VAN DERMANYSSUS AVIUM.

Dermanyssus avium (*Dugès*) ook wel genoemd *Dermanyssus gallinae* (*Redi, De Geer*) behoort tot de orde der mijten. Onder den naam „vogelmijt” is zij algemeen bekend.

Het lichaam van de mijt is peervormig, achter breed uitlopend, aan rug en buik iets afgeplat. Het achterlijf is spaarzaam met korte en wijduitstaande haren bezet; zoo ook de pooten. De kleur varieert van helderrood over donkerzwart tot geelwit, al naar mate het verteringsproces van het opgenomen bloed is gevorderd, of in het geheel geen bloed wordt opgenomen. De darm is door de huid heen zichtbaar. De grootte verschilt, afhankelijk van al of geen voedselopname en bij het wijfje mede afhankelijk van het al of niet gevuld zijn met eieren. Zoo kan de grootte van het wijfje komen tot 0.75 mm. bij 0.40 mm. (*Sluiter, Swellengrebel en Ihle.*)

Wat vorm en grootte van de monddeelen betreft, hiervan zegt *Ewing* (1922):

„Female. Palpi reaching the tips of femora of anterior legs; chelicera apparently with both arms present but each is needle-like, and the two fit together to form a single piercing structure.

Male. Chelicerae each with the following armature: two long, sinuous, tapering and adhering elements, one which surpasses the other with its distal, setiform, hoorlike terminal portion; and a short spinelike or styletlike process, the latter probably representing the fixe gela.”

2. VERSPREIDING EN VOORKOMEN VAN DERMANYSSUS AVIUM.

De mijt is algemeen verspreid.

„This species is probably present in all localities all over the world where chickens are raised to any extent.” *Ewing.*

In de koudere streken, met een klimaat zooals in Nederland,

komen de mijten 's winters grootendeels tot rust. Ze blijven gedurende de wintermaanden in hun schuilplaatsen verborgen; voedsel wordt er dan niet opgenomen; ook heeft er dan geen vermeerdering plaats. Experimenteel kon dit in een kweekkerij, welke gedurende de wintermaanden aan de buitentemperatuur werd blootgesteld, worden waargenomen.

Köhnlein (1925) vond echter tijdens de wintermaanden een voortdurende activiteit bij een gedeelte der mijten. Hij constateerde voorts, dat op een periode van activiteit een rustperiode volgt, zoowel des zomers als des winters. De kou werkt echter wel remmend op de bewegingen.

Daar, waar de temperatuur in de hokken kunstmatig hoog wordt gehouden, gaat de ontwikkeling en activiteit der mijten gedurende het geheele jaar ongestoord door.

In de warmere streken gevoelt de mijt zich meer thuis. Hier gaat de vermeerdering en ontwikkeling het geheele jaar ongestoord door.

„Although the species sometimes becomes very numerous in the chicken houses in the northern part of the United States, the shorter breeding season there usually makes it of less importance than in the South, where breeding continues throughout the year with little or no interruption.”

„The weather is never too hot for this mite to thrive, and development is most rapid in midsummer. In the Southern States the mites are not entirely dormant during the winter but feed and develop when the temperature is not low.

This is also true in the North in chicken houses that are heated. Where some development takes place throughout the year, and where a complete generation of mites is developed in a week times, hordes of mites will present in a poultry house with be in a comparatively short time if something is not done to destroy them.” (Bishopp and Wood.)

In de eigenlijke tropen komt in plaats van de *Dermanyssus avium* de *Lyponyssus bursa* voor.

Niet alleen de temperatuur, maar ook de vochtigheidsgraad heeft invloed op de geografische verspreiding der mijten. Hoewel de mijt een zekere mate van vochtigheid behoeft, toch wordt ze in de meer drogere streken in grotere hoeveelheden aangetroffen dan in de vochtige.

„Although many assert that dampness has much to do with the abundance of the chicken mite, experience has shown that the mite occurs in rather greater numbers in the semiarid and arid regions of the Southwest than in the more humid parts of the South.” (Bisshop and Wood.)

Köhnlein kon de mijten nooit in vochtige stallen vinden, zelfs

niet wanneer vlak in de nabijheid droge stallen met vele mijten werden aangetroffen.

* *
*

De vogelmijt komt uitsluitend voor op vogels. Zij wordt gevonden op kippen, kalkoenen, duiven, eenden, ganzen, fazanten, spreeuwen, zwaluwen, musschen en kamervogels.

Komen mensch en dier (paard, rund, geit, hond, kat, konijn) in de nabijheid van besmette kippenhokken, dan gaan de mijten ook hierop over, zonder echter te zuigen, maar wel irritatie gevende.

Volgens *Köhnlein* komen de mijten minder voor op watervogels, als eenden en ganzen, wat een gevolg zou zijn van de afwijkende levenswijze van deze dieren. Meestal overnachten de eenden en ganzen op vochtige plaatsen en niet op droog materiaal van hout gemaakt, wat voor de mijt weer een noodzakelijke levensbehoefte is. Meestal worden die watervogels door de mijten aangevallen, welke met hoenders in een en hetzelfde hok worden ondergebracht.

* *
*

Hoewel *Dermanyssus avium* in de nabijheid van kippen in één en hetzelfde hok blijft en dus niet actief naar andere kippenhokken overgaat, toch kan ze passief naar verschillende plaatsen overgebracht worden. Dit is van beteekenis voor de overbrenging van ziekten.

Het kan gebeuren dat de pluimveehouder zelf of zijn dieren de mijten aan kleeën of huid van het eene hok naar het andere overbrengen. Ook als gevolg van de levensgewoonten van de mijt is het mogelijk, dat er een verspreiding plaats vindt. Zoo komt het voor, ook naar eigene ervaring, dat de mijten op de kippen achterblijven, om pas na verloop van enkele dagen hun gastheer weer te verlaten.

„Chickens may carry a few mites (sometimes a hundred or more) in their feathers during the day following a night spent in infested quarters, but most of these leave the host during the following night. In some cases mites may remain on chickens during three days and nights, but nearly all become engorged and leave them by the third night.”
(*Bisshop and Wood.*)

Ook vrij levende vogels worden voor de verspreiding aansprakelijk gesteld, o.a. spreeuwen, musschen en duiven.

Het is verder bekend dat verschillende andere arthropoden tijdelijke gastheeren der *Acarinae* kunnen zijn. Zoo heeft *Goodall* (1906) waargenomen dat *Muscidae* (vooral in den zomer) dragers

waren van verschillende soorten der Acarinae, o.a. *Dermanyssus*. Andere arthropoden zouden dan zelfs voor de verspreiding kunnen zorgen.

Dermanyssus avium krijgt dus voldoende gelegenheid om van het eene hok naar het andere over te gaan.

3. ONTWIKKELING EN LEVENSGEWOONTEN VAN DE MIJT.

De ontwikkeling en levensgewoonten zijn in het bijzonder door *Wood* (1917) en *Köhnlein* (1925) nauwkeurig bestudeerd. Aan de hand van hunne onderzoekingen willen we deze even kort bespreken en dan met eigen waarnemingen aanvullen.

De ontwikkelingcyclus van ei tot imago duurt in het algemeen van 8—10 dagen. Volgens *Bishopp* en *Wood* kan de ontwikkeling zelfs binnen 7 dagen afgelopen zijn. Deze gegevens zijn echter onder de allergunstigste omstandigheden verkregen.

Direct na het zuigen verlaten de mijten de kip en zoeken veilige schuilplaatsen (naden en spleten) in de directe nabijheid van den gastheer op, vooral aan de einden van de zitstokken in het nachtverblijf der vogels.

In deze schuilhoeken heeft ook de bevruchting en de ontwikkeling plaats. Het bevruchte wijfje legt spoedig na voedselopname haar eieren. Deze eieren worden in hoopjes gedeponneerd en door een klevende stof bijeen gehouden.

Uit dit eitje komt al spoedig de larve (ongeveer na 48 uur). Deze bezit 3 paar pooten en is traag in hare bewegingen. Ze neemt geen voedsel op. Na 24 uur gaat ze door vervelling in het eerste nymphenstadium (protonymphe) over. Deze nymphe bezit 4 paar pooten, is veel actiever dan de larve, en neemt wel voedsel op. Na voedselopname gaat ook deze na één of meerdere dagen vervellen en wordt dan deutonymphe. Deze is eveneens zeer actief en zuigt bloed.

Tijdens mijn onderzoekingen heb ik meerdere malen waargenomen dat de nymphen na een eenmalige voedselopname niet gingen vervellen. Denkelijk hebben deze nymphen nog eens voedsel moeten opnemen om tot een vervelling te kunnen geraken. Voorts viel op, dat de vervellingen mede afhankelijk zijn van de temperatuur. Soms trad de vervelling na 24 uur op, soms echter ook pas na meerdere dagen. Ditzelfde kwam ook voor bij mijten, welke bij gelijke temperaturen werden gehouden, zoodat aangenomen moet worden, dat nog andere factoren op de ontwikkeling inwerken.

Na vervelling van de deutonymphen gaan deze tot imagines over, zoowel mannetjes als wijfjes. Het wijfje zal direct de gelegenheid tot voedselopname zoeken, het mannetje echter niet; deze wil direct tot de bevruchting van het wijfje overgaan. De

bevruchting vindt plaats in de schuilplaatsen. Op den gastheer werden nooit exemplaren in paring aangetroffen.

Tijdens de bevruchting wordt het wijfje in hare beweging door het mannetje, dat aan de onderzijde van het wijfje, door de pooten om het achterlijf van dat wijfje heen te slaan, blijft vastgehecht, niet belemmerd. Het was opvallend dat slechts alleen de kleine vrouwelijke individuen werden bevrucht; groote volgezogen mijten werden nooit in paring aangetroffen. De veel kleinere mannetjes zouden ook moeilijk de grootere wijfjes kunnen omklemmen. Steeds waren het kleine volgezogen wijfjes welke door niet gezogen hebbende mannetjes werden bevrucht. Geen enkel volgezogen mannetje werd ooit in paring aangetroffen.

Volgens *Wood* worden er gemiddeld 4 eitjes per dag gelegd. Dit feit tezamen met de snelle ontwikkelingsmogelijkheden onder de gunstigste omstandigheden doet *Wood* tot de conclusie komen, dat één wijfje in 5 weken tijds tot een nakomelingschap van 1.631 exemplaren kan komen. In acht weken tijds zou dit getal kunnen opklimmen tot 2.609. Bij een zoo snelle vermeerdering is het te verklaren, dat de mijten in vele kippenhokken bij millioenen en milliarden worden aangetroffen.

Deze snelle ontwikkelingsgang kan natuurlijk alleen onder de allergunstigste omstandigheden plaats vinden. In Nederland zal dit gedurende de warmste maanden het geval zijn. In landen waar de temperatuur voor de ontwikkeling steeds gunstig is, zal dit gedurende het geheele jaar zoo zijn.

* *
*

De mijten vallen hoofdzakelijk 's nachts hun gastheer aan, nemen voedsel op en keeren weer naar hun oude schuilhoeken terug. De mijten, vooral de volgezogen en eierleggende exemplaren, mijden het daglicht. De hongerende mijten verlaten op warme dagen wel hun schuilplaatsen en zijn bij daglicht overal aan de wanden en op de zitstokken in grooten getale te vinden.

In sterk besmette stallen konden millioenen van deze hongerende mijten overal op de zitstokken en aan de wanden aangetroffen worden. Zelfs was dit in het dagverblijf der kippen het geval. Vele van deze exemplaren werden daarbij door de kippen opgepikt.

Het bovenstaande werd echter alleen op de warmste dagen geconstateerd. Bij daling der temperatuur gaan ook de hongerende mijten zich weer in hun schuilplaatsen tot koloniën terugtrekken.

Experimenteel konden de mijten bij daglicht en zelfs onder sterke kunstbelichting tot voedselopname gebracht worden.

's Avonds wanneer de kippen op stok gaan verlaten de mijten hun schuilhoeken en vallen den gastheer aan. Denkelijk verlaten

de mijten hun schuilplaatsen mede tengevolge van den lichten schok, welke wordt waargenomen wanneer de kippen op stok gaan. Steeds kon worden waargenomen, dat juist hongerende mijten voor een dusdanigen prikkel gevoelig zijn.

De mijten blijven slechts kort op hun gastheer. Tijdens het zuigen op den gastheer, doch ook wanneer de mijten, na gezogen te hebben hun gastheer weer gaan verlaten, worden vele van deze door de kip opgepikt.

Wanneer de mijten zich eenmaal in hun schuilhoeken hebben teruggetrokken, dan zullen zij deze niet eerder weer verlaten dan wanneer de behoefte tot voedselopname zich weer doet gevoelen. Naar mate de vertering sneller voortschrijdt, en dit proces is afhankelijk van de temperatuur, zal de mijt eerder of later tot een herhaalde voedselopname overgaan. Zeker duurt dit enkele dagen, zoo niet langer.

* *
*

Van beteekenis is voorts hoelang het eigenlijke zuigingsproces duurt.

Gegevens hieromtrent waren lastig te verkrijgen. *Wood* geeft aan, dat er minstens 20 minuten verlopen, voordat de mijt na het aanzetten haar gastheer weer gaat verlaten. Dezelfde ervaring heb ook ik herhaalde malen opgedaan.

Het eigenlijke zuigingsproces werd door mij nader bestudeerd om den tijd hiervoor benodigd, beter te leeren kennen.

Een glazen buisje met een wijde opening, waarin verscheidene hongerende mijten, werd op de kaalgeknipte huid van een duif gehouden. Hierdoor kregen de mijten de vrije beschikking over een gedeelte van de huid en met behulp van een loupe werden zij in hun bewegingen nauwkeurig nagegaan.

Op verschillende tijden van den dag werden zulke mijten geobserveerd, 's morgens, 's middags en 's avonds en ook bij kunstlicht.

Geconstateerd kon worden, dat een minimum-tijdsduur van drie minuten benodigd was voor het zich geheel volzuigen, gerekend vanaf het moment, dat de eerste bloedsporen in den darm zichtbaar werden. Deze eerste bloedsporen in den darm zijn bij het doorzichtige geelwitte lichaam van de hongerende mijten, vooral onder vergrooting, zeer duidelijk waar te nemen. Worden de enkele oogenblikken, vanaf het rustig op de huid blijven zitten (het eigenlijke doorboringsproces van de huid door den steeksnuut is zeer slecht te constateeren) tot het moment van het optreden der eerste bloedsporen in het darmkanaal mede in rekening gebracht voor den tijdsduur van het zuigingsproces, dan mag aangenomen worden, dat deze handeling onder normale omstandigheden niet meer tijd dan 5 minuten vraagt.

Verreweg de meeste mijten (in het buisje bevonden zich tijdens elk experiment ongeveer 50 hongerende mijten) klauterden bij deze proeven, na even snel over de huid heen en weer gelopen te hebben, weer tegen het glas omhoog en bleven ergens aan den wand in koloniën rusten, vooral daar, waar de wand iets warmer was dan elders. De heel enkele, die tot voedselopname overging, deed dit pas na een zeer langen tijd en na veelvuldige verwisseling van plaats. Slechts bij uitzondering ging de parasiet gretig tot voedselopname over.

Het was opmerkelijk, dat de hongerende mijten experimenteel zoo slecht tot zuigen waren te krijgen en dat dag of nacht, licht of duisternis hierop geen invloed hadden. Dan eens gingen de mijten 's morgens het liefst tot voedselopname over, dan weer 's middags (na 's morgens vergeefs gepoogd te hebben), terwijl 's avonds de resultaten niet beter waren, dan die bij het volle daglicht verkregen. Het is wel merkwaardig, dat de beste resultaten hoofdzakelijk midden op den dag, ja zelfs onder sterke kunstbelichting werden verkregen.

Om welke redenen zulke slechte resultaten werden verkregen en welke factoren er juist in die gevallen, waarbij de mijt gretig tot zuigen overging, hebben medegewerkt, was moeilijk aan te geven. De mijten verkeerden niet in hun natuurlijke omstandigheden, waren n.l. in zeker opzicht aan den willekeur van den onderzoeker gebonden. Werden dergelijke hongerende mijten zonder eenige contrôle vrij op een duif gelaten, dan werd door zoo goed als alle mijten voedsel opgenomen.

Misschien had de omstandigheid, dat er op de kaalgeknipte huid geëxperimenteerd werd, ook invloed. Het was n.l. wel opmerkelijk, dat vele mijten tijdens het experimenteren onder de stompjes van de afgeknipte veeren bedekking zochten. Voedsel werd door hen echter niet opgenomen.

De mijten, welke tijdens deze experimenten tot zuiging overgingen, deden dit echter zonder eenige beschutting.

Aan *Köhnlein* is het overigens niet gelukt de mijten experimenteel tot zuigen te brengen. Hij zegt hieromtrent:

„Es scheint also schlechterdings unmöglich zu sein, einzelne Milben willkürlich zu ernähren und daher auch ausgeschlossen diese isoliert in der ganzen Lebensperiode zu beobachten.“

4. LEVENSDUUR EN WEERSTANDSVERMOGEN VAN DE MIJT.

In een droge omgeving en bij kamertemperatuur bewaard, konden de mijten in reageerbuisjes meer dan 135 dagen in het leven behouden worden. Deze mijten werden gedurende dezen tijd niet in de gelegenheid gesteld om voedsel op te nemen. Na deze 135 dagen werden de proeven afgesloten en werd er daarna geen verdere contrôle op de mijten uitgeoefend. Onge-

twijfeld kunnen mijten nog langer in het leven gehouden worden; vooral zal dit bij lagere temperaturen het geval zijn.¹⁾

Goodall bericht van een bewaring der mijten zonder voedselopname van meer dan een jaar. Ook andere schrijvers berichten van een zeer langen levensduur. Komt de mijt in de gelegenheid om voortdurend voedsel op te nemen, dan kan de mijt aanmerkelijk veel langer in het leven blijven.

De mijt is resistent, zoowel tegen temperatuurschommelingen als wel tegen de verandering van den vochtigheidsgraad. Zoo konden vele honderden mijten gedurende 120 dagen in een ijskast bij 0° C. bewaard worden. Een zeer gering percentage was na verloop van dezen tijd gestorven. Daar deze mijten na de 120 dagen voor de experimenten werden gebezigd, kon verdere controle niet worden uitgeoefend. Naar alle waarschijnlijkheid kunnen de mijten nog veel langer deze temperatuur van 0° C. doorstaan.

Volgens *Köhnlein* kunnen de mijten een koude van -8° C. doorstaan, mits in een droge omgeving. In een vochtige omgeving kunnen ze dit echter niet. *Köhnlein* kon tevens de mijten dagen lang onder water in het leven behouden. Hij heeft zelfs zonder schadelijke gevolgen de mijten gedurende enkele uren in ijs kunnen insluiten.

Is een te groote droogte schadelijk voor de mijt, een te groote vochtigheid is dit voor de parasiet zeer zeker. Is de vochtigheid b.v. dusdanig, dat het water tegen de wanden condenseert, dan sterven de mijten binnen zeer korten tijd (enkele dagen) af.

Levensduur en weerstandsvermogen van de mijt zijn dus zeer groot.

5. INVLOED VAN DE MIJT OP DEN GASTHEER.

Dermanyssus avium bezit een uitgesproken parasitair karakter. Ze is een bloedzuiger van het ergste soort. Kan ze individueel in verhouding tot haar klein lichaam veel bloed opnemen, en masse haar gastheer aanvallend, kan ze het dier zeer veel bloed onttrekken, zoo zelfs, dat het dier tengevolge van het vele bloedverlies ten gronde gaat.

Door het herhaald laten zuigen der mijten op kippen in de kwekerij werd al spoedig opgemerkt, dat de hiervoor gebezigde kippen sterk in voedingstoestand achteruitgingen. De dieren kregen een bleeken kam en werden versuft, wat vooral direct na het verblijf in de kwekerij het geval was.

Toen de kwekerij nog weinig mijten bevatte, viel dit minder spoedig waar te nemen. De kippen konden de herhaalde aanvallen

¹⁾ Latere waarnemingen hebben aan het licht gebracht, dat dit niet 135 dagen, doch minstens 7 maanden kan bedragen.

van weinig mijten oogenschijnlijk goed doorstaan, op den duur echter ging de voedingstoestand achteruit, totdat tenslotte de dieren geheel aan uitputting ten gronde gingen.

Later toen het aantal mijten sterk vermeerderde, werd het verloop anders. Het voortdurende onttrekken van weinig bloed maakte toen plaats voor een groot bloedverlies ineens. Den dieren werd nu in één nacht zooveel bloed onttrokken, dat de hierdoor opgetreden anaemie, uiterlijk aan de sterke bleekheid van den kam viel waar te nemen. De dieren waren tevens erg versuft.

Een tweeden even hevigen aanval zouden zulke dieren niet hebben kunnen doorstaan. Zulke dieren werden dan ook niet direct weer in de kwekerij gebracht, maar hen werd eenigen tijd rust gegeven om zich weer geheel te kunnen herstellen.

De dieren verzetten zich heftig tegen zulk een hevigen aanval. Indien mogelijk, dan trachtten ze uit de kwekerij te ontsnappen. Dit deden de dieren niet toen in de kwekerij nog weinig mijten aanwezig waren en de aanval der mijten zich minder hevig deed gevoelen.

Toen het maximum aantal mijten in de kwekerij bereikt was, werd zelfs een eenmalige aanval voor den gastheer noodlottig. Bij sectie werden dan steeds vele honderden mijten in de krop aangetroffen. (Zie blz. 90.)

De literatuur vermeldt ook dergelijke gevallen. Deze waren dan uit de practijk afkomstig, een bewijs in welke groote hoeveelheden deze parasieten in slecht onderhouden stallen kunnen voorkomen.

Meermalen maakt de literatuur melding van gevallen, waarbij de kippen door herhaalde aanvallen der mijten in voedings-toestand sterk achteruitgaan. Vleesch en eierproductie dalen en door de optredende verzwakking worden de dieren vatbaarder voor ziekten.

Ook mechanische ziekteverschijnselen kunnen door de mijt veroorzaakt worden. De mijten kunnen doorlopend op hun gastheer achterblijven, b.v. in neus en ooren, zoowel bij vogels als bij zoogdieren, en hier catarrh en ontsteking veroorzaken. Bij paarden kunnen ze aanleiding geven tot huiduitslag; zoo ook bij den mensch. Meestal blijft het echter bij den mensch tot eenige irritatie beperkt.

6. ENKELE BIOLOGISCHE WAARNEMINGEN.

Door de dagelijksche bestudeering van een groot aantal mijten in de kwekerij, konden verschillende waarnemingen verricht worden, welke bij vrijlevende mijten in kippenhokken minder goed hadden kunnen geschieden.

a. *De neiging tot kolonievorming.*

De mijten zijn zeer sterk geneigd tot het vormen van koloniën. Toen de kweekkerij nog weinig mijten bevatte, was deze kolonievorming zeer sterk uitgesproken aanwezig. Vooral werden deze koloniën daar gevormd, waar de ruimte in de schuilplaatsen het nauwst was.

Steeds bleven de eens gevormde koloniën in hun karakteristieke vorm op dezelfde plaats aanwezig. De mijten moeten dus eigenschappen bezitten om steeds na een voedselopname hun oude schuilplaatsen terug te kunnen vinden.

Later, toen het aantal mijten sterk vermeerderde, groeiden al deze geïsoleerde koloniën tot één groote tezamen.

De kolonievorming komt het sterkst bij koud weer naar voren. Is bij warm weer deze eigenschap bij volgezogen mijten het sterkst aanwezig, bij daling der temperatuur wordt dit anders; dan scharen alle mijten, zoowel volgezogen als hongerende mijten, zich tot koloniën tezamen.

b. *Invloed van thermische en mechanische factoren op de mijten.*

Bij warm weer gaan de hongerende mijten uitzwermen en zijn overal op de wanden en op de zitstokken aanwezig. Hoe hoger de temperatuur, des te meer vindt dit uitzwermen plaats, vooral midden op den dag. Daalt de temperatuur weer iets, dan scharen de mijten zich weer tot koloniën tezamen.

Werd de kweekkerij plaatselijk iets meer verwarmd, dan nam de activiteit der mijten door de uitstralende warmte sterk toe. De volgezogen mijten reageerden echter niet op dezen prikkel.

Zacht kloppen tegen de wanden der kweekkerij of op de zitstokken had dezelfde uitwerking. De mijten kwamen, als gevolg van deze trilling, bij massa's uit hun schuilhoeken te voorschijn; vooral in de warmste maanden werd dit waargenomen. Ook op dezen prikkel reageerden slechts alleen de hongerende mijten. De mijten, welke pas kort geleden voedsel hadden opgenomen, alsook de nymphen, welke nog niet hadden gezogen, reageerden hierop niet.

Van deze eigenschap werd, zooals wij later zullen zien, gebruik gemaakt voor het verzamelen van hongerende mijten.

Zeer waarschijnlijk zal in de natuur deze eigenschap een rol spelen bij het opzoeken van een gastheer. Wanneer 's avonds de kippen op stok gaan, zal hierdoor een lichte schok of trilling in de zitstokken ontstaan, alsook in de wanden in de omgeving van de zitstokken, dus juist op de plaatsen waar de mijten hun schuilplaats hebben. Hierdoor zullen de mijten in hun rust verstoord worden en tot een aanval overgaan.

c. Een afwisselende periode van activiteit en rust, zooals Köhnlein dat aangeeft bij vrijlevende mijten in kippenhokken, werd in de kweekkerij niet geconstateerd.

De mijten verkeerden in de kweekkerij echter niet in hun natuurlijkste omstandigheden. Naar willekeur werd op bepaalde tijden aan de mijten de gelegenheid tot voedselopname gegeven en er werd geen rekening gehouden met hun natuurlijke behoeften. Door het plaatsen der kweekkerij in een ruimte, waar de wisselende buitentemperatuur minder invloed uitoefende, kwamen ook daardoor de mijten in gunstiger omstandigheden. In de kweekkerij hebben de mijten steeds, wanneer ze daartoe in de gelegenheid werden gesteld, voedsel opgenomen. Toen de buitentemperatuur daalde (October), werd dit anders. Toen namen niet meer alle mijten voedsel op, wanneer hun dit werd geboden, maar bleef het grootste gedeelte in hongerenden toestand, in koloniën vereenigd, in rust.

Bij verplaatsing van één der kweekkerijen naar de tropische kamer van het Instituut, werd de toestand weer als in de warmste maanden. De activiteit nam sterk toe, er werd weer voedsel opgenomen en er had een sterke vermeerdering plaats. Deze activiteit en vermeerdering der mijten bleef in deze kweekkerij, bij tropische temperatuur van 27° C. geplaatst, den geheelen winter ongestoord doorgaan.

Het niet zuigen der mijten in October, toen de mijten nog niet in de tropische kamer waren geplaatst, moest nu wel alleen geweten worden aan de daling der temperatuur. In een kweekkerij, gedurende den geheelen winter aan de buitentemperatuur blootgesteld, had noch eenige activiteit, noch eenige vermeerdering plaats. De mijten hebben al dien tijd (van October 1929 tot Mei 1930) in dicht opeengedrongen koloniën in hun natuurlijke schuilhoeken in rust doorgebracht. Pogingen, aangewend om eenige activiteit onder de mijten te verkrijgen, gelukten niet.

Aangenomen moest dus wel worden, dat de temperatuur invloed op de activiteit der mijten, alsook op het al- of niet zuigen en de vermeerdering uitoefent. De afwisselende perioden van activiteit en rust zijn, voor zoover nagegaan kon worden, uitsluitend afhankelijk van uitwendige factoren en wel hoofdzakelijk van de temperatuur.

HOOFDSTUK III.

EXPERIMENTEEL GEDEELTE.

A. MATERIAAL EN TECHNIEK.

1. CHOLERASTAM.

De cholerastam, dien wij voor onze proeven gebruikten, was van een spontaan geval bij een eend afkomstig. Na passage door een konijn werd deze stam steeds door duivenpassage virulent gehouden.

Deze stam was zeer virulent. De duiven gingen doorgaans 12 uur na de infectie hieraan ten gronde (zie Tabel I). Eenige achteruitgang der virulentie tijdens het onderzoek viel niet te bespeuren; zelfs was dit na maanden niet het geval, mits steeds dierpassage plaats vond.

Door het gebruiken van dezen stam voor het infecteeren van alle duiven werd een constante virulentie der bacillen behouden en werden er goede vergelijkbare resultaten verkregen.

2. KWEEKEN VAN *DERMANYSSUS AVIUM*.

Alle experimenten vereischten steeds veel materiaal. Wel zouden de mijten uit spontaan besmette kippenhokken betrokken kunnen worden, echter niet steeds in onbepaalde hoeveelheden en op tijden wanneer dat gewenscht werd, zoodat aan het op deze wijze van verzamelen der mijten te groote bezwaren waren verbonden. De mijten werden derhalve gekweekt.

Wood en *Köhnlein* gaven ons hiervoor eenige aanwijzingen. *Wood* kweekte de mijten in, in water geplaatste, aarden potten, terwijl *Köhnlein* dat deed in kanariekooitjes met gespleten zitstokken, waardoor aan de mijten een geschikte schuilplaats werd geboden.

Beide methoden, en die van *Wood* en die van *Köhnlein*, werden gecombineerd. Hiervoor werd een groote zinken bak, 50 c.m. lang, 35 c.m. breed en 35 c.m. hoog, gebruikt, waarin enkele c.m. van den bodem af een gespleten zitstok van 3 à 4 c.m. breedte

werd aangebracht. Deze stok was horizontaal gespleten, gemakkelijk uitneembaar en zoodanig samengevoegd, dat tusschen het onderste en bovenste gedeelte van den stok een tusschenruimte overbleef voldoende groot om voor de mijten als schuilplaats te kunnen dienen. Het hout, aan deze ruimte grenzend, werd ruw gehouden. Het bovenste gedeelte van den zitstok kon bovendien gemakkelijk verwijderd worden, terwijl het onderste gedeelte in den bak bleef rusten.

Deze bak, op 4 statieven rustend, werd in een waterreservoir geplaatst om de mijten het ontsnappen te beletten. Voorts kon de bak met een ijzeren rooster afgesloten worden, indien een kip of duif daarin geplaatst moest worden.

Begin April 1929, werden enkele duizenden uit een kippenhok verzamelde mijten tusschen de beide helften van den zitstok gebracht. Om de 2 à 3 dagen werden deze mijten in de gelegenheid gesteld om voedsel op te nemen. Daartoe werd dan een kip in de kweekerij geplaatst.

In de eerste tijden had er slechts een langzame vermeerdering plaats. Hoemeer echter de temperatuur steeg, des te sneller de vermeerdering, om in de warmste zomermaanden tot het maximum te geraken. In September en October, toen de temperatuur weer daalde, werden de mijten minder actief, minder mijten gingen tot zuigen over en bovendien werd de ontwikkeling en vermeerdering geremd.

Om toch voortdurend veel materiaal ter beschikking te hebben, moesten er meerdere van dergelijke kweekerijen ingericht worden. Drie van deze werden in gebruik genomen, welke in den aanvang eens in de 2 à 3 dagen, later met langere tusschenpoozen (een week tot 14 dagen), werden gevoed.

Door langere tusschentijden te nemen werden meer hongerende mijten verkregen.

In October, toen door de daling van de temperatuur de activiteit en de ontwikkeling der mijten zeer sterk achteruitging, werd een der kweekerijen in de tropische kamer der Afdeeling bij ongeveer 27° C. geplaatst. De activiteit der mijten alsook de vermeerdering nam door deze verandering van de temperatuur direct weer sterk toe, zoodat ook gedurende de wintermaanden over een voldoende aantal actieve mijten kon beschikt worden.

3. VERZAMELEN VAN HONGERENDE MIJTEN.

Ten allen tijde moest er over een groot aantal *hongerende* mijten beschikt kunnen worden, daar zulke mijten den meesten waarborg gaven voor een directen aanval, wanneer deze voor het experimenteren werden gebezigd, wat met het oog op den betrekkelijk korten duur van het stadium van algemeene bloed-

infectie bij de choleraduiven van belang was. Bij hongerende mijten kon bovendien ook beter contrôle worden uitgeoefend of zij werkelijk versch bloed hadden opgenomen.

Die groote voorraad hongerende mijten werd verkregen door twee à drie kweekerijen afwisselend om de 7 tot 14 dagen de gelegenheid tot voedselopname te geven.

Moesten de in deze kweekerijen aanwezige hongerende mijten verzameld worden, dan behoefde er slechts zacht op de zitstokken of tegen de wanden geklopt te worden om massa's van deze mijten uit hun schuilplaatsen te lokken, welke dan daarna met behulp van een penseeltje van de zitstokken en wanden werden verzameld. Volgezogen exemplaren reageerden op dezen prikkel niet.

Deze verzamelmethode was niet alleen gemakkelijk uit te voeren, maar had tevens het voordeel dat de koloniën niet werden gestoord, wat wel zou moeten geschieden wanneer de mijten verzameld werden door de zitstokken uiteen te nemen, om de daar aanwezige mijten te verzamelen.

De verzamelde mijten werden vervolgens in kleine glazen potjes overgebracht en daarin tot den aanvang der proeven bewaard.

Het verzamelen vond dagelijks plaats, zoodat steeds veel materiaal in voorraad aanwezig was.

4. PROEFDIEREN.

Als proefdieren werden duiven, kippen en muizen genomen. Voor bijna alle experimenten van eenige beteekenis werden duiven gebezigd, kippen hoofdzakelijk voor de infectieproeven per os en muizen meer voor de kleinere oriënteerende proeven.

Duiven bleken voor het onderzoek erg geschikt te zijn. Ze zijn betrekkelijk klein van stuk, handelbaar, niet wild en erg gevoelig voor een cholera-infectie, eigenschappen ten deele noodzakelijk, ten deele zeer gewenscht. Dit was vooral van belang voor de technisch moeilijk uitvoerbare experimenten, waarbij getracht werd infectie te verkrijgen door den steek van de mijt. Immers tijdens deze experimenten moesten de dieren gedurende een nacht in liggende houding gefixeerd gehouden worden, wat met duiven zeer goed gelukte, echter met kippen bezwaarlijk ging.

Duiven zijn bovendien de aangewezen proefdieren voor het verkrijgen van geïnfecteerde mijten, daar bij hen het moment van de optredende algemeene septichaemie beter is te regelen.

De ervaring leerde, welk soort duif genomen moest worden om voor geen onaangename verrassingen te komen staan, als het te vroeg of het te laat positief worden van het bloed. Het best heb ik mij bevonden door blauwe postduiven te nemen. Werden deze duiven intramusculair geïnfecteerd, dan kon vrij zeker verwacht worden, dat om en nabij de 12 uur na de infectie

de bacillen in het periphere bloed optraden en dus het moment was aangebroken om met het experimenteren te beginnen.

Werden lichtere en zwakkere sierduiven genomen, dan was de kans groot van het onverwacht en te vroeg optreden der bacillen in het bloed, en tevens een te snel intreden van den dood. Het gevolg hiervan was weer het verkrijgen van een te gering aantal geïnfecteerde mijten. Nam ik te zware en te sterke duiven, dan trad het stadium van algemeene bloedinfectie zeer laat op.

Door keuze van het proefdier kon dus eenigszins het tijdstip van algemeene bloedinfectie beïnvloed worden.

Voorts ligt er bij de duif ook voldoende tijd tusschen het optreden der bacillen in het periphere bloed en den dood van het dier. De mijten krijgen daardoor voldoende gelegenheid tot opname van geïnfecteerd bloed, te meer daar ze, zooals reeds eerder werd opgemerkt, weinig tijd voor het zuigingsproces eischen.

Een natuurlijke voorkeur der mijten van kippen boven duiven kon in enkele vergelijkende waarnemingen niet geconstateerd worden. Dus ook om deze redenen behoefde ik geen andere proefdieren dan duiven te bezigen.

5. TOT ZUGEN BRENGEN VAN MIJTEN OP GEINFECTEERDE DIEREN.

Ter verkrijging van *geïnfecteerde* mijten lag het voor de hand dat dit het best zou kunnen geschieden door bloedopname op een geïnfecteerd gastheer, en wel in het stadium waarin de algemeene septichaemie was opgetreden, dus op het oogenblik wanneer er in het periphere bloed zeer veel bacillen aanwezig waren.

Duiven werden hiervoor als proefdieren gebezigd.

Voor ik echter tot de juiste techniek ter verkrijging van geïnfecteerd materiaal geraakte, werden er tal van andere mogelijkheden geprobeerd om mijten geïnfecteerd voedsel te doen opnemen. Getracht werd de mijten te laten zuigen aan bloed, aan culturen, enz. Al spoedig bleek me evenwel, dat de mijten niet genegen zijn voedsel buiten het levende dier om op te nemen. Voorts heb ik de mijten op geïnfecteerde muizen laten zuigen. Ook dit beviel niet. De mijten zogen wel op de muis, vele exemplaren werden echter door de muis opgegeten. Ik stuitte echter nog op een ander bezwaar. Er moest n.l. getracht worden de geïnfecteerde dieren 's avonds en in den voornacht positief, d.w.z. met bacillen in het periphere bloed, te verkrijgen. Dit was bij muizen slecht te regelen, bij duiven echter vrij gemakkelijk.

In elk opzicht werden er met duiven de beste resultaten verkregen.

Om geïnfecteerde mijten te verkrijgen, moest er rekening gehouden worden met het feit, dat de mijten in de natuur uitsluitend 's nachts tot den aanval over gaan en dat het een uitzondering vormt wanneer er ook daags wordt gezogen. Er moest dus voor gezorgd worden, dat de proefdieren 's avonds en het liefst

laat in den avond in het stadium van algemeene bloedinfectie geraakten. De ervaring leerde nu, hoe laat en met welke dosis bouilloncultuur 's morgens een duif moest geïnfecteerd worden, om 's avond op den gewenschten tijd de bacillen in het periphere bloed te kunnen verwachten.

's Morgens (omstreeks 10 uur) werden de duiven intramusculair met 0.15—0.2 c.c. bouilloncultuur, gegroeid uit het bloed van een enkele dagen tevoren voor hetzelfde doel gebezigd en gestorven proefdier, geïnfecteerd. 's Avonds (ongeveer 9—10 uur na de infectie), werd dan het bloed op de aanwezigheid van de bipolaire bacillen onderzocht. Daartoe werd om het kwartier een bloeduitstrijkje gemaakt en met carbolfuchsine gekleurd.

Met het experimenteren werd pas begonnen, wanneer de bacillen in het uitstrijkje in hoopjes om de witte bloedlichaampjes geschaard, konden worden aangetoond.

Het in het uitstrijkje aantreffen van enkele verspreid liggende bacillen gaf n.l. niet steeds voldoende waarborg, dat het stadium van de algemeene bloedinfectie was ingetreden. Meer dan eens is het voorgekomen, dat de eens in het periphere bloed aanwezige bacillen hier weer uit verdwenen, om dan later hierin weer in grootere hoeveelheden op te treden. De bacillen kwamen dan in groepjes om de witte bloedlichaampjes te liggen, wat voor mij een bewijs was, dat nu het stadium van de algemeene septicaemie was ingetreden.

Werden de mijten in dit stadium op de duif tot zuigen gebracht, dan kon ik zeker zijn dat *alle* mijten tezamen met het voedsel ook een voldoende hoeveelheid bacillen opnamen. Dit was niet het geval (wat cultureel werd aangetoond), wanneer de mijten in een eerder stadium op de duiven werden gebracht.

Was het stadium, waarin de bacillen in groepjes konden worden aangetoond, aangebroken, dan werden vele duizenden hongerende mijten los op de duif gebracht, daarbij zorg dragende, dat deze mijten zooveel mogelijk op de huid onder de veeren terecht kwamen. De duif werd dan vervolgens in een daarvoor speciaal geconstrueerde kooi geplaatst.

*

Deze kooi was van een eenvoudige constructie. Ze werd door 3 glasplaten gevormd, welke driehoekig waren samengevoegd. Het grondvlak vormde daardoor een gelijkbeenigen driehoek met een zijde van 28 c.m.

Deze kooi had geen bodem, doch werd los op een glazen grondplaat geplaatst, echter zoodanig, dat onder de 3 wanden van de kooi door een ruimte van enkele m.m. hoogte overbleef, wat verkregen werd door onder de drie hoeken der kooi een voorwerp-glaasje aan te brengen. De kooi kon van boven met een glazen plaat afgesloten worden.

Rondom deze driehoekige kooi werden, enkele c.m. van de wanden verwijderd, drie horizontaal gespleten latjes aangebracht,

welke eveneens in een driehoek waren saamgevoegd, echter met een zijde van 40 c.m. De onderste latjes werden met behulp van canadabalsum en paraffine vast aan de glazen grondplaat bevestigd, terwijl de bovenste met behulp van enkele verticaal staande metalen pennetjes hierop rustten en dus gemakkelijk van deze waren te verwijderen. Tusschen de beide helften werd eenige ruimte gelaten.

Tijdens het experimenteeren werd rondom de schuilplaats een laagje vaseline aangebracht.

Over het geheel van kooi en schuilplaats heen kon een groote vierkante kartonnen doos geplaatst worden met een opening in den bovenwand, waardoor steeds contrôle op duif en mijten kon worden uitgeoefend.

*

De duiven reageerden over het geheel zoo goed als niet op dezen aanval van duizenden mijten, zelfs niet wanneer gezogen werd op gevoelige plaatsen als oogleden en dergelijke. In enkele gevallen, wanneer in een te vroeg stadium der algemeene bloed-infectie de mijten op de duif werden gebracht en dus tot den aanval werd overgegaan, alsook bij zeer sterke dieren, boden de duiven meer weerstand.

De mijten verlieten nu, na gezogen te hebben, den gastheer na korteren of langeren tijd.

Steeds ging een zeker percentage der opgebrachte mijten niet tot zuigen over. Ten deele bleven zij op den gastheer achter, ten deele verlieten zij de duif om direct hun schuilplaatsen op te zoeken.

De eerste mijten gingen reeds binnen 20 minuten in volgezogen toestand de duif verlaten. Na deze eersten kwamen langzamerhand steeds meer.

Vijf tot tien der eerst afgaande mijten werden steeds voor agarculturen aangewend. Was dit onderzoek positief, d.w.z. verkregen we op de agar rein-culturen van bipolaire bacillen, dan mocht aangenomen worden, dat ook al de volgende van de duif afkomende mijten bacillen in zich hadden opgenomen.

Hoe langer de duif in het leven bleef, des te meer volgezogen mijten gingen er van den gastheer af, om ergens elders een schuilplaats te vinden. De mijten gingen daartoe onder de wanden van de kooi door en kwamen dan tenslotte in de ruimte tusschen de gespleten latjes rondom de kooi terecht. Ook nadat de dood was ingetreden, verlieten de meeste der nog op de duif aanwezige volgezogen mijten den gastheer, velen echter bleven achter en zochten hier of daar tusschen de veeren een veiliger schuilplaats. Vooral de nog niet volgezogen mijten bleven achter en zochten op de koudwordende dieren de vochtigste plaatsen op, om zich hier tot koloniën te verzamelen. Zoo werden deze mijten in groote

hoeveelheden in de mondholte, om de oogen en aan de vleugels, op de plaatsen waar herhaaldelijk een vene-punctie voor het maken van bloeduitstrijkjes was verricht, aangetroffen.

Post mortem werd er geen bloed opgenomen. Misschien nog wel in de eerstvolgende oogenblikken na den dood, doch later zeker niet meer, vooral dan niet, wanneer het lichaam reeds was afgekoeld.

Nadat het tijdstip van het afgaan der eerste mijten van den gastheer en het tijdstip van den intredenden dood was genoteerd, werd de zuigplaats zooveel mogelijk tot den volgenden morgen met rust gelaten. De mijten hadden dan den geheelen nacht den tijd om zich in hun schuilplaatsen terug te trekken. Op deze wijze werkend bleven de mijten in hun natuurlijke verhoudingen; in den avond en voornacht zuigend, kregen ze in den loop van den nacht de gelegenheid zich terug te trekken.

's Morgens daarop werd de zuigplaats steeds in volkomen rust gevonden. Zoo goed als alle mijten hadden zich dan in de voor hen aangebrachte verzamelplaatsen teruggetrokken. Dan restte alleen nog het inzamelen der volgezogen mijten. Daartoe werden de duif en de glazen kooi verwijderd, het vlak tusschen de driehoekige schuilplaats der mijten van vuil gereinigd en op deze ruimte de koloniën uit de verschillende schuilplaatsen uitgeschud om de volgezogen mijten vervolgens met een penseeltje te verzamelen.

Werd het snel heen en weer loopen der mijten voor het inzamelen te hinderlijk, dan konden al deze vlugge diertjes door zacht blazen op hetzelfde moment tot staan gebracht worden. Tezamen werden er op deze wijze ruim 60,000 volgezogen en geïnfekteerde mijten verzameld.

Om voortdurend over veel *geïnfecteerd* materiaal te kunnen beschikken moest er herhaaldelijk (in den regel tweemaal per week) een duif geïnfecteerd en bovenstaande bewerking uitgevoerd worden.

De op deze wijze verkregen geïnfekteerde mijten, op één en dezelfde cholera-duif gezogen hebbend, werden tot een aparte groep gerekend. Elke groep werd in volgorde genummerd. Totaal werden er 29 groepen verkregen.

6. TOT ZUGEN BRENGEN VAN GEÏNFECTEERDE MIJTEN OP GEZONDE PROEFDIEREN.

Het tot zuigen brengen van geïnfekteerde mijten op gezonde proefdieren stuitte op groote moeilijkheden.

Verscheidene pogingen werden er aangewend om tot een geschikte en bruikbare methode te geraken. Zoo werd er getracht de mijten individueel onder

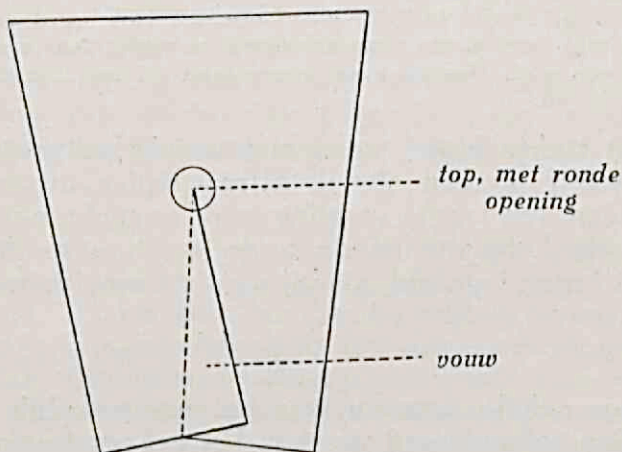
contrôle op de kaalgeknipte huid van duif of kip tot zuigen te brengen. Daartoe werden de mijten, verschillende tijden na voedselopname, loopende van 2—7 dagen, 's avonds maar ook 's middags op de kip of op de duif gebracht en met behulp van een loupe geobserveerd. De ervaring leerde na veel moeite en geduld, dat een dergelijke wijze van experimenteren voor de overbrengingsproeven niet te volgen was. Onder contrôle konden de mijten uiterst moeilijk tot voedselopname gebracht worden, onverschillig op welken tijd van den dag of onder welke omstandigheden er werd geëxperimenteerd. Er moest dus naar een andere methode worden uitgezien.

De beste resultaten werden tenslotte verkregen door de mijten onder batist op de duif te brengen en ze dan gedurende een nacht de gelegenheid tot zuigen te geven.

*

Een vierkant stukje batist werd met behulp van collodium op de kaalgeknipte huid van een in zijligging gefixeerde duif vastgeplakt. Het batist werd echter vooraf op de in de tekstfiguur aangegeven wijze gevouwen, zoodat daarvan als het ware een lage kegel werd verkregen.

TEKSTFIGUUR.



Na de bevestiging met collodium werd met behulp van colresine het batist nog eens extra stevig aan de huid bevestigd, om toch de kans van loslating en daardoor de ontsnapping van mijten des te geringer te doen zijn.

In het midden van het lapje, dus in den top van den lagen kegel, werd vervolgens een klein rond gat geknipt, juist groot genoeg om een reageerbuisje door te laten. Het reageerbuisje, waarin de honderden mijten, welke op de duif moesten herzuigen, werd dan met de opening naar de huid toegekeerd, door dat gat geschoven, waarna het bovineinde van den reageerbuis ook met behulp van collodium aan het batist werd bevestigd.

De aldus op de duif aangezette mijten kregen gedurende den komenden nacht onder vrij natuurlijke omstandigheden de gelegenheid tot herzuigen.

Op boven beschreven wijze werkend gingen er, zoowel bij het aanzetten der mijten op de duif, alsook tijdens het terug verzamelen, weinig mijten verloren, tenzij echter het lapje batist aan de randen had losgelaten, iets wat enkele malen is geschied en wat niet altijd kon worden voorkomen.

*

Na een verblijf van 12 uur op de duif hadden steeds zoo goed als alle mijten gezogen en bovendien had het grootste gedeelte zich in het reageerbuisje, zoover mogelijk van de duif af, teruggetrokken, wat van groot voordeel bleek te zijn voor het terug verzamelen.

7. INFECTIE PER OS.

Het toedienen der mijten aan de proefdieren in onbeschadigden levenden toestand bracht eenige moeilijkheden met zich mede. Vanwege het groot aantal dat werd verstrekt, en vooral door de vlugheid dezer diertjes konden allen moeilijk bijeen gehouden worden tijdens het ingeven.

In de eerste experimenten werden de mijten in een stukje gekookt bloed gegeven. Dit beviel in geen enkel opzicht. Ook werd er getracht de levende mijten met behulp van slokdarmsonde in water toe te dienen. Deze methode beviel ook niet. Daarna werd overgegaan tot het insluiten der mijten in een stukje brood.

Een stukje brood werd met weinig water gekneet en dit als een schijf op een stukje filtreerpapier uitgestreken, waarover heen een dun laagje vaseline werd aangebracht. De mijten hierop uitgeschud, bleven dan aan de vaseline vastkleven en konden, in het brood ingerold, als pil aan het proefdier worden toegediend.

* *

Voor enkele proeven was het noodzakelijk dat de mijten in bouillon geëmulgeerd werden. Dit gaf eerst enkele moeilijkheden.

Het uitschudden der mijten in een droog mortiertje ging niet. De mijten (500 stuks) waren dan grootendeels reeds weer uit het mortiertje weggelopen, alvorens tot het emulgeeren kon worden overgegaan. Werd er vooraf een weinig vloeistof in het mortiertje gebracht, dan werd hetzelfde bezwaar ondervonden; werd er meer vloeistof gebruikt, dan werden wel is waar deze onaangenaamheden niet ondervonden, maar dan was het erg lastig om de kleine diertjes onder den vijzel te krijgen.

De beste methode was de mijten onder in het reageerbuisje, waarin ze sinds de infectie werden bewaard, te schudden, om ze dan vervolgens met weinig vloeistof (bouillon) te overgieten. Door den inhoud daarna in een mortiertje over te gieten, werd er geen hinder van het ontsnappen der mijten ondervonden en konden de mijten tevens gemakkelijk geëmulgeerd worden.

Na het emulgeeren werden er nog enkele c.c. bouillon toege-

voegd. Deze gezamenlijke hoeveelheid werd dan met behulp van een recordspuit en slokdarmsonde aan het proefdier toegediend.

8. BEWAREN VAN GEÏNFECTEERD MATERIAAL.

De geïnfekteerde mijten werden verzameld en bewaard in steriele reageerbuisjes, welke met een wattenprop, waarom heen een stukje batist, werden afgesloten. De wattenprop liet voldoende luchtverversching toe en door het gebruik van een stukje batist om deze wattenprop heen, werd het hinderlijk indringen der mijten in de watten voorkomen. In het buisje werd bovendien een stukje droog filtreerpapier aangebracht, waarop het aantal in het buisje aanwezige mijten, alsook het nummer van de groep was genoteerd. Een toegift van eenig vocht vond niet plaats.

De aldus ingesloten mijten konden zeer lang bewaard worden.

9. VERZAMELEN VAN EXCREMENTEN.

De excrementen, welke voor *dierproeven* werden gebezigd, werden verkregen door een zeker aantal geïnfekteerde mijten gedurende korteren of langeren tijd in een steriel reageerbuisje te houden. De gedeponeerde excrementen werden dan direct na het verwijderen der mijten met weinig steriel physiologische keukenzoutoplossing van de wanden afgeschud, om vervolgens als suspensie bij de proefdieren te worden geïnjicieerd.

* *

De excrementen voor het *microscopisch onderzoek* gebezigd, werden op een geheel andere wijze verzameld.

Het reageerbuisje, waarin vele honderden mijten, werd dagelijks, later met langere tusschenpoozen, met een voorwerp-glaasje afgesloten gehouden. Dit voorwerp-glaasje werd met behulp van paraffine aan het reageerbuisje bevestigd. Door nu het reageerbuisje omgekeerd neer te zetten en de mijten naar beneden te kloppen, kwamen al de geïnfekteerde mijten op het voorwerp-glaasje terecht, waardoor de kans op het verkrijgen der excrementen op het voorwerp-glaasje grooter werd. Door het voorwerp-glaasje bovendien nog iets te verwarmen bleven de mijten hoofdzakelijk hierop. Later, langen tijd na de infectie der mijten, toen veel minder excrementen door de mijten werden afgezet, moest het reageerbuisje wel gedurende een nacht en soms nog langer met het voorwerp-glaasje afgesloten gehouden worden, wilden we tenminste een voldoende hoeveelheid excrementen verzamelen.

Waren er voldoende excrementen op het glaasje gedeponeerd, dan werd het glaasje na afname van het reageerbuisje en na verwijdering van de aanklevende paraffine, in een bakje met aqua dest. geplaatst en gespoeld, ter oplossing en ter verwijdering van de in de excrementen aanwezige oplosbare bestanddeelen.

De excrementen werden dan vervolgens na fixatie met carbol-fuchsin gekleurd en microscopisch onderzocht.

10. HISTOLOGISCH ONDERZOEK.

Na voorafgegane proefbewerkingen ter oriëntering, welke de beste methode zou zijn ter verkrijging van coupes voor het onderzoek betreffende de localisatie van den bacil in den darm van de mijt, werden achtereenvolgens de volgende bewerkingen uitgevoerd.

De mijten werden vooraf in Carnoysche vloeistof (ongeveer 3 kwartier) gefixeerd. Na fixatie volgde overbrenging in absolute alcohol.

De vele gefixeerde mijten (ongeveer 75 stuks) werden in een stukje batist samengebonden en aan een draadje in een reageerbuisje, welke met een gummikurk werd afgesloten, in de absolute alcohol gehangen. De mijten konden hierin onbepaald lang bewaard blijven, vooral wanneer af en toe de alcohol werd ververscht.

Hierna volgde de behandeling met diaphanol, noodig voor het verweken van de chitinehuid. Vooraf werden de ledematen verwijderd, wat na het lange verblijf in alcohol zonder veel moeite kon geschieden. Door het verwijderen der ledematen kon de diaphanol beter inwerken. Evenwel ook zonder deze beschadiging der chitinelaaag werkte de diaphanol goed in. De tijd hiervoor benodigd, was dan echter langer. De mijten werden zoolang met diaphanol behandeld tot algeheele verbleeking was opgetreden. Dit eischte minstens enkele uren.

Na deze behandeling werden de mijten weer in absolute alcohol teruggebracht en hierin op dezelfde wijze, als de nog niet met diaphanol behandelde, bewaard. Door de alcohol werden de mijten weer gehard. Tevens was de behandeling met absolute alcohol na het verblijf in diaphanol noodzakelijk om geen hinderlijke gasvormende verbindingen in de mijt, waardoor het weefsel zou kunnen worden verwoest, te verkrijgen.

Door haar geringe afmetingen was het ondoenlijk om elke mijt bij de volgende bewerkingen afzonderlijk te behandelen; vooral bij het insluiten in de paraffine kwamen deze bezwaren sterk naar voren. Door nu enkele mijten tezamen in een stukje agar in te sluiten, konden bovengenoemde bezwaren ondervangen worden. Bovendien had deze werkwijze nog het voordeel, dat we daardoor in staat werden gesteld de mijten in een bepaalde houding te plaatsen.

De stukjes agar, welke zoo klein mogelijk werden gehouden, werden daarna weer in absolute alcohol teruggebracht, om de agar weer watervrij te krijgen. De stukjes moesten betrekkelijk lang in alcohol bewaard worden, hoe langer des te beter. Minstens enkele dagen, beter was gedurende een week, iets wat de ervaring

leerde. Werden de stukjes te kort in de alcohol bewaard, dan ging de agar tijdens de volgende behandeling in benzol samenschrompelen, waardoor de stukjes zeer hard werden, en ongeschikt om tot coupes gesneden te worden.

Schulze geeft aan, dat voor het intermedium tusschen alcohol en paraffine, tetralin moet gebezigd worden. Zoowel tetralin als benzol werd door mij aangewend, en wel beide met goed succes. Aan geen van beide kon de voorkeur gegeven worden. Hoofdzakelijk werd toen benzol gebruikt. De stukjes agar werden hierin gedurende een half uur gehouden (om het kwartier de benzol ververschen).

Hoe kleiner stukje agar, des te eerder trad een volkomen helderheid, d.w.z. algeheele doordringing met benzol, op. Werden de stukjes te groot genomen, dan duurde deze algeheele doordringing te lang, met het gevolg dat het verblijft in de benzol noodwendig verlengd moest worden. De hardheid der mijten werd daardoor weer vergroot, wat moeilijkheden tijdens het snijden opleverde. Hadden de stukjes agar te kort in alcohol gelegen, dan trad er veelal verschrompeling op. De stukjes werden dan zeer hard, en daardoor geheel ongeschikt om verder te kunnen worden verwerkt.

Na het verblijf in benzol werden de stukjes in paraffine met verschillend smeltpunt gebracht (in elk van deze minstens 20 minuten), om ten slotte in paraffine met een smeltpunt van ongeveer 50° C. ingesloten te worden.

Werd hiervoor paraffine met hooger smeltpunt genomen, dan werden niet die mooie coupes verkregen, als wanneer paraffine met smeltpunt van 50° C. werd gebruikt. De al te groote zachtheid werd, indien noodig, weer opgeheven door de paraffine vlak voor het maken van de coupes een tijdje in koud water te houden.

De coupes werden dwars op het staafje agar gesneden. Door het rangschikken der mijten tijdens het insluiten in de agar werden deze steeds op de gewenschte manier tot coupes versneden. De coupes kregen een dikte van 5 micron.

Na het drogen en het voeren door de xylol-alcoholreeks werden de coupes hoofdzakelijk volgens Giemsa gekleurd. Ook andere kleuringen, b.v. met haemaluin volgens Mayer, werden verricht. Hierdoor werden de bacillen echter niet gekleurd. De beste resultaten werden verkregen door de coupes gedurende een uur volgens Giemsa te kleuren, en ze daarna enkele minuten in aceton te differentieeren.

11. ANDERE ARTHROPODEN. (STOMOXYS CALCITRANS, STEGOMYIA FASCIATA EN ORNITHODORUS MOUBATA.)

De Stomoxys calcitrans werden steeds in een voldoende aantal in en nabij veestallen verzameld. Deze insecten werden, alvorens voor de experimenten gebezigd te worden, eenige dagen in een kooi geïsoleerd. Door het plaatsen van met suikerwater bevochtigde watten in de bewaarplaatsen dezer vliegen, kon hun levensduur eenigszins verlengd worden.

De benodigde *Stegomyia fasciata* en *Ornithodoros moubata* werden in voldoende hoeveelheden uit den voorraad van het Instituut verkregen. Voor de proeven met *Ornithodoros moubata* werden alleen de larven van deze teek gebruikt.

Het experimenteeren met bovengenoemde arthropoden gaf geen moeilijkheden. Voor het infecteeren werden de hongerende vliegen tezamen met een geïnfecteerde muis, waarvan het bloed reeds bacillen bevatte, in een kleinen glazen pot gebracht. De insecten, welke op deze muis gezogen hadden, werden vervolgens verzameld en na verschillende intervallen als emulsie in steriel physiologisch keukenzoutoplossing bij muizen subcutaan geïnjecteerd. De larven van *Ornithodoros moubata* werden echter ter opname van den bacil onder batist op een choleramuis gebracht en dan gedurende een nacht de gelegenheid tot voedselopname gegeven. Ook deze geïnfecteerde larven werden dan als emulsie bij de proefdieren (muizen) ingespoten.

* *
* * *

B. OVERZICHT OVER DE GROEPEN VAN GEÏNFECTEERDE MIJTEN.

Alvorens tot de bespreking van het eigenlijk onderzoek over te gaan, is het wenschelijk vooraf eenige aandacht aan de geïnfecteerde mijten (groepen) te besteden, welke voor de volgende experimenten werden gebezigd.

Het was van groot belang dat het gebruikte materiaal (geïnfecteerd mijten) als gelijkwaardig mocht beschouwd worden. De verschillende groepen mijten, bestaande uit een meer of minder groot aantal exemplaren, hadden allen op duiven gezogen, welke met een zeer virulenten stam waren geïnfecteerd. De mijten, tot een en dezelfde groep behorende, maar ook die uit de verschillende groepen, namen dus alle volvirulente bacillen op. De mijten werden bovendien pas dan op de choleraduif gebracht, wanneer het periphere bloed reeds vele bacillen bevatte, zoodat alle mijten ook vele bacillen hebben moeten opnemen.

Elke groep maar ook alle mijten uit de verschillende groepen mochten dus, wat de virulentie van de opgenomen bacillen betreft, als gelijkwaardig beschouwd worden. Daar de mijten alle op duiven hebben gezogen, toen het bloed reeds vele bacillen bevatte en slechts alleen de groote volgezogen mijten werden ingezameld, mocht ook het aantal opgenomen bacillen in de verschillende mijten bij benadering gelijk genoemd worden.

Het uitgangsmateriaal was dus vrij homogeen en dat was van groot belang ter verkrijging van goede vergelijkbare resultaten.

In tabel I wordt een overzicht over de verschillende groepen mijten gegeven.

In de tweede en derde kolom worden de nummers en het aantal mijten in de verschillende groepen aangegeven.

Uit de laatste kolom kan de virulentie van den vogelcholera-stam, waarmede de duiven werden geïnfecteerd, beoordeeld worden. De duiven stierven doorgaans 12 uren na de infectie aan vogelcholera.

Het verschil tusschen de getallen uit de laatste en voorlaatste kolom geeft den tijd aan, waarbinnen de mijten zich op de choleraduiven hebben kunnen infecteeren.

TABEL I.

Datum.	Groep.	Aantal mijten.	Duif No.	Aantal uren vanaf moment van infectie van het proefdier tot moment waarop:		
				eerste bacillen in het bloed optraden.	mijten op duif werden gebracht.	het proefdier is gestorven.
17.4.29	I	80	—	11 u. 30	11 u. 30	12 u. 30
25	II	100	—	—	8 u.	—
4.7.29	III	enkele honderden	928	11 u.	11 u.	12 u. 30
8	IV	" "	13	11 u.	11 u. 30	14 u. 30
11	V	" "	22	11 u. 30	12 u.	29 u
15	VI	10	23	—	9 u. 30	10 u.
17	VII	enkele	960	—	10 u. 30	11 u.
18	VIII	enkele honderden	26	11 u. 45	12 u. 15	12 u. 45
29	IX	ruim duizend	36	10 u. 30	11 u.	11 u. 45
1.8.29	X	1800	43	11 u.	11 u. 15	12 u.
5	XI	3100	44	11 u.	11 u. 30	12 u. 15
9	XII	ruim twee duizend	50	11 u. 50	13 u. 10	13 u. 55
12	XIII	5000	51	10 u. 5	10 u. 40	11 u. 20
16	XIV	3000	63	11 u. 55	12 u. 25	—
19	XV	4450	65	12 u.	14 u.	14 u. 45
30	XVI	5240	90	10 u.	10 u. 55	—
3.9.29	XVII	1375	97	9 u.	9 u.	9 u. 30
4.9.29	XVIII	1675	101	10 u. 10	10 u. 35	11 u. 30
6	XIX	9000	103	10 u. 40	11 u. 30	12 u. 35
10	XX	6400	41	8 u. 45	9 u. 10	10 u. 5
13	XXI	4250	42	10 u.	10 u. 25	11 u. 55
17	XXII	3080	116	10 u. 20	11 u. 5	11 u. 40
23	XXIII	4100	114	9 u. 30	10 u. 45	11 u. 35
26	XXIV	2900	140	—	8 u. 40	9 u. 35
1.10.29	XV	2000	139	—	11 u. 45	12 u. 40
15	XVI	1500	141	11 u.	11 u. 15	12 u. 30
8.11.29	XXVII	14	152	—	10 u. 30	11 u.
6.1.30	XXVIII	enkele duizenden	325	—	11 u. 50	12 u. 35

C. DE VOGELCHOLERABACIL IN DERMANYSSUS AVIUM.

1. LEVENSDUUR VAN DEN BACIL IN DERMANYSSUS AVIUM, ONDER VERSCHILLENDE OMSTANDIGHEDEN.

Wil men de aanwezigheid van virulente bacillen in insecten leeren kennen, alsook hoelang deze bacillen na de opname in het darmkanaal of in het weefsel virulent aanwezig kunnen blijven, dan geven dierproeven de betrouwbaarste uitkomsten. Tal van dergelijke proeven heb ik met het doel om na te gaan, hoelang de cholerabacil in de mijt aanwezig kan blijven, verricht. De geïnfecteerde mijten werden daarbij als suspensie in weinig physiologische keukenzoutoplossing, korteren of langeren tijd na de opname van de bacillen met bloed van een cholera-duif, bij muis of duif subcutaan of intramusculair geïnjecteerd.

Deze proeven werden tot 135 dagen na de opname der bacillen verricht. De eerste 11 dagen na de infectie der mijten werden dagelijks deze proeven bij muizen ingesteld, later zijn ze echter om de 5 dagen met duiven voortgezet. Duiven werden bij voorkeur gebruikt, daar deze dieren voor een cholera-infectie gevoeliger zijn dan muizen.

Voor de experimenten met een interval van minder dan 20 dagen werden slechts enkele mijten geïnjecteerd; voor de experimenten met een langer interval werd dit getal tot ongeveer 25 verhoogd en dit aantal werd gehouden, totdat voldoende bleek dat 25 exemplaren een te gering aantal vertegenwoordigde om er een infectie mede te verkrijgen en er dus in 25 mijten geen virulente bacillen meer aangetoond kon worden. Toen werd het aantal verhoogd, doch meer dan 75 exemplaren werden er per proef niet gebruikt. Deze mijten werden met steriel materiaal tot een emulsie in weinig steriel physiologische keukenzoutoplossing verwerkt en bij het proefdier subcutaan of intramusculair ingespoten.

Door den tijd te noteeren waarbinnen het dier na de infectie hieraan ten gronde ging, kon de virulentie der in de mijt aanwezige bacillen beoordeeld worden.

In het geheel werden er 39 experimenten genomen, hoofdzakelijk bij duiven. Daarbij kon een levensduur van den bacil in de mijten van minstens 120 dagen aangetoond worden.

De resultaten zijn in de volgende tabel neergelegd. Aan de hand daarvan zullen deze experimenten, voor zoover noodig, nader besproken worden.

TABEL II.

Datum.	Exp. nummer.	Duur Inter- val in dagen.	Aantal gebe- zigde mijten.	Afkom- stig van groep.	Proef- dier no.	Uit- slag.	Tijd vanaf infec- tie tot dood van h. dier	Wijze van infectie.
26.IV.29	1 (II)	1	6	II	M. 216	Pos.	60 u.	subc.
27	2 (III)	2	6	II	M. 217	"	18	"
29	3 (IV)	4	10	II	M. 218	"	19	"
30	4 (V)	5	8	II	M. 219	"	19	"
1.V.29	5 (VI)	6	5	II	D. 935	"	14	intram.
2	6 (VII)	7	5	II	M. 221	"	14	subc.
3	7 (VIII)	8	5	II	M. 222	"	15	"
4	8 (IX)	9	5	II	M. 223	Tw.	12	"
5	9 (XI)	10	6	II	M. 224	"	12	"
6	10 (XIII)	11	14	II	D. 948	Pos.	20	"
10	11 (XIV)	15	9	II	D. 947	"	14	"
15	12 (XV)	20	8	II	D. 928	Neg.		"
25	13 (XVI)	20	12	III	D. 35	Pos.	21	intram.
12.VIII.29	14 (XXVIII)	25	25	VIII	D. 52	"	18	"
17	15 (XXXI)	30	25	VIII	D. 64	"	14	"
22	16 (XXXII)	35	25	VIII	D. 75	"	18	"
27	17 (XXXIII)	40	25	VIII	D. 25	"	18	"
1.IX.29	18 (XXXVII)	45	22	VIII	D. 89	Neg.		"
12	19 (LI)	45	29	IX	D. 58	"		"
15	20	45	50	X	D. 58	Pos.	24	"
17	21 (LVIII)	50	28	IX	D. 124	"	40	"
23	22 (LXIV)	55	28	IX	D. 89	"	34	"
27	23 (LXXII)	60	25	IX	D. 88	"	50	"
2.X.29	24 (LXXVIII)	65	26	IX	D. 115	"	50	"
10	25 (LXXXII)	70	30	X	D. 129	Neg.		"
12	26 (XC)	70	30	XI	D. 112	Pos.	84	subc.
14	27 (LXXXVI)	75	30	IX	D. 113	Neg.		intram.
17	28 (CIII)	75	26	XI	D. 111	Pos.	36	subc.
19	29 (XCVI)	80	30	IX	D. 153	"	36	"
25	30 (CVI)	85	25	X	D. 151	"	36	"
30	31 (CXII)	90	25	X	D. 142	Neg.		"
28.XI.29	32 (CXXXIV)	90	51	XVI	D. 283	Pos.	36	"
4	33 (CXVII)	95	30	X	D. 192	Neg.		"
12	34 (CXXIV)	95	50	XII	D. 259	"		"
22	35 (CXXVII)	95	50	XV	D. 249	"		"
25	36 (CXXXI)	105	53	XIII	D. 259	Pos.	36	"
23	37 (CXXX)	110	75	XI	D. 250	"	36	"
29	38 (CXXXVI)	120	75	X	D. 284	"	36	"
18.XII.29	39 (CLVIII)	135	40	XI	D. 318	Neg.		"

M. = Muis.

D = Duif.

Pos. = Positief. (Gestorven, aan cholera).

Tw. = Twijfelachtig.

Neg. = Negatief.

Subc. = Subcutaan.

intram. = Intramusculair.

Verklaring tabel II:

De experimenten 1 tot en met 9, behalve exp. 5, werden met muizen genomen; exp. 5 en exp. 10 en volgende, met duiven.

In exp. 1 tot en met 7, met intervallen (tijd vanaf moment van infectie der milt tot moment van aanwending in deze experimenten) van 1—8 dagen, trad er een cholera-infectie bij het proefdier op. Weinig (5—10) mijten werden hiervoor gebezigd.

Exp. 8 en 9 gaven twijfelachtige uitkomsten. Beide werden echter genomen met zwakke muizen. Binnen de 12 uur na de infectie stierven deze proefdieren. Culturen uit het hart van muis 128 waren verontreinigd, die uit de milt bleven steriel. De milt werd nu geëmulgeerd en muis 229 subcutaan ingespoten. Binnen de 36 uur stierf muis 229 aan de cholera, zoodat het exp. 8 als positief kan beschouwd worden.

Ook muis 224 stierf binnen de 12 uur. De culturen van deze muis aangelegd, bleven steriel. De milt van deze muis werd geëmulgeerd en bij muis 228 subcutaan geïnjecteerd. Muis 228 stierf niet. Het exp. 9 is dus als negatief te beschouwen.

In de exp. 10 en 11, met intervallen van 10—15 dagen, waarbij respectievelijk 14 en 9 mijten werden gebruikt, stierven de proefdieren aan vogelcholera.

In exp. 12 trad er, na injectie van 8 mijten, 20 dagen na opname van de bacillen, geen infectie bij het proefdier op. In het volgend experiment 13 kon er echter weer, na injectie van mijten (12 stuks), welke zich eveneens 20 dagen te voren hadden geïnfecteerd, een cholera-infectie bij het proefdier worden veroorzaakt.

In de exp. 14 tot en met 17 gaven 25 mijten 25—40 dagen na opname van de bacillen, na de intramusculaire injectie, een infectie bij de proefdieren. Een sterke achteruitgang van de virulentie viel hier nog niet waar te nemen.

De beide exp. 18 en 19 waarbij mijten, 45 dagen na de opname der bacillen, bij de proefdieren werden ingespoten, gaven negatieve uitkomsten, doch in het volgend experiment 20 eveneens met mijten welke zich 45 dagen tevoren hadden geïnfecteerd, maar waarbij een grooter aantal (50 stuks) werden gebezigd, werd er echter na de injectie weer een infectie veroorzaakt.

Exp. 21 tot 24 gaven weer direct na een eenmalige injectie van 25 mijten, respectievelijk 50—65 dagen na de bacillenopname, een positieve uitkomst.

Een aanzienlijke virulentievermindering viel hierbij waar te nemen.

Na 70 dagen werd er in exp. 25 met 30 mijten eerst geen infectie verkregen. In het exp. 26 eveneens met mijten, 70 dagen na de bacillenopname, trad er met 30 mijten wel een infectie bij het proefdier op, echter de virulentie van de bacillen was hierbij blijkbaar sterk gedaald.

Exp. 27, 75 dagen na de infectie van de mijten, verliep weer negatief, terwijl het exp. 28, ook met mijten welke zich 75 dagen tevoren hadden geïnfecteerd, een positieve uitkomst gaf. Een sterke achteruitgang van de virulentie was hierbij niet opvallend. Het proefdier stierf binnen de 36 uren na de infectie.

Ook bij de volgende positief verlopende experimenten stierven de proefdieren binnen de 36 uur na de injectie van de mijten.

In de experimenten 29 en 30, waarbij 30 en 25 mijten werden gebezigd, respectievelijk 80 en 85 dagen na de bacillenopname, stierven de duiven spoedig (36 uur) na de injectie van de mijten.

In het exp. 31 gaven 25 mijten, welke 90 dagen tevoren de cholerabacillen hadden opgenomen, geen infectie bij het proefdier, echter in het exp. 32 gaf het dubbele aantal mijten (50 stuks), eveneens 90 dagen na de bacillenopname, wel weer een infectie bij de duif (binnen 35 uur dood).

Na 95 dagen kon er in de experimenten 33—35, na de subcutane injectie van 30—50 geïnfecteerde mijten, geen infectie verkregen worden.

Na 105, 110 en 120 dagen konden er weer in de exp. 36—38, na een eenmalige injectie van 53—75 geïnfecteerde mijten, virulente bacillen in deze mijten aangetoond worden. De dieren stierven binnen de 36 uur.

Na 135 dagen werd er in het exp. 39 geen infectie bij het proefdier na een subcutane injectie van 37 mijten verkregen.

Alle voor deze experimenten gebezigde mijten hadden sinds de infectie, d.w.z. sinds het zuigen op een choleraduif, gehongerd.

De bacil kan zich dus minstens 120 dagen in *hongerende* mijten handhaven. Een maximumlevensduur is dit niet. Zeer zeker zal z'n verblijf in de mijten wel langer kunnen zijn en het is mogelijk dat de eens geïnfekteerde mijten gedurende hun geheele leven dragers van virulente bacillen kunnen blijven.

Echter niet in elke mijt kan de bacil zich zoo lang handhaven. De negatief verlopende experimenten bewijzen dat voldoende. Het percentage der mijten, waarbij de bacil zich zoo lang kan handhaven is evenwel nog niet zoo heel gering. Immers tot en met den 85sten dag na de bacillenopname werd er toch met slechts 25 mijten een infectie bij het proefdier verkregen, en het aantal van 75 stuks, waarin na de 120 dagen de bacil nog kon worden aangetoond, is niet groot in vergelijking bij de miljoenen en milliarden, welke in één kippenhok kunnen voorkomen.

Ook zullen alle mijten den bacil niet even lang in zich kunnen bergen. Daarin zal individueel verschil bestaan, wat ook microscopisch en cultureel kon worden aangetoond.

Het feit dat de bacil minstens 120 dagen in de eens geïnfekteerde mijten aanwezig blijft, zegt voldoende om het gevaar dat zulke geïnfekteerde mijten voor de omgeving kunnen opleveren, niet gering te achten. Ook is het merkwaardig, dat een gevreesde ziekteverwekker bij vogels, als de cholerabacil toch is, zich zoo lang bij een uitsluitend vogelparasiet kan handhaven, zonder wederzijds in sterke mate beïnvloed te worden. Heeft de mijt eenigen invloed op den bacil, de aanwezigheid van den bacil zeker niet op de mijt.

Uit de gegevens in tabel II valt een achteruitgang der virulentie te constateeren. De eerste dagen na de infectie der mijten valt deze achteruitgang nog niet op, doch later zeer zeker. En toch daalt de virulentie niet sterk. Veertig dagen na de opname bezitten de bacillen nog een behoorlijke virulentie. Daarna daalt ze blijkbaar, om na 75 dagen weer te stijgen en op een bepaald niveau te blijven.

* *
*

De aanwezigheid van den bacil in de mijten werd ook door cultuuraanleg (agar, bouillon) aangetoond. Vooraf heb ik me echter overtuigd, eveneens door cultuuraanleg, van de aanwezigheid in niet geïnfekteerde mijten van bacillen, welke een gelijken cultuurgroei als de vogelcholerabacil zou kunnen geven.

Agarculturen van dergelijke niet geïnfekteerde mijten bleven steriel; uitstrijkjes gaven echter kleine zwak bipolair kleurende bacillen te zien. Deze bacillen behoorden tot het geslacht *Rickettsia*. De onderkenning van deze gaf geen moeilijkheden.

Toen het voldoende bleek, dat miswijzingen in dien zin niet waren te vreezen, werden dagelijks 5—20 agarculturen aangelegd en wel van mijten direct, 1, 2, 3, 4 dagen enz. tot 20 dagen na de infectie der mijten. Alvorens voor den cultuuraanleg gebezigd te worden, werden de mijten gedurende enkele minuten in een 1 $\frac{0}{100}$ sublumaatoplossing gedesinfecteerd. De eerste dagen na de infectie der mijten trad er een zeer sterken cultuurgroei op. Hoe grooter echter het interval werd genomen, des te meer ging deze cultuurgroei achteruit. Ten slotte waren er nog slechts enkele geïsoleerde koloniën opgekomen.

In tabel III zijn de verkregen resultaten neergelegd. Reeds drie dagen na de infectie valt er een achteruitgang van den cultuurgroei te constateeren, terwijl ongeveer 14 dagen na de infectie geen of slechts weinig groei meer optreedt. Om te bewijzen, dat de mijten na een tijd, waarna cultureel geen groei meer werd verkregen, nog virulente bacillen kunnen bevatten, werden de restende 12 mijten uit groep III (mijten uit deze groep werden hoofdzakelijk, zooals de tabel ook aangeeft, voor cultuuraanleg gebezigd), 20 dagen na de infectie bij duif 35 ingespoten. Het dier stierf binnen korten tijd aan vogelcholera, zoodat hiermede door dierentingen de aanwezigheid van bipolaire bacillen kon worden aangetoond, wat cultureel niet meer mogelijk was.

Van dezelfde mijten, waarvan culturen werden aangelegd, werden tevens uitstrijkjes gemaakt en volgens Giemsa of met carbofuchsine gekleurd.

Deze uitstrijkjes werden van dezelfde mijten gemaakt, door ze op een steriel voorwerpglasje met weinig physiologisch keukenzoutoplossing te emulgeeren. Gedeeltelijk werden hiervan culturen aangelegd, terwijl het restant werd uitgestreken en gekleurd.

In de uitstrijkjes werden steeds bipolaire bacillen aangetoond, ook in die gevallen waar de culturen geen groei lieten zien. Het uitblijven van den cultuurgroei werd toen eerst geweten aan het gebruik van sublumaat. Hoewel de sublumaat met physiologisch keukenzoutoplossing zooveel mogelijk werd weggespoeld, toch zouden er nog resten achtergebleven kunnen zijn, waardoor de groei was belemmerd geworden. Ook zou het mogelijk kunnen zijn, dat de sublumaat in de milt was binnengedrongen en zoodoende de bacillen zou hebben beïnvloed. Om deze mogelijkheden uit te sluiten, werd enkele malen het gebruik van sublumaat achterwege gelaten. Ook nu werd echter geen cultuurgroei verkregen.

Gaven de dierproeven geen betere resultaten voor de beoordeling van het al- of niet aanwezig zijn van de bacillen, dan zou men uit het bovenstaande onderzoek hebben moeten concluderen, dat de bacillen binnen 20 dagen uit de milt gaan verdwijnen. Mag men nu echter zoo'n snelle vernietiging niet

aannemen, wel leert het cultureel onderzoek, dat de bacil in de mijt een verandering ondergaat. De bacil wordt n.l. voor cultuurgroei minder geschikt, de kweekbaarheid gaat achteruit.

TABEL III.

Datum.	Duur interval.	Aantal gebezigde mijten.	Afkomstig van groep.	Cultuurgroei.
	direct	15	III	Sterk positief
	1 dag	5	III	" "
	2 dagen	5	III	" "
8.7.29	3 "	5	III	{ 3 culturen positief 2 " negatief
9.7.29	4 "	5	III	{ 2 cult. sterk pos. 2 behoorlijk positief 1 zwak positief
11.7.29	6 "	5	III	Alle sterk positief
13.7.29	8 "	5	III	{ 2 sterk positief 1 met 2 koloniën 2 cult. neg.
7.8.29	9 "	10	IX	{ 2 positief 8 negatief
15.7.29	10 "	6	III	{ 1 behoorlijk positief 1 met enkele koloniën 4 negatief
16.7.29	11 "	8	III	{ 1 beh. positief 2 met enkele koloniën 5 negatief
17.7.29	12 "	10	III	{ 1 met enkele koloniën 9 negatief
18.7.29	13 "	10	III	{ 5 positief 5 negatief
19.7.29	14 "	10	III	Alle negatief
20.7.29	15 "	10	III	{ 2 positief 8 negatief
21.7.29	16 "	10	III	Alle negatief
22.7.29	17 "	10	III	" "
23.7.29	18 "	10	III	" "
24.7.29	19 "	20	III	" "

Tabel aangevende de aanwezigheid van den bacil in de mijt, van 1—20 dagen na de opname, door middel van cultuuraanleg aangetoond.

* *
*

Toen het bleek, dat de bacil zich in de mijt, bij kamertempe-

ratuur bewaard, zeer lang kon handhaven, werd er ook nagegaan, welken invloed lage temperaturen op de aanwezigheid van den bacil zouden kunnen uitoefenen. Daartoe werden drie honderd mijten, 18 uur na de opname van den bacil, in een ijskast bij 0° C. geplaatst, en daarin ruim 120 dagen bewaard, dus tot het moment waarop met 75 mijten, bij kamertemperatuur gehouden, geen infectie meer bij proefdieren was te verkrijgen.

De mijten bleken op een klein percentage na ondanks het lange verblijf in de ijskast bij 0° C. allen nog in het leven te zijn. De mijten waren nog betrekkelijk groot en zwart van kleur, een bewijs dat weinig voedsel gedurende die 120 dagen was verteerd. Zoodra deze mijten weer op kamertemperatuur werden gebracht, nam hun bewegelijkheid in sterke mate toe.

Van deze mijten werden in 5 experimenten een aantal, loopende van 5—75 stuks, bij duiven subcutaan geïnjecteerd. Infectie trad er echter door deze injecties bij de proefdieren niet op.

Na de subcutane injectie van 75 geëmulgeerde mijten bij duif 300, ontwikkelde er zich op de injectieplaats een groote locale haard. Duif 300 bleef echter in het leven en de culturen uit dezen haard aangelegd, wezen verontreinigingen aan. Muis 628 met deze culturen geïnfecteerd, bleef eveneens in het leven, zonder eenige ziekteverschijnselen te hebben vertoond. Bipolaire bacillen konden er niet aangetoond worden.

Meer dan 75 mijten werden er voor dit doel niet aangewend.

Uit de bovenstaande resultaten zou de conclusie getrokken kunnen worden, dat, hoewel mijten zeer goed een koude van 0° C. gedurende 120 dagen kunnen verdragen, de bacillen zich in dergelijk bewaarde mijten niet langer kunnen handhaven dan in hongerende mijten bij kamertemperatuur bewaard. Het is echter niet onmogelijk, dat de bacillen in bij lage temperatuur bewaarde mijten eerder gaan afsterven.

2. VERMEERDERING VAN DEN BACIL IN DERMANYSSUS AVIUM.

De mijt kan, ondanks haar geringe afmetingen, betrekkelijk veel bloed opnemen. Het aantal opgenomen bacillen, vooral wanneer er vlak voor den dood van den gastheer, dus in het stadium waarin zeer vele bacillen in het periphere bloed circuleeren, wordt gezogen, zal dan ook zeer groot moeten zijn. Microscopisch kon dit in uitstrijkjes worden bevestigd.

Echter de culturen gaven *steeds* een sterken groei te zien, onverschillig of de mijten in een eerder of in een later stadium van de algemeene bloedinfectie hadden gezogen. Vooral was dit het geval wanneer de culturen eenigen tijd na het zuigen werden aangelegd. Hierdoor werd de aandacht op een mogelijke vermeerdering van de bacillen in de mijt gevestigd. Uitstrijkjes van mijten, verschillende tijden na de infectie, gaven toen het bewijs, dat er werkelijk een vermeerdering plaats vond. Waren er

microscopisch in een uitstrijkje, direct na het zuigen, enkele groote bipolaire bacillen zichtbaar (bacillen zooals die ook in het bloed van een choleradier aangetroffen worden), in de uitstrijkjes van mijten, 24 uur na de infectie, was het aantal bacillen zelfs vele malen vermeerderd en tevens deden de bacillen in deze uitstrijkjes, wat vorm en grootte betreft, veel aan cultuurbacillen denken, zooals die op agar aangetroffen worden.

Om deze vermeerdering nog beter te kunnen demonstreeren, zijn uit deze mijten na verschillende tijden agarplaatculturen aangelegd en wel met een verdunning:

1 milt op een $\frac{1}{2}$ -c.c. physiol. keukenzoutopl., en hiernaast nog eens met een verdunning:

1 milt op een $\frac{1}{4}$ -c.c. physiol. keukenzoutopl.

Van deze verdunningen (emulsie) werd nu een öse vloeistof genomen en op agarplaten uitgestreken. Deze plaatculturen werden aangelegd van mijten zoowel direct na opname van de bacillen, als wel na 24 uur, 2×24 uur, en 3×24 uur na de infectie. Na de enting werden de platen gedurende 24 uur in de broedstoof bij 37° C. geplaatst.

Het resultaat was, dat de platen, geënt met mijten direct na de infectie, een uiterst zwakken groei vertoonden; hoogstens enkele koloniën waren opgekomen. De platen daarentegen, geënt met mijten 2×24 uur en 3×24 uur later, gaven een behoorlijken sterken groei te zien; zeer vele (niet te tellen) koloniën (ten deele samengevloeid) waren hier opgekomen.

Hiermede was voldoende bewezen dat de bacillen, na door de mijten opgenomen te zijn, zich zeer sterk gaan vermeerderen.

3. INVLOED VAN DE AANWEZIGHEID VAN DEN BACIL OP DERMANYSSUS AVIUM.

Een invloed van de aanwezigheid van de bacillen op de milt, in welk opzicht ook, kon niet worden waargenomen. Onder dezelfde omstandigheden gehouden, onderscheiden de geïnfecteerde mijten zich in niets van de niet geïnfecteerde en het sterftecijfer was niet hooger te noemen. Noch de aanwezigheid van den bacil, noch zijn sterke vermeerdering had ook maar eenigen invloed op de vitaliteit en den levensduur der mijten.

Uit het een en het ander mag geconcludeerd worden, dat de mijten ten opzichte van de bacillen, meer zijn dan slechts een mechanischen drager. De bacillen vinden in de milt een zekere levensvoorwaarde, zonder door den gastheer in sterke mate beïnvloed te worden. Zoo ook omgekeerd heeft de aanwezigheid van de bacillen geen invloed op den gastheer. Dit feit is des te merkwaardiger als we weten, dat de milt een veelvuldig voorkomende parasiet bij de hoenders is, en de vogelcholerabacil voor deze dieren zoo'n sterke pathogene werking heeft. Beide tezamen vormen ze een des te grooter gevaar voor den pluimveestapel.

4. OVERERVING VAN DEN BACIL OP DE NAKOMELINGEN EN PASSAGE DOOR DE VERVELLINGEN.

Het lang aanwezig blijven van virulente bacillen in de mijten, in de voorgaande bladzijden besproken, deed het vermoeden rijzen van het bestaan der mogelijkheid van bacillenpassage door het ei en door de vervellingen der verschillende levensstadia.

Het leek mij wenschelijk om deze kwestie wat nader te bestudeeren. Mocht uit dit onderzoek blijken, dat eipassage mogelijk was, dan zou er een overerving van den bacil op de nakomelingen bestaan en daardoor de mogelijkheid van het voortdurend aanwezig blijven van virulente bacillen in de mijtenkolonies. Dit zou dan van groot practisch belang kunnen zijn voor het ontstaan en de verspreiding van vogelcholera.

Naast experimenten, die de kwestie van eipassage tot klaarheid trachtten te brengen, werden er ook proeven genomen, om de mogelijkheid van bacillenpassage door de diverse vervellingen nader te onderzoeken. Zou dit onderzoek, wanneer bleek, dat eipassage onmogelijk was, van minder practisch belang zijn, theoretisch mag deze kwestie voldoende belangrijk geacht worden, om er eenige aandacht aan te besteden.

a. *Eipassage.*

Ter oplossing van deze kwestie werden er dierproeven genomen en culturen aangelegd van eieren, afkomstig van geïnfecteerde mijten. Eieren, welke op verschillende tijden korteren of langeren tijd na het tijdstip van de infectie der moedermijt waren gelegd, werden hiervoor gebezigd. In den aanvang werden hiervan alleen culturen aangelegd.

Het was moeilijk om met eieren betrouwbare resultaten te verkrijgen.

De eerst aangelegde agarculturen van eieren en larven gaven n.l. verontreinigingen te zien, die, als zeer jonge koloniën, microscopisch veel overeenkomst vertoonden met die van den vogelcholerabacil, doch later bij nader onderzoek grampositieve coccen en niet pathogeen voor de duif, bleken te zijn. Denkelijk was deze verontreiniging te wijten aan de aanwezigheid van bacillen aan de oppervlakte der eieren. De eieren werden toen, vooral daar inmiddels reeds gebleken was, dat de excrementen cholera-bacillen kunnen bevatten, bij den volgenden cultuuraanleg vooraf in een 1 ‰ sublimaat-oplossing gedesinfecteerd en vervolgens in steriel physiologische keukenzoutoplossing afgespoeld. Bouillonculturen van de aldus behandelde eieren bleven nu steriel. De mogelijkheid bestond echter nu hier, dat de sublimaat dieper op de teere eitjes had ingewerkt dan wenschelijk was, alsook dat de sublimaat niet voldoende was weggespoeld. Daarom werden er

toen experimenten genomen met nymphen, door deze bij proefdieren subcutaan te injecteeren. Te meer werd aldus te werk gegaan, daar intusschen de mogelijkheid van bacillenpassage door de vervellingen was gebleken en ook, omdat vooral het practisch belang in het oog gehouden werd, n.l. de mogelijkheid van passage door het ei en de vervellingen met behoud van de virulentie.

De voor deze experimenten aangewende nymphen werden deels verkregen door eieren van geïnfecteerde mijten, welke korteren of langeren tijd na het tijdstip van bacillenopname waren gelegd, in steriele reageerbuisjes te isoleeren om dan het tijdstip af te wachten, waarop het nymphenstadium was opgetreden. Voor een ander deel werden die nymphen gebezigd, welke verzameld werden uit den voorraad van vele honderden geïnfecteerde mijten. Hierbij mocht wel aangenomen worden dat deze gebezigde nymphen zoowel van de eerste, als wel van de laatste, door de mijten gelegde eitjes, afkomstig waren. Drong de bacil dus in het ei, hetzij kort na de infectie, hetzij in een later stadium en bleef de virulentie daarbij bestaan, dan moest de bacil langs dezen weg aantoonbaar zijn. Het bezwaar was hierbij echter, dat de nymphen uit een besmette omgeving werden genomen. Werde het proefdier met dit materiaal geïnfecteerd en trad er dan een infectie op, dan kon dit zoowel veroorzaakt zijn door de bacillen in de nymphen aanwezig, als wel door de bacillen, welke aan het uitwendige van de nymphen kleefden. Trad er echter geen infectie op, dan bevatten de nymphen zeker geen virulente bacillen en mocht de mogelijkheid van de overerving op de nakomelingen uitgesloten worden.

Naast cultuuraanleg (boven reeds genoemd) werd door het verrichten van 8 experimenten (dierentingen) met totaal 274 nymphen getracht de kwestie van eipassage op te lossen. De nymphen werden vooraf met weinig steriel physiologische keukenzoutoplossing in een steriel horlogeglasje geëmulgeerd en daarna bij duiven subcutaan ingespoten.

Experiment 1. (CVIII.)

Subcutane infectie van duif 142 met 30 nymphen, afkomstig van eieren, welke 4 dagen na de infectie van de moedermijten waren geïsoleerd.

- 15.10.29. 1000 mijten geïnfecteerd. (Gr. XXVI.)
- 19.10.29. Eenige tientallen eieren geïsoleerd.
- 21.10.29. Alle geïsoleerde eieren tot larven uitgekomen.
- 22.10.29. Vele larven tot nymphen.
- 25.10.29. 30 nymphen bij duif 142 geïnjecteerd.
- 31.10.29. Duif 142 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Afgeschreven.

Negatief verloop.

In de komende dagen na de injectie der mijten heeft het dier geen ziekte-

verschijnselen vertoond, noch is er op de injectieplaats eenige reactie opgetreden. De duif werd toen een week later afgeschreven.

Experiment 2. (CIX.)

Subcutane infectie van duif 143 met 30 nymphen, afkomstig van eieren, welke 6 dagen na de infectie van de moedermijten waren geïsoleerd.

- 15.10.29. 1000 mijten geïnfecteerd. (Gr. XXVI.)
- 21.10.29. Eenige tientallen eieren in een gesteriliseerd buisje geïsoleerd.
- 22.10.29. Zoo goed als alle eieren tot larven uitgekomen.
- 23.10.29. Zoo goed als alle larven tot nymphen uitgekomen.
- 25.10.29. 30 nymphen bij duif 143 subcutaan geïnjecteerd.
- 31.10.29. Duif 143 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Afgeschreven.

Negatief verloop.

In de volgende dagen na de injectie heeft het proefdier geen ziekteverschijnselen vertoond. Eenige reactie is er op de entplaats niet opgetreden. De duif werd toen een week later afgeschreven.

Experiment 3. (CXI.)

Subcutane infectie van duif 152 met 7 nymphen, afkomstig van eieren, welke 7 dagen na de infectie van de moedermijten waren geïsoleerd.

- 15.10.29. 250 mijten geïnfecteerd. (Gr. XXVI.)
- 22.10.29. De 250 mijten in een steriel buisje geïsoleerd.
- 25.10.29. De door de bovengenoemde 250 geïnfecteerde mijten gelegde eieren in een ander gesteriliseerd buisje geïsoleerd.
- 28.10.29. Alle uitgekomen nymphen (7 stuks) bij duif 152 subcutaan geïnjecteerd.
- 5.11.29. Duif 152 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Afgeschreven.

Negatief verloop.

Werden er op den 22 October 1929 250 geïnfecteerde mijten geïsoleerd, 3 dagen later konden hiervan slechts 7 eieren verzameld worden, die in een gesteriliseerd buisje werden overgebracht. Weer drie dagen later, toen de 7 eieren tot nymphen waren uitgekomen, werden deze nymphen bij duif 152 subcutaan ingespoten.

De duif bleef echter in het leven en werd toen een week na de injectie afgeschreven.

Experiment 4. (CXIV.)

Subcutane infectie van duif 192 met 30 nymphen, afkomstig van eieren, welke 14 dagen na de infectie van de moedermijten waren geïsoleerd.

- 15.10.29. 1000 mijten geïnfecteerd. (Gr. XXVI.)
- 29.10.29. Eenige tientallen eieren in een gesteriliseerd buisje geïsoleerd.
- 30.10.29. Zoo goed als alle eieren tot larven uitgekomen.
- 31.10.29. Zoo goed als alle larven tot nymphen uitgekomen.
- 30 nymphen bij duif 192 subcutaan geïnjecteerd.
- 7.11.29. Duif 192 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Afgeschreven.

Negatief verloop.

De 30 nymphen werden direct na het uitkomen bij duif 192 subcutaan geïnjecteerd.

De duif heeft na de injectie, noch eenige algemeene ziekteverschijnselen, noch eenige reactie op de entplaats vertoond. Zij werd toen een week later afgeschreven.

De vier boven beschreven experimenten werden genomen met nymphen uit eieren, welke respectievelijk 4, 6, 7 en 14 dagen na de infectie van de moedermijten waren geïsoleerd. Het verzamelen van eieren na verschillende tijden had ten doel om, wanneer eipassage mogelijk zou zijn geweest, na te gaan, hoelang na de bacillenopname deze bacillen in de eieren zouden kunnen optreden.

De nymphen voor de volgende 4 experimenten gebezigd, werden niet verkregen uit eieren, welke vooraf werden geïsoleerd, doch werden uit den voorraad verzameld. Hierbij kon dus niet gecontroleerd worden, hoelang na de infectie van de moedermijten de eieren door haar waren gelegd.

Experiment 5. (LXVI.)

Subcutane infectie van muis 348 met 50 nymphen, welke zich binnen de 15 dagen na isolatie van 500 geïnfecteerde mijten uit deze hadden ontwikkeld.

10.9.29. 500 mijten geïnfecteerd. (Gr. XX.)

26.9.29. 50 nymphen bij muis 348 subcutaan geïnjecteerd.

2.10.29. Muis 348 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Afgeschreven.

Negatief verloop.

50 nymphen, welke verzameld werden uit den voorraad van 500 geïnfecteerde mijten (gr. XX) 15 dagen na de bacillenopname, werden in weinig steriel physiologisch keukenzoutoplossing geëmulgeerd en bij muis 348 subcutaan geïnjecteerd.

Een week later werd muis 348 afgeschreven, nadat het dier sinds de infectie geen ziekteverschijnselen had vertoond.

Experiment 6. (LIX.)

Subcutane infectie van muis 329 met 20 nymphen, welke zich binnen de 20 dagen na isolatie van 500 geïnfecteerde mijten uit deze hadden ontwikkeld.

30.8.29. 500 mijten geïnfecteerd. (Gr. XVI.)

19.9.29. 20 nymphen bij muis 329 subcutaan geïnjecteerd.

26.9.29. Muis 329 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Afgeschreven.

Negatief verloop.

20 nymphen, welke verzameld werden uit een voorraad van 500 geïnfecteerde mijten (gr. XVI), 20 dagen na de bacillenopname, werden in weinig steriel

physiologische keukenzoutoplossing geëmulgeerd en bij muis 329 subcutaan geïnjecteerd. Een week later werd muis 329 afgeschreven, nadat het dier sinds de infectie geen ziekteverschijnselen had vertoond.

Muis 329 werd na de afschrijving weer voor een volgend experiment gebruikt.

Experiment 7. (LXV.)

Subcutane infectie van muis 329 met 50 nymphen, welke zich binnen de 15 dagen na isolatie van 500 geïnfecteerde mijten uit deze hadden ontwikkeld.

- 6.9.29. 500 mijten geïnfecteerd. (Gr. XIX.)
- 21.9.29. 50 nymphen, van bovengenoemde mijten afkomstig, hebben op een gezonde duif gezogen.
- 26.9.29. De bovengenoemde 50 nymphen bij muis 329 subcutaan geïnjecteerd.
- 3.10.29. Muis 329 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Afgeschreven.

Negatief verloop.

De voor dit experiment gebezigde nymphen, genomen uit den voorraad van 500 geïnfecteerde mijten (gr. XIX), 15 dagen na de bacillenopname, hadden op een gezonde duif voedsel opgenomen. Vijf dagen na deze voedselopname werden de 50 nymphen voor de infectieproef aangewend.

Muis 329 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond en werd een week na de injectie afgeschreven.

Experiment 8. (L.)

Subcutane infectie van muis 380 met 55 nymphen, welke zich binnen de 30 dagen na isolatie van 500 geïnfecteerde mijten uit deze hadden ontwikkeld.

- 12.8.29. 500 mijten geïnfecteerd. (Gr. XIII.)
- 11.9.29. 55 nymphen bij muis 380 subcutaan geïnjecteerd.
- 18.9.29. Muis 380 gestorven. Intercurrent.

Twijfelachtig verloop.

Een dag na de infectie traden er ziekteverschijnselen op. In het bloeduitstrijkje werden bacillen gevonden, welke wel iets op de bipolaire bacillen geleken. De uit het bloed aangelegde agarculturen gaven echter een dubieuze uitkomst. De muizen welke hiermede werden geënt, stierven wel, doch de culturen hieruit gaven een sterk afwijkenden groei te zien.

Muis 380 stierf 7 dagen na de infectie.

Bloeduitstrijkjes: Afwijkende bacillen.

Agarculturen: Twijfelachtige resultaten.

Een muis, met deze culturen geïnfecteerd, bleef in het leven, zoodat de infectie van muis 380 aan verontreiniging moet geweten worden.

De 8 experimenten met totaal 274 nymphen, met het doel genomen om de mogelijkheid van de bacillenpassage door het ei, dus de overerving van de virulente bacillen op de nakomeling-schap aan te toonen, zijn alle negatief verlopen.

De overerving van virulente bacillen op de nakomelingschap

van geïnfecteerde mijten, mag op grond van bovengenoemde negatieve uitkomsten wel als onmogelijk worden beschouwd.

b. Passage van den bacil door de vervellingen.

Door het verrichten van enkele experimenten werd nagegaan of passage van den bacil door de vervellingen mogelijk zou zijn. Van groot practisch belang voor de verspreiding der ziekte zou dit onderzoek niet kunnen zijn, daar de mijt tijdens de vervellingen geen groote metamorphose ondergaat en als gevolg daarvan niet, zooals bij de insecten (b.v. van rups tot vliegend insect), tot een andere levenswijze overgaat. De mijt blijft ook na de vervellingen haar oude levensgewoonten behouden en blijft binnen haar oude beperkte ruimte van één en hetzelfde hok leven. Mocht het dus blijken, dat de bacil zich tijdens de vervellingen kan handhaven, dan zal dit voor de verspreiding van vogelcholera weinig kunnen beteekenen. Slechts alleen de aanwezigheidsduur van den bacil in de mijt zou er door worden verlengd.

Voor deze experimenten werden nymphen uit het eerste stadium genomen, welke nog niet hadden gezogen. Na zuiging op een choleraduif werden deze nymphen elk afzonderlijk in een klein gesteriliseerd glazen buisje ingesloten en de vervellingen afgewacht.

Door het gebruik van kleine glazen buisjes was het mogelijk de contrôle op de vervellingen met behulp van loupe of binoculaire microscoop des te beter uit te oefenen.

Na de vervelling werden deze nymphen met een weinig steriel physiologische keukenzoutoplossing op een gesteriliseerd voorwerp-glaasje geëmulgeerd en bij het proefdier subcutaan geïnjecteerd.

Er werden 6 experimenten met totaal 11 geïnfecteerde en vervelde nymphen en imagines genomen.

Experiment 1. (XXX.)

Subcutane infectie van muis 372 met 5 deutonymphen, welke zich als protonymphen hadden geïnfecteerd.

12.8.29. Infectie van 20 protonymphen (groep XIII).

13.8.29. 14 nymphen geïsoleerd.

17.8.29. 6 van de 14 protonymphen zijn verveld; 5 van deze 6 deutonymphen bij muis 372 subcutaan geïnjecteerd.

18.8.29. Muis 372 gestorven.

Positief verloop.

Tezamen met gr. XIII werden vele protonymphen, welke nog niet gezogen hadden, op een choleraduif gebracht. Den volgenden morgen werden 14 van deze nymphen, welke geïnfecteerd bloed opgenomen hadden, elk afzonderlijk in een klein gesteriliseerd buisje geïsoleerd. 5 dagen later waren 6 van de 14

verveld. 5 van deze werden toen in steriel physiologische keukenzoutoplossing geëmulgeerd en bij muis 372 subcutaan geïnjecteerd.

16 uur na de infectie (de muis was nog niet gestorven) waren de bipolaire bacillen in het bloeduitstrijkje van de muis aan te toonen. 18 uur na de infectie stierf de muis.

Agarculturen uit het hart: Reinculturen van bipolaire bacillen.

In het bovenstaand experiment trad er dus een infectie op na een injectie van geïnfecteerde nymphen, welke zich als proto-nymphen hadden geïnfecteerd.

De mogelijkheid bestaat echter, dat de nymphen zich steeds aan haar eigen excrementen herinfecteeren. De excrementen, tijdens het deponeeren vloeibaar, drogen evenwel zeer spoedig in, zoodat de mogelijkheid van de bacillenopname door de steek-snuit dan wel zeer gering wordt. Het is bovendien de vraag of de mijt buiten haar gastheer om, voedsel of andere stoffen zal trachten op te nemen. Waargenomen werd dit niet.

De mogelijkheid van de aanwezigheid van de bacillen, uitwendig aan het lichaam en de ledematen, is veel grooter. Door de zeer snelle indroging van de excrementen zal de bezoedeling met deze echter wel tot een minimum beperkt blijven.

De bacil sterft bovendien door de indroging zeer snel af (binnen 72 uur, *Heelsbergen*), zoodat de eventueel in de excrementen aanwezige bacillen door de indroging, zoo ook de eventueel aan de ledematen meegevoerde bacillen, spoedig hunne virulentie zullen moeten verliezen.

Er werden ook enkele experimenten genomen om na te gaan hoe lang de bacillen hunne virulentie buiten het lichaam van de mijten om, kunnen bewaren. Daartoe werden enkele glasplaten met bloed van choleraduiven bestreken en deze bij kamertemperatuur en bij 22° C. bewaard. Met het bloed van de glasplaten, welke bij 22° C. waren bewaard, kon na 24 uur geen infectie meer opgewekt worden. Met het andere bloed dat bij kamertemperatuur bewaard werd, kon na 24 uur nog wel een infectie bij een muis verkregen worden, doch na 50 uur niet meer.

Mede in het oog houdend, dat de mijt door de vervelling zich van de eventueel besmette huid ontdoet, dan mag de mogelijkheid van het aanwezig zijn van virulente bacillen uitwendig aan het lichaam wel minimaal klein geacht worden.

Experiment 2. (CVII.)

Subcutane infectie van duif 102 met 1 geïnfecteerde nymphe, 3 dagen na de vervelling van proto- tot deutonymphe.

- 15.10.29. Infectie der nymphen op duif 141. (Gr. XXVI.)
- 16.10.29. Enkele nymphen geïsoleerd en bij 25° C. geplaatst.
- 22.10.29. Enkele nymphen zijn verveld.
- 25.10.29. Infectie duif 102 met 1 vervelde nymphe.
- 26.10.29. Duif 102 gestorven.

Positief verloop.

Een nympe, welke tezamen met gr. XXVI zich op duif 141 had geïnfecteerd en toen bij 25° C. werd bewaard en 6 dagen later tot deutonympe is verveld, werd met weinig steriel physiologische keukenzoutoplossing bij duif 102 subcutaan geïnjecteerd.

Ruim 24 uur na de infectie is de duif gestorven.

Bloeduitstrijkjes: Bipolaire bacillen.

Agarculturen uit het hart: Reinculturen van bipolaire bacillen.

Ook in dit experiment trad er een infectie op na injectie van slechts één nympe, welke éénmaal was verveld.

Tusschen het moment van vervelling en het moment van aanwending van de nympe voor de infectieproef lag een tijdsruimte van drie dagen. Op grond van het feit, dat de bacillen bij een temperatuur van 22° C. (zie blz. 55) zoo snel afsterven, mag wel aangenomen worden dat de infectie in bovenstaand experiment veroorzaakt moet zijn door bacillen, die in de mijt aanwezig waren.

Experiment 3. (XL.)

Subcutane infectie van muis 332 met één mijt (imago), welke zich als protonympe had geïnfecteerd.

16.8.29. Vele protonymphen geïnfecteerd. (Gr. XIV.)

17.8.29. 12 van deze nymphen in een steriel reageerbuisje afzonderlijk geïsoleerd.

26.8.29. 4 van deze zijn verveld.

30.8.29. De 4 deutonymphen op gezonde duif 954 gezogen.

3.9.29. 1 nympe voor de tweede maal verveld, dus tot imago geworden. Muis 332 wordt met deze imago geïnfecteerd.

6.9.29. Muis 332 vertoont geen ziekteverschijnselen en wordt afgeschreven.

Negatief verloop.

Vele nymphen werden tezamen met groep XIV op een choleraduif gebracht. Na opname van de bacillen werden 12 van deze geïnfecteerde protonymphen elk afzonderlijk in een klein gesteriliseerd buisje geïsoleerd. Acht dagen later waren 4 van deze verveld en tot deutonympe geworden. 4 dagen na deze vervelling werden deze deutonymphen op gezonde duif 954 gebracht ter opname van versch bloed. 3 dagen na deze voedselopname was één van deze deutonymphen door vervelling tot imago overgegaan. Deze mijt werd met weinig steriel physiologische keukenzoutoplossing bij muis 332 subcutaan geïnjecteerd.

Infectie is er niet opgetreden. De muis werd enkele dagen later afgeschreven en voor een volgende proef gebezigd.

Experiment 4. (CXIX.)

Subcutane infectie van duif 249 met één imago, welke zich als protonympe had geïnfecteerd.

- 15.10.29. Infectie van vele protonymphen op duif 141. (Gr. XXVI.)
- 18.10.29. Deze protonymphen in gesteriliseerde kleine buisjes geïsoleerd.
- 21.10.29. Eerste vervelling. Deutonymphe.
- 30.10.29. De deutonymphen hebben op een gezonde duif gezogen.
- 6.11.29. De tweede vervelling treedt op en één van deze jonge mijten wordt bij duif 249 subcutaan geïnjecteerd.
- 22.11.29. Duif 249 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond en wordt afgeschreven.

Negatief verloop.

Enkele protonymphen, welke zich den 15.10.29 op duif 141 (gr. XXVI) hadden geïnfecteerd, werden den 18.10.29 elk afzonderlijk in een klein gesteriliseerd buisje geïsoleerd. Van 21—28 October 1929 gingen deze protonymphen door vervelling tot deutonymphen over. Deze deutonymphen werden enkele dagen later (30.10.29) op een gezonde duif gebracht. Na zuiging hierop werden deze nymphen weer elk afzonderlijk geïsoleerd. Eén van deze deutonymphen vervelde ongeveer een week later, en werd toen als imago bij duif 249 subcutaan geïnjecteerd, zonder echter bij dit proefdier een infectie te hebben veroorzaakt.

Het proefdier werd 14 dagen later afgeschreven en toen voor een ander experiment aangewend.

Experiment 5. (CXX.)

Subcutane infectie van duif 250 met 1 mijt (imago), welke zich als protonymphe had geïnfecteerd, en sindsdien twee vervellingen had doorgemaakt.

- 15.10.29. Enkele protonymphen infecteeren zich op duif 141. (Gr. XXVI.)
- 18.10.29. Enkele geïnfecteerde protonymphen worden elk afzonderlijk in kleine gesteriliseerde buisjes geïsoleerd.
- 21—28.10.29. Alle protonymphen na een vervelling tot deutonymphe overgegaan.
- 30.10.29. De deutonymphen hebben op een gezonde duif gezogen.
- 7.11.29. 1 van de deutonymphen door vervelling overgegaan tot imago.
- 8.11.29. Duif 250 wordt met deze imago subcutaan geïnfecteerd.
- 22.11.29. Duif 250 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond en wordt afgeschreven.

Negatief verloop.

Enkele protonymphen, welke 15.10.29 zich tezamen met groep XXVI op duif 141 hadden geïnfecteerd, werden den 18.10.29 elk afzonderlijk in een klein gesteriliseerd buisje geïsoleerd. Van 21—28 October 1929 gingen deze protonymphen tot vervelling over. Enkele dagen later hebben deze vervelde nymphen op een gezonde duif gezogen. Na deze voedselopname werden de nymphen weer elk afzonderlijk geïsoleerd. Eén van deze deutonymphen vervelde ongeveer een week later en werd toen als imago bij duif 250 subcutaan geïnjecteerd. Infectie is bij dit proefdier niet opgetreden, zoodat dit dier 14 dagen later werd afgeschreven.

Experiment 6. (CXXIII.)

Subcutane infectie van duif 258 met 1 mijt (imago), welke zich als protonymphe had geïnfecteerd en sindsdien twee vervellingen had doorgemaakt.

- 15.10.29. Enkele protonymphen infecteeren zich op duif 141. (Gr. XXVL.)
 19.10.29. Enkele van deze protonymphen worden afzonderlijk in kleine steriele buisjes geïsoleerd.
 21—28.10.29. Alle protonymphen gaan voor de eerste maal vervellen.
 30.10.29. De deutonymphen hebben op een gezonde duif gezogen.
 11.11.29. 1 van de deutonymphen door vervelling tot imago overgegaan.
 12.11.29. Deze imago wordt bij duif 258 subcutaan geïnjecteerd.
 13.11.29. Op injectieplaats een groote locale haard tot ontwikkeling gekomen.
 14.11.29. Duif 258 gestorven.

Positief verloop.

Enkele protonymphen welke zich den 15.10.29 tezamen met gr. XXVI op duif 141 hadden geïnfecteerd, werden den 18.10.29 elk afzonderlijk in een klein gesteriliseerd buisje geïsoleerd. Van 21—28 October 1929 gingen deze protonymphen vervellen. Enkele dagen later hebben deze vervelde nymphen op een gezonde duif gezogen. Na deze voedselopname werden deze nymphen weer afzonderlijk geïsoleerd. Eén van deze deutonymphen vervelde den 11 October 1929 en werd den 12.11.29 als imago bij duif 258 subcutaan geïnjecteerd.

Daags na de infectie ontwikkelde zich op de injectieplaats een groote locale haard. Uitstrijkjes hieruit gaven bipolaire bacillen te zien, zoo ook waren de agarculturen uit deze locale haard positief. Een dag hierna, den 14.11.29, stierf de duif, ongeveer 36 uur na de infectie.

Agarculturen uit het hart: Reinculturen van bipolaire bacillen.

Van de 6 experimenten met nymphen en imagines, genomen ter bestudeering van de mogelijkheid van bacillennpassage door de verschillende vervellingen, zijn er drie positief en drie negatief verlopen.

De bacillennpassage door de vervellingen is dus mogelijk.

De beide eerste positief verlopende experimenten laten de mogelijkheid van bacillennpassage door een éénmalige vervelling zien, terwijl de mogelijkheid van het aanwezig blijven van den bacil in de mijt tot zelfs na de tweede vervelling, in het laatste experiment wordt getoond.

Dat slechts in één van de vier gevallen met mijten, welke zich als protonymphen hadden geïnfecteerd en dus 2 vervellingen hadden doorgemaakt, een infectie werd verkregen, is begrijpelijk. Vele arthropoden reinigen zich n.l. tijdens de vervellingen van opgenomen bacteriën. Doet de mijt dit niet geheel, dan toch zeker wel ten deele. Een vervelling beteekent toch steeds een ingrijpende verandering, waardoor ook de bacillen in het maagdarmkanaal moeten beïnvloed worden. Evenals niet alle mijten den bacil even lang virulent in zich kunnen bergen, zoo ook zullen niet alle nymphen tijdens de vervellingen den bacil bij zich kunnen houden. Ook hier zullen er individueele verschillen bestaan.

5. EXCREMENTENONDERZOEK.

Het is bekend, dat de door arthropoden opgenomen bacillen, na korteren of langeren tijd gedeeltelijk weer met de excrementen worden uitgescheiden. Aan dit feit wordt ten deele een groote

waarde toegekend, want worden deze geïnfekteerde excrementen tijdens het verblijf van den parasiet op den gastheer gedeponeerd, dan zal de kans voor het ontstaan van een infectie vrij groot worden. Vooral zal dit het geval zijn, wanneer er huidlaesies voorkomen en wanneer de bacillen gemakkelijk cutaan of subcutaan een infectie teweeg doen brengen. Zijn de excrementen bovendien nog vloeibaar en worden zij tijdens het zuigen of even daarna gedeponeerd, dan wordt de kans al zeer groot dat de bacillen daaruit via het steekkanaal kunnen binnendringen.

Aan deze infectiemogelijkheden werd gedacht en is bij de mijt nader onderzocht geworden. Daarvoor was in de eerste plaats noodig dat er een onderzoek naar de aanwezigheid van bipolaire bacillen in de excrementen werd ingesteld. Eerst nadat dit onderzoek positief was uitgevallen kon er meer aandacht aan de overbrengingsmogelijkheden besteed worden.

Achtereenvolgens zal dit nu in de volgende bladzijden worden besproken.

a. Aantoonen van den bacil in de excrementen.

De excrementen werden microscopisch, cultureel en door dierentingen op de aanwezigheid van bipolaire bacillen onderzocht.

Microscopisch onderzoek.

Spoedig na de infectie der mijten traden er in de excrementen kleine slecht bipolair kleurende bacillen op. Het aantal werd spoedig zeer groot, zoodat de excrementen als het ware een conglomeraat van deze bacillen bleken te zijn. Aan de randen van deze opeenhoopingën waren de bacillen afzonderlijk zichtbaar. Het aantal bacillen was 9 à 10 dagen na de infectie der mijten het grootst. Na dezen tijd nam hun aantal steeds af. Na 20 dagen verminderde dit aantal zeer sterk; toen traden er ook meer grooter cocachtige bacillen op.

Dit onderzoek werd 40 dagen achtereen voortgezet, doch tenslotte konden de op cholerabacillen gelijkende (bipolaire kleuring kon sinds lang niet meer waargenomen worden) niet meer aangetoond worden.

Hier dient nog vermeld te worden, dat de excrementen microscopisch, afgezien van de aanwezige bacillen, steeds het zelfde beeld gaven te zien. Nooit werden er half verteerde elementen aangetroffen, ook niet direct na voedselopname.

Hoofdzakelijk bestaan de excrementen uit kleine, ronde op kristal gelijkende lichaampjes.

Aanleg van culturen.

Bij den aanvang van het excrementenonderzoek werden er van

de excrementen agarculturen aangelegd. Daar de culturen echter onbetrouwbare uitkomsten gaven (zie blz. 45), werd dit onderzoek spoedig door het verrichten van dierentingen vervangen.

Naar willekeur kon het interval, zijnde den tijdsduur vanaf infectie der mijt tot op het moment waarop de excrementen werden gedeponeerd, geregeld worden. Voor cultuuraanleg werden er intervallen van 1—7 dagen genomen.

Ter verkrijging van de excrementen werden ongeveer 50 mijten in een steriel reageerbuisje overgeschud, en deze daarin zoo lang bewaard tot er een voldoende hoeveelheid excrementen waren gedeponeerd. Deze tijd liep van 15—30 minuten. Direct na het verwijderen van de mijten uit dit buisje werden de excrementen met behulp van een bevochtigde entnaald (deze werd eerst uitgegloeid en daarna met steriel physiologische keukenzoutoplossing bevochtigd) op de agar geënt.

Op agar kon de bacil binnen de 5 dagen na de infectie van de mijten in hun excrementen aangetoond worden. (Zie tabel IV.)

TABEL IV.

Datum.	Nummer.	Groep.	Aantal culturen.	Tijdsduur na infectie v. d. mijt.	Uitkomst.	Dierproef.
30.7.29	1	IX	2	1 dag	Negatief	Positief
31	2	IX	2	2 dagen	Negatief	
1.8.29	3	IX	2	3 "	Negatief	
2	4	IX	2	4 "	Negatief	
5	5	IX	2	7 "	Twijfelachtig	
4.9.29	6	XVI	3	1—5 dagen	2 negatief 1 twijfelacht.	Positief
5	7	XVI	2	6 dagen	1 negatief 1 zwak pos.	

Tabel, aangevende na hoeveel tijd de bipolaire bacillen in de excrementen der mijten op agar konden worden aangetoond.

De culturen werden gedurende 24 uur in een broedstoof bij 37° C. geplaatst, daarna gecontroleerd, om dit enkele dagen later nog eens te doen.

In de twijfelachtige gevallen onder No. 5 en 6, werden de culturen na enkele overentingen bij een muis subcutaan geïnjecteerd. Beide dieren stierven tengevolge van de cholera-infectie. De uitkomst onder No. 6 werd verkregen door de 50 mijten

gedurende de eerste 5 dagen na de bacillenopname in een vooraf gesteriliseerd buisje te bewaren en de na dezen tijd aldus verkregen excrementen voor aanleg van 3 agarculturen te bezigen. Twee culturen bleven steriel, terwijl de derde sterk verontreinigd was, met twijfelachtige vogelcholerakoloniën daar tusschen door. Na verschillende overentingingen werd tenslotte één van deze verkregen culturen met physiologisch keukenzoutoplossing afgeschud en bij een muis geïnjecteerd. Deze geïnfecteerde muis stierf aan vogelcholera.

Binnen de 5 dagen kunnen de bacillen dus reeds in de excrementen voorkomen, na 5 en 6 dagen doen ze dit zeker.

Dierentingen.

Hoofdzakelijk werd de aanwezigheid van den vogelcholerabacil in de excrementen door middel van dierentingen aangetoond. Het verkrijgen der voor deze proeven gebezigde excrementen geschiedde op dezelfde wijze als bij het vorig onderzoek (blz. 60), echter de excrementen werden hier ten deele met behulp van een entnaald op de gescarificeerde huid van een duif gebracht, ten deele als suspensie in physiol. keukenzoutoplossing bij het proefdier geïnjecteerd. Het interval (zijnde de tijdsduur vanaf moment van bacillenopname tot moment waarop de excrementen werden afgezet) werd bij dit onderzoek ook grooter genomen en varieerde van 7—65 dagen.

Experiment 1. (XLIV.)

Subcutane infectie van muis 378 met excrementen, 7 dagen na de bacillenopname gedeponneerd.

- 6.9.29. Excrementen van 50 mijten (groep XVI) gedurende 24 uur verzameld, werden in $\frac{1}{2}$ -c.c. physiol. keukenzoutopl. gesuspenderd en dit bij muis 378 subcutaan ingespoten.
- 7.9.29. 20 uur na de infectie stierf de muis. Bloeduitstrijkje: Bipolaire bacillen.

Positief verloop.

Experiment 2. (XLVIII.)

Subcutane infectie van muis 379 met excrementen, 10 dagen na de bacillenopname gedeponneerd.

- 9.9.29. Excrementen van 50 mijten (groep XVI) gedurende 15—30 minuten in een steriel buisje verzameld, werden met $\frac{1}{2}$ -c.c. steriel physiol. keukenzoutopl. afgespoeld en deze suspensie bij muis 379 subcutaan ingespoten.
- 11.9.29. Ruim 30 uur na de infectie stierf de muis aan cholera. Bloeduitstrijkje: Bipolaire bacillen.

Positief verloop.

Experiment 3. (LXXXVII.)

Cutane infectie van duif 117 met excrementen, welke 11 dagen na de bacillenopname werden gedeponeerd.

- 12.10.29. Excrementen van 50 geïnfecteerde mijten (groep XXV) gedurende 15 minuten in een steriel buisje verzameld, werden met een bevochtigde entnaald op de gescarificeerde huid van duif 117 gebracht.
- 13.10.29. Op entplaats was een groote locale haard tot ontwikkeling gekomen.
- 15.10.29. Duif 117 stierf 3 dagen na de infectie aan vogelcholera.
- Bloeduitstrijkjes: Bipolaire bacillen.
- Agarculturen uit het hart: Reinculturen van bipolaire bacillen.

Positief verloop.

Twee dagen na de infectie (14.10.29) werden uit den lokalen haard van duif 117 (zie afbeelding), 3 agarculturen aangelegd. Op de agar waren de vogelcholerabacillen (na 24 uur in de broedstoof bij 37° C.) in reinculturen gegroeid. 3 dagen na de infectie stierf het dier.

Uit het bovenstaand experiment blijkt, dat virulente bacillen in de excrementen, 11 dagen na de infectie van de mijt gedeponeerd, aanwezig kunnen zijn, waarbij echter een achteruitgang van de virulentie valt te constateeren.

* *

De volgende 4 experimenten werden met excrementen genomen, welke 15 en 16 dagen na de infectie door de mijten waren gedeponeerd.

Experiment 4. (LX.)

Subcutane infectie van muis 348 met excrementen van 175 mijten, welke 15 dagen na de bacillenopname werden verzameld.

- 19.9.29. Excrementen van 175 mijten (groep XVIII) gedurende 10 minuten in een steriel buisje afgezet, werden met een 1/2-c.c. physiol. keukenzoutopl. bij muis 348 subcutaan geïnjecteerd.
- 29.9.29. Muis 348 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Afgeschreven.

Negatief verloop.

Experiment 5. (CXIII.)

Cutane infectie van duif 143 met excrementen van 250 geïnfecteerde mijten, welke 15 dagen na de bacillenopname werden verzameld.

30.10.29. Excrementen van 250 geïnfecteerde mijten (groep XXVI) welke gedurende 15 minuten in een steriel buisje werden afgezet, werden met een bevochtigde entnaald op de gescarificeerde huid van duif 143 gebracht.

5.11.29. Duif 143 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Afgeschreven.

Negatief verloop.

Experiment 6 (LXXXVIII).

Subcutane infectie van duif 118 met excrementen van 55 geïnfecteerde mijten, welke 16 dagen na de bacillenopname werden verzameld.

12.10.29. Excrementen van 55 geïnfecteerde mijten (groep XXIV) welke gedurende 15 minuten in een steriel buisje werden afgezet, werden met een bevochtigde entnaald *onder* de huid van duif 118 gebracht.

13.11.29. Geringe locale zwelling op de entplaats.

21.10.29. Duif 118 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Afgeschreven.

Negatief verloop.

24 uur na de enting ontwikkelde er zich op de entplaats een geringe locale zwelling. De drie hieruit aangelegde agarculturen bleven echter steriel. 24 uur later was de zwelling reeds weer verdwenen. De duif bleef overigens gezond, en werd een week later afgeschreven.

Experiment 7. (CXV.)

Cutane infectie van duif 191 met excrementen van 250 geïnfecteerde mijten, welke 16 dagen na de bacillenopname werden verzameld.

31.10.29. Excrementen van 250 geïnfecteerde mijten (groep XXVI) welke gedurende 15 minuten in een steriel buisje werden afgezet, werden met een bevochtigde entnaald op de gescarificeerde huid van duif 191 gebracht.

5.11.29. Duif 191 heeft geen ziekteverschijnselen vertoond. Afgeschreven.

Negatief verloop.

De laatste 4 experimenten genomen met excrementen, welke 15—16 dagen na de bacillenopname werden gedeponeerd, zijn alle negatief verlopen, in tegenstelling met die na 10 en 11 dagen.

Toen na 15 en 16 dagen geen virulente bacillen meer in de excrementen konden worden aangetoond, werd dit onderzoek niet verder voortgezet, doch toen later, tijdens het onderzoek omtrent den invloed van een herzuiging op de aanwezigheid van den bacil in de milt (zie blz. 65), bleek, dat de excrementen ook nog lang na een termijn van 15 dagen virulente bacillen kunnen bevatten, werden er daarna nog enkele proeven verricht. In geen van deze experimenten is er echter een infectie opgetreden. Het bleef dus bij dat eene geval waarbij in de excrementen van 140

geïnfecteerde mijten, 49 dagen na de opname van de bacillen, de virulente cholerabacillen konden worden aangetoond. De duif, die in dat experiment als proefdier werd gebezigd, stierf binnen 36 uur na de infectie.

Uit dat eene positief verlopend experiment, waarbij de bacillen nog na 49 dagen in de excrementen konden worden aangetoond, blijkt voldoende, dat de bacillen zeer lang na de opname door de mijten kunnen worden uitgescheiden.

b. Macroscopisch onderzoek van de excrementen.

Hoofdzakelijk werden deze waarnemingen in reageerbuisjes geconstateerd. Vele mijten waren hier binnen een kleine beperkte ruimte bijeen, wat het observeren ten zeerste vergemakkelijkte.

De excrementen worden herhaaldelijk (vele malen daags) afgezet. Hoe actiever de mijt, des te sneller de vertering en des te vaker ook de afzetting der excrementen. De excrementen doen zich op het glas kennen als kleine min of meer witgrijze tot donkere stippen, meestal rond van vorm doch ook wel langwerpig, als het ware met een uitlooper.

De excrementen zijn vloeibaar en worden in één moment door de mijt uitgeperst en vloeien dan, indien de mijt in rust is, tot een grootere stip uiteen, om daarna direct in te drogen. Worden de excrementen echter afgezet wanneer de mijt in beweging is, dan worden zij in vele gevallen in één richting uitgestreken. Dit kan des te gemakkelijker geschieden, doordat het achterlijf van de mijt niet hoog wordt opgeheven en de ventraal gelegen anaalopening daardoor bijna den bodem raakt. Hoe actiever de mijt en hoe meer excrementen er per keer worden afgezet, des te vaker zal dat versleepen plaats vinden.

Op haar gastheer is de mijt steeds zeer actief, en er mag wel aangenomen worden, dat ook hier veelvuldig excrementen worden afgezet en ook, dat de mogelijkheid van versleeping hier groot is. Of de afzetting van de excrementen tijdens de voedselopname veelvuldig en in groote hoeveelheden plaats vindt, kon niet waargenomen worden. Denkelijk zal dit ten deele wel moeten geschieden, daar door de voedselopname het lichaam van de mijt zich sterk uitzet, zoodat de chitinehuid onder sterke spanning geraakt, wat ten gevolge moet hebben dat de aanwezige excrementen, hetzij actief, hetzij passief naar buiten worden gedrongen. Hoe gemakkelijk zou nu na een zuiging geïnfecteerd materiaal op het steekkanaal gebracht kunnen worden, waardoor een infectie zou kunnen plaats vinden.

Een infectie werd er echter in de experimenten, waarbij overbrenging door middel van den steek werd beoogd (zie blz. 91 en volgende), niet teweeg gebracht, zoodat aangenomen mag worden

dat het optreden van een infectie op bovenveronderstelde wijze practisch niet zal voorkomen.

Het uiterst nauwe steekkanaaltje en het snel indrogen van de excrementen zullen wel mede factoren vormen, waardoor een infectie langs dezen weg tot een minimum wordt beperkt.

* *
*

Zal er voor het optreden van een infectie via het steekkanaal weinig kans bestaan, toch mag het gevaar dat van de bacillenhoudende excrementen kan uitgaan, ook weer niet te gering geacht worden. De mogelijkheid kan n.l. bestaan, hoewel in uitzonderingsgevallen, dat de excrementen elders op een grooter wondje gedeponeerd worden en dan zal er zeker een infectie verwacht mogen worden. Bovendien kunnen de excrementen ook op andere plaatsen gedeponeerd worden of terecht komen, waardoor de bacillen in voor den groei gunstige omstandigheden geraten. Er kan dan een vermeerdering van bacillen optreden, waardoor de kans van infectie voor de kippen weer grooter wordt, maar tevens ook de kans voor de verspreiding door andere arthropoden (insecten).

6. INVLOED VAN EEN HERZUIGING OP DE AANWEZIGHEID VAN DE BACILLEN IN DERMANYSSUS AVIUM.

In de volgende bladzijden zal het onderzoek, betreffende den invloed van een herhaalde zuiging op de in de mijt aanwezige bacillen, worden besproken. Het zou n.l. mogelijk kunnen zijn, dat de sinds de bacillenopname in de mijt achtergebleven bacillen zich na opname van versch bloed weer gaan vermeerderen, zooals ze dat direct na hun opname door de mijt doen. De mogelijkheid zou echter ook kunnen bestaan dat de achtergebleven bacillen door een herhaalde voedselopname geheel uit het darmkanaal van de mijt worden verdreven, zoodat de mijten daardoor eerder van de bacillen vrijkomen.

De invloed van een herzuiging op den bacil werd op verschillende manieren onderzocht en wel:

1. Door aanleg van culturen van mijten, welke op verschillende tijden na de bacillenopname op een gezond dier hadden herzogen.

2. Door het microscopisch onderzoek van de excrementen, voor en na een herzuiging, gedeponeerd.

3. Door dierentingen met excrementen voor en na een herzuiging gedeponeerd.

4. Door een infectieproef met mijten, welke herhaalde malen na de bacillenopname op een gezonde duif hadden herzogen.

De eerste 3 onderzoeken vonden vergelijkenderwijs plaats, door naast het onderzoek met mijten, welke hadden gezogen, datzelfde onderzoek ook te verrichten met mijten, welke sinds de infectie geen versch voedsel hadden opgenomen. De uitkomsten konden daardoor beter beoordeeld worden.

Cultuuraanleg van mijten, welke op verschillende tijden na de bacillenopname op een gezond dier hadden herzogen.

Na een herzuiging (de mijten kregen de gelegenheid op den 5den en 10den dag na de bacillenopname versch voedsel op een gezond dier op te nemen) werden gedurende eenigen tijd dagelijks van 5 à 10 mijten agarculturen aangelegd, dus 24 uur, 2×24 uur, enz. tot 5 dagen na bovengenoemde herzuiging. Hiernaast werden ter contrôle culturen aangelegd op dezelfde tijden van mijten uit dezelfde groep, welke echter sinds de infectie geen versch voedsel hadden opgenomen. Er werden dus 2 reeksen culturen verkregen van mijten uit een en dezelfde groep en na een gelijk interval aangelegd. Bij de eene reeks hadden de mijten echter weer op een gezonde duif hernieuwd gezogen. Zou door een herhaalde voedselopname vermeerdering van de bacillen in den darm optreden, dan moest dit in de culturen tot uiting komen. Beide reeksen lieten echter een zelfden groei zien. Eenig onderscheid viel niet waar te nemen.

Dit onderzoek werd 2 maal herhaald, echter steeds met dezelfde resultaten.

Microscopisch onderzoek van de excrementen, voor en na een herzuiging op een gezond dier.

Dit onderzoek kon slechts iets aan het licht brengen omtrent de afzetting van en het aantal der eventueel uitgescheiden bacillen. Het onderzoek wees echter uit, dat er van een verandering, wat het aantal als wel wat de soort bacillen betreft, geen sprake was. Na een herzuiging en na herhaalde (4) herzuigingen van $\pm$ 500 geïnfecteerde mijten, was het microscopisch beeld steeds hetzelfde, als dat van voor de zuiging. Af en toe traden er wel groote hoeveelheden groote coccen in de excrementen op, welke echter met de cholerabacillen niets te maken hadden. Een verschil wat het bacillenbeeld betreft, met excrementen van mijten uit dezelfde groep en na een gelijk aantal dagen na de bacillenopname gedeponeerd, echter zonder ooit herzogen te hebben, viel zelfs niet te constateeren. Herzuigen had dus geen vermeerdering van de cholerabacillen en daardoor vermeerderde uitscheiding van deze ten gevolge, tenminste niet voor zoover dat microscopisch kon worden nagegaan.

Dierentingen met excrementen, voor en na een herzuiging op een gezonde duif gedeponeerd.

Met de excrementen voor en na een eerste herzuiging, 15 dagen na de bacillenopname, werden er geen dierproeven verricht. Het zou n.l. zeer wel mogelijk kunnen zijn, dat na deze eerste herzuiging de bacillen met de excrementen werden uitgescheiden, welke reeds voor de herzuiging in de excretieorganen aanwezig waren, doch slechts alleen uitgescheiden konden worden, wanneer de mijten opnieuw voedsel hadden opgenomen. De met deze excrementen verrichte experimenten zouden dan tot een foutieve conclusie aanleiding kunnen geven.

Na een tweede herzuiging, 25 dagen na de eerste, werd er met de excrementen in één van de drie genomen experimenten een infectie bij het proefdier verkregen. Hieruit zou geconcludeerd kunnen worden, dat er door een herzuiging virulente bacillen met de excrementen worden uitgescheiden. Echter in één van de ter controle tegelijkertijd genomen experimenten met mijten uit dezelfde groepen, doch die sinds de bacillenopname geen verscht voedsel hadden opgenomen, werd eveneens een positief resultaat verkregen. De positieve uitkomst na de tweede herzuiging mocht dus niet aan de herzuiging geweten worden.

Na een derde herzuiging, ongeveer 20 dagen na de tweede, kon in geen van de 4 experimenten een infectie verkregen worden.

Als gevolg van een herzuiging worden er dus geen virulente bacillen uit de milt verdreven.

Infectieproef met geïnfecteerde mijten, welke herhaalde malen op een gezonde duif hadden herzogen.

Uit het microscopisch excrementenonderzoek is het niet voldoende gebleken in hoeverre een herhaalde voedselopname invloed op de verwijdering der bacillen uit het lichaam van de milt kan uitoefenen. Op grond van dat onderzoek zou men echter geneigd zijn te veronderstellen, dat dit zeer gering is. Om nu hieromtrent meerdere zekerheid te verkrijgen werd er een duif met de restende mijten uit groep XXVI enkele dagen na de derde herzuiging, subcutaan geïnfecteerd.

Uitgaande van 1000 geïnfecteerde mijten, waarmede verschillende proeven, voornamelijk voor het excrementenonderzoek, werden verricht, werden hiervan tenslotte nog ongeveer 50 exemplaren overgehouden. Als gevolg van een voortdurend afgesloten houden van het reageerbuisje, waarin deze mijten werden bewaard (zie blz. 35), zijn n.l. alle overige mijten gestorven.

Experiment (CLII).

50 mijten (groep XXVI) werden na minstens 4 maal op een gezonde duif herzogen te hebben, 67 dagen na de bacillenopname als suspensie in physiol. keukenzoutoplossing bij duif 324 subcutaan geïnjecteerd.

Binnen 18 uur na deze injectie stierf deze duif.
 Bloeduitstrijkje: Bipolaire bacillen.
 Agarculturen uit het hart: Reinculturen van bipolaire bacillen.
 (Zie tabel V.)

TABEL V.

Experiment (CLII). Proefdier: Duif 324.

15.10.29.	1000 mijten (gr. XXVI) op duif 141 geïnfecteerd.
16.10.29.	Gezogen op gezonde duif 191. ?
17.10.29.	" " " " 191. ?
18.10.29.	" " " " 191. ?
19.10.29.	" " " " 191. ?
31.10.29.	" " " " 130.
25.11.29.	" " " " 130.
16.12.29.	" " " " 130.
21.12.29.	50 mijten (gr. XXVI) bij duif 324 subcutaan geïnjecteerd.
22.12.29.	Duif 324 binnen 18 uur na de infectie gestorven.

Positief verloop.

Subcutane infectie van een duif met mijten, welke herhaalde malen na de opname van de bacillen op een gezond dier hadden herzogen.

Direct na de infectie op een cholera-duif werden de mijten gedurende 4 dagen achtereen op duif 191 in de gelegenheid tot voedselopname gesteld. Dat de mijten in een van de vier gevallen voedsel hebben opgenomen, hoewel dit niet direct kon worden bewezen, kan wel als zeer zeker aangenomen worden. (Zie blz. 94). Dit mede in rekening gebracht, dan hebben de mijten minstens 4 maal na de bacillenopname op een gezonde duif herzogen.

Uit dit experiment valt op te maken, dat de cholerabacillen door herhaalde zuigingen op gezonde dieren niet uit het lichaam der mijten worden verdreven. De vraag komt hierbij naar voren of de bacillen niet ergens intracellulair zijn komen te liggen, hoe anders het feit te verklaren, dat er na een herhaalde voedselopname geen bacillen worden uitgescheiden.

Conclusies.

De volgende conclusies kunnen uit het bovenstaand onderzoek worden getrokken:

1. Een herhaalde voedselopname heeft geen vermeerdering van de sinds de bacillenopname in de darm van de mijt achtergebleven bacillen ten gevolge.
2. De bacillen worden als gevolg van een enkele herzuiging niet uit het lichaam van de mijt verwijderd. Dat dit op den duur na vele herzuigingen wel het geval zal kunnen zijn, is niet onmogelijk.
3. Waarschijnlijk heeft een herzuiging ten gevolge, dat de virulentie der in de mijt achtergebleven bacillen er door wordt verhoogd.

7. LOCALISATIE EN ONTWIKKELING VAN DEN BACIL IN DEN DARM VAN DERMANYSSUS AVIUM.

In de voorgaande bladzijden kon worden aangetoond, dat de bacil zich zeer lang in de milt kan handhaven. Zelfs onder verschillende omstandigheden is dit het geval. Op grond hiervan zou men kunnen gaan veronderstellen, dat de bacil ergens in het lichaam van de milt intracellulair moet zijn opgeborgen. Alleen uit het microscopisch onderzoek zouden hieromtrent eenige conclusies kunnen en mogen getrokken worden.

Getracht werd deze kwestie nader te onderzoeken. Daartoe werden er van de mijten seriecoupes gemaakt en wel van mijten:

direct na opname van de bacillen,

12 uur " " " " "

24 " " " " "

36 " " " " "

48 " " " " "

enz., zoo doorgaande tot en met 7 dagen.

Vervolgens werden er nog seriecoupes gemaakt van mijten:

8 dagen na opname van de bacillen,

10 " " " " "

12 " " " " "

14 " " " " " en

1 maand " " " " "

Deze coupes (5 micron dik) werden volgens Giemsa gekleurd en daarna microscopisch onderzocht.

In de coupes, gemaakt van mijten *direct na opname van de bacillen*, zijn de bacillen spaarzaam te vinden. Het geheele lichaam van de milt wordt direct na de voedselopname geheel door de sterk gevulde darm ingenomen; de coupes geven dan den indruk alsof zij uitsluitend van den darm zijn genomen. Temidden der vele, opeengepakte, blauwgekleurde kernen der roode bloedlichaampjes zijn hier en daar de goed bipolair gekleurde vogelcholerabacillen spaarzaam te vinden.

12 uur na de opname van de bacillen geven de coupes globaal denzelfden indruk als boven beschreven. Het verteringsproces is zichtbaar nog niet ingetreden. Wordt er op de bacillen gelet, dan krijgt men een geheel ander beeld te zien als boven beschreven. Binnen de verlopen 12 uren heeft er een zeer sterke vermeerdering plaats gevonden. Overal temidden van de bloedlichaampjes liggen hoopjes bacillen, den indruk gevende alsof elke oorspronkelijk daargelegen bacil zich sterk heeft vermeerderd. Hier en daar liggen de bacillen meer verspreid. Vooral langs de wanden van den darm zijn vele bacillen gelegen. In het gezichtsveld zijn er dan gedeelten, waar de bacillen als het ware in een laag tegen de wanden aanliggen. De grootte en kleurbaarheid van den bacil is veranderd. De bacillen zijn veel kleiner en de bipolaire kleuring

valt minder goed waar te nemen; veelal valt de bipolariteit niet te constateeren. De bacillen hebben een cultuurvorm gekregen en gelijken op de bacillen, van een agarcultuur afkomstig (zie afbeelding).

24 uur na de opname van de bacillen treden er de eerste veranderingen als gevolg van het voortschrijdend verteringsproces op. Het voedsel wordt vanaf de peripherie verteerd, terwijl het centraal gedeelte z'n oorspronkelijk beeld blijft behouden. De bacillen komen in grootere hoeveelheden langs de wanden voor, hier en daar zelfs in afgeronde kompakte massa's. In het centraal gedeelte, temidden van de nog intacte roode bloedlichaampjes, komen de bacillen nu meer verspreid te liggen.

36 uur na opname van de bacillen is de toestand, vergeleken bij het voorgaande, weinig veranderd. De bacillen komen steeds meer in kompakte massa's langs de wanden voor.

Naarmate de tijd, vanaf het moment van bacillenopname, grooter wordt en dus de vertering steeds meer in een verder stadium is gekomen, naar die mate wordt de kleurbaarheid van de bacillen in het weefsel van het darmkanaal ook minder. Ook zijn er niet meer zulke goede coupes te verkrijgen; vele verscheuringen treden er dan in het weefsel op, waardoor het overzicht in sterke mate wordt bemoeilijkt. De bacillen gaan in aantal achteruit en komen tenslotte in één hoop in het centraal gedeelte van den darm te liggen, wanneer de vertering tenminste zoover is voortgeschreden, dat er van afzonderlijke intacte bloedlichaampjes geen sprake meer is.

Een intracellulaire ligging van de bacillen kon niet met zekerheid worden aangetoond. Wel werd meerdere malen de indruk van een intracellulaire ligging verkregen, doch de coupes waren dan steeds door weefselverscheuringen minder goed betrouwbaar. Ook werden er wel bacillen tusschen de darmcellen in aangetroffen, maar dan uitsluitend tusschen cellen, welke het verst in het darmlumen waren ingedrongen. Meerdere malen gaven hoopjes bacillen den indruk door een cel ingesloten te zijn. Deze hoopjes grensden steeds aan het darmlumen of staken hierin uit. Een celwand om deze bacillen heen kon echter niet aangetoond worden. Dergelijke opeenhoopingen van bacillen werden alleen gevonden in coupes van mijten, waarbij de vertering nog niet was beëindigd. In coupes van mijten, waarbij dit wel het geval was, werden geen bacillen meer in het darmlumen aangetroffen, zoo ook niet in of tusschen de darmcellen. Wel werden in de coupes van dergelijke mijten bacillen gevonden, welke waarschijnlijk in de malpighische vaten lagen. Hoofdzakelijk waren dit dan groote coccen.

Microscopisch zijn de bacillen dus spoedig uit de mijt verdwenen. Nadat het voedsel verteerd is, wordt de toestand voor de aanwezige bacillen ongunstiger. Vele bacillen zullen vernietigd

worden, doch enkele moeten achterblijven en blijven als het ware in de milt hangen, daar door dierenting, zooals we boven gezien hebben, de zeer lange aanwezigheid van den bacil in de milt kon worden aangetoond.

Conclusies.

Uit het microscopisch onderzoek der geïnfecteerde mijten kunnen de volgende conclusies getrokken worden:

1. Er treedt een zeer sterke vermeerdering van de bacillen in het darmkanaal van de mijten op. Hoofdzakelijk vindt deze vermeerdering binnen de eerste 12 uren plaats. De bacillen ondergaan hierdoor, wat vorm en grootte betreft, een verandering.

2. De bacillen worden niet intracellulair opgenomen. Na de vertering van het bloed blijven de bacillen in één massa in het darmlumen achter, om daarna, voor zoover dat microscopisch kon worden nagegaan, ook uit het darmlumen te verdwijnen. Na dien tijd zijn de bacillen niet meer aantoonbaar.

3. Het eerder of later verdwijnen van de bacillen uit het darmkanaal is voor een groot deel afhankelijk van het verteringsproces. Bij de eene milt is de vertering veel sneller voltrokken dan bij de andere. Hierin bestaan individueele verschillen.

4. De vermeerdering der bacillen in de milt moet als een soort „pseudocultuur” worden opgevat en niet als een echte ontwikkeling. De milt zal daardoor niet als een echte tusschengastheer, maar meer als een langdurige drager der bacillen te beschouwen zijn.

D. INFECTIE-PROEVEN.

1. INFECTIEPROEVEN PER OS.

Bij de volgende infectieproeven werden de geïnfecteerde mijten per os toegediend. Dit geschiedde deels in geëmulgeerden, deels in onbeschadigden levenden toestand, terwijl hierbij nog gedeeltelijk scherp werd nagegeven. Deze wijze van toediening had ten doel om na te gaan, welke factoren invloed op het aanslaan der infectie zouden kunnen uitoefenen en om de natuur zooveel mogelijk na te bootsen.

Worden de mijten n.l. door de kippen opgenomen, dan zullen zij ten deele worden beschadigd, waardoor de aanwezige bacillen vrij komen. Bij het eventueel aanwezig zijn van verwondingen zal het dier dan des te gemakkelijker kunnen worden geïnfecteerd. Bovendien zullen de vrijgekomen bacillen de magen eerder kunnen passeeren.

Dat de kippen vele mijten beschadigen bij het opnemen, bewezen wel de bebloede snavels, welke steeds die dieren vertoonden, die voor het zuigen in de kwekerij benut werden.

Ook het betrekkelijk groot aantal huidjes in de krop bij sectie van deze kippen wezen in deze richting, hoewel dit bewijs onder voorbehoud mag gelden, daar de dieren in de kwekerij steeds in de gelegenheid waren om huidjes van de in de kwekerij vervelde nymphen op te nemen.

Ook het geven van scherp na de experimenteele infectie per os had zijn reden. Vele kippenhouders geven hun dieren n.l. de gelegenheid om naar wensch en behoefte scherp (kalk) op te nemen, hetzij als gebroken schelpen, hetzij in anderen vorm. Het is denkbaar dat het slijmvlies van maagdarmltractus hierdoor gelaedeerd kan worden, waardoor een porte d'entrée voor de infectie kan gevormd worden.

Daar de dieren, welke voor de onderstaande experimenten werden gebezigd, in kleine kooien werden gehouden en dus geen gelegenheid kregen om naar behoefte scherp op te nemen, werd hun dit per os, experimenteel toegediend en wel direct na het ingeven der geïnfecteerde mijten.

Door het enkel en alleen toedienen van geïnfecteerde mijten,

zonder scherp en niet geëmulgeerd, konden de resultaten nagegaan worden zonder uitwendige bijkomstigheden.

In het experiment kan men moeilijk de natuur in al zijn nuances nabootsen. In de natuur zullen al de drie bovenstaand beschreven mogelijkheden van infectie gedeeltelijk plaats kunnen vinden. Hier zoekt de kip de mijten tusschen de veeren, waar ze haar irriteren of pikt ze van den wand en zitstokken in de hokken af, bij welke manipulatie de mijten òf gelaedeerd òf in zijn geheel, zonder beschadiging, worden opgenomen. Tevens komt de kip in de gelegenheid naar keuze al of geen scherp, in welken vorm ook, op te nemen.

Voor de infectieproeven per os zijn totaal 25 experimenten genomen met een totale hoeveelheid van 34000 geïnfecteerde mijten.

Het bleek voor een duidelijk overzicht wenschelijk deze experimenten in 8 series te verdeelen, gegroepeerd naar den duur van het interval, zijnde den tijd vanaf tijdstip van opname der bacillen door de mijt (infectie der mijt), tot moment van toediening dezer geïnfecteerde mijten bij het proefdier, zonder rekening te houden met wijze van toediening.

Dit interval varieerde tusschen $1\frac{1}{2}$ dag en 35 dagen en wel voor serie I, $1\frac{1}{2}$ dag; serie II, $3\frac{1}{2}$ dag; serie III, 5 dagen; serie IV, 10 dagen; serie V, 15 dagen; serie VI, 20 dagen; serie VII, 30 dagen; en voor serie VIII, 35 dagen.

Het aantal proeven en mijten dat voor elke serie gebruikt werd, is als volgt:

Serie I	na	$1\frac{1}{2}$ dag	4	proeven	met	totaal	6300	mijten
" II	"	$3\frac{1}{2}$	" 2	"	"	"	3200	"
" III	"	5 dagen	3	"	"	"	3500	"
" IV	"	10	" 2	"	"	"	4000	"
" V	"	15	" 1	proef	"	"	500	"
" VI	"	20	" 6	proeven	"	"	7500	"
" VII	"	30	" 6	"	"	"	7500	"
" VIII	"	35	" 1	proef	"	"	1500	"

Al deze experimenten werden bij kippen verricht, uitgenomen die, welke onder serie VI genoemd staan; hiertoe dienden duiven.

Dat voor de proeven in de verschillende groepen en in elk experiment afzonderlijk een verschillend aantal mijten gebezigd werd, had ten doel om na te gaan hoeveel van deze benoodigd zouden zijn om een infectie op te wekken.

VOEDERPROEVEN MET MIJTEN, $1\frac{1}{2}$ DAG NA DE BACILLENOPNAME.

EERSTE SERIE EXPERIMENTEN.

Deze serie bevat 4 experimenten, alle met mijten welke $1\frac{1}{2}$

dag te voren (36 uur) op een positieve choleraduif hadden gezogen.

Experiment 1. (XVII.)

De eerste experimenten zijn met weinig materiaal ingesteld, om geleidelijk tot grootere hoeveelheden over te gaan.

Een nieuwe vermeerderde hoeveelheid mijten werd slechts dan gegeven, wanneer voldoende bleek, dat de infectie niet tot stand was gekomen, en de kip zich dus gezond voordeed. Ditzelfde geldt ook voor de volgende experimenten.

Er werd een totale hoeveelheid van 3000 mijten gegeven. (Zie Tabel 6.)

TABEL VI.

Experiment 1. (XVII.) Proefdier: Kip 316.

6-7-'29	25 mijten	(groep III)	In gekookt bloed.
20-7-'29	50 "	(" VIII)	" " "
31-7-'29	100 "	(" IX)	In brood. "
3-8-'29	200 "	(" X)	" " "
7-8-'29	400 "	(" XI)	Met slokdarmsonde.
11-8-'29	725 "	(" XII)	In brood.
14-8-'29	500 "	(" XIII)	" "
18-8-'29	500 "	(" XIV)	" "
21-8-'29	500 "	(" XV)	" "

28-8-'29 Kip 316 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os met 3000 mijten, $1\frac{1}{2} \times 24$ uur na de bacillenopname, zonder toediening van scherp.

Er trad echter geen infectie op, hoewel het aantal geïnfekteerde mijten voor dit experiment gebezigd, zeer groot genoemd mag worden.

Experiment 2. (XVIII.)

Dit experiment begint met een dosis van 50 geïnfekteerde mijten, om daarna op te klimmen tot 200. Enkele dagen na deze laatste gift traden er verschijnselen van infectie op. (Zie Tabel 7.)

TABEL VII.

Experiment 2. (XVIII.) Proefdier: Kip 335.

20-7-'29	50 mijten	(groep VIII)	In gekookt bloed; scherp na.
30-7-'29	100 "	(" IX)	" " " "
3-8-'29	200 "	(" X)	In brood. " " "

8-8-'29 Kip 335 gestorven. *Positief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os met totaal 350 mijten, $1\frac{1}{2} \times 24$ uur na de bacillenopname, met toediening van scherp.

In den avond van 5 Augustus gaf de kip voor het eerst een zieken indruk. Den 7den Augustus leefde het dier nog. Rekening houdend met de mogelijkheid dat het dier zich weer zou kunnen herstellen, werden er zekerheidshalve op 7 Augustus tegen 3 uur p.m. 2 agarculturen uit het bloed aangelegd. Beide culturen vertoonden na 24 uur bij 37° C. een geringen groei. Den 8 Aug. werd de kip 's morgens dood in het hok aangetroffen, d.i. dus bijna 5 dagen na de laatste toediening van 200 mijten.

Sectie: (Bij de sectie werd vooral gelet op veranderingen in maag- en darmkanaal.)

Krop en mager: geen afwijkingen.

Darm: haemorrhagisch ontstoken, vooral in het voorste gedeelte.

Bloeduitstrijkje uit het hart: *positief*.

2 agarculturen uit het hart: Rein culturen van bipolaire bacillen.

Het wil niet zeggen dat de infectie uitsluitend van de laatste toediening is uitgegaan. Het is best mogelijk, dat de bacillen van de voorlaatste gift de infectie van het dier hebben veroorzaakt.

Dit experiment laat ons zien de mogelijkheid van het optreden van een infectie door toediening van totaal 350 mijten (1½ dag na de bacillenopname).

Experiment 3. (XIX.)

Dit experiment werd opgezet als het vorige. Ook hier toediening van scherp na het verstrekken van de mijten. Hier is de aanvangsdosis veel grooter genomen dan bij de voorgaande proef. (Zie Tabel 8.)

TABEL VIII.

Experiment 3. (XIX.) Proefdier: Kip 342.

7-8-'29	400 mijten	(groep XI)	In brood; scherp na.
11-8-'29	500 "	(" XII)	" " " "
14-8-'29	600 "	(" XIII)	" " " "
18-8-'29	500 "	(" XIV)	" " " "
21-8-'29	500 "	(" XV)	" " " "

28-8-'29 Kip 342 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os, met totaal 2500 mijten, 1½ × 24 uur na de bacillenopname, met toediening van scherp.

In dit experiment trad er geen infectie op, hoewel het in wezen dezelfde proef is als het exp. 2. In dit exp. 3 werd er zelfs meer materiaal aangewend. Het verschil in uitkomst kan niet liggen aan uitwendige omstandigheden, als verschil in hoeveelheid en

aard van het genomen scherp — dit was hetzelfde als bij het voorgaand experiment gebruikt —, noch aan de mijten, daar alleen volgezogen mijten voor de experimenten zijn gebruikt en we redelijkerwijs mogen aannemen dat elke mijt bij benadering gelijke hoeveelheden bacillen bevat.

Waaraan dit verschil in uitkomst wel is te wijten, is natuurlijk moeilijk te zeggen.

Experiment 4. (XX.)

In dit experiment werden de aangewende mijten in geëmulgeerden toestand verstrekt. Het emulgeeren geschiedde in enkele c.c. bouillon en de emulsie werd met behulp van een slokdarm-sonde en een recordspuut bij het proefdier toegediend.

Aanvangsdosis bedroeg 100 geïnfecteerde mijten in 5 c.c. bouillon verwreven. Direct na het emulgeeren werd deze emulsie bij het proefdier ingegeven, zoodat er van een cultuurgroei geen sprake kon zijn.

Slechts twee doseeringen hadden plaats, daar na de tweede gift verschijnselen van infectie optraden. (Zie Tabel 9.)

TABEL IX.

Experiment 4. (XX.) Proefdier: Kip 340.

31-7-'29	100 mijten	(groep IX)	Als emulsie.
3-8-'29	200 „	(„ X)	„ „

5-8-'29 Kip 340 gestorven. *Positief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os met totaal 300 mijten, $1\frac{1}{2} \times 24$ uur na de bacillenopname, als emulsie in bouillon met behulp van slokdarmsonde toegediend.

Met een totale hoeveelheid van slechts 300 mijten gaat het proefdier 2 dagen na de laatste toediening aan vogelcholera ten gronde. Werd den derden Aug., tegen 11 uur a.m., de laatste dosis verstrekt, den 5 Aug. goed twaalf uur des middags, d.i. twee maal 24 uur na de laatste toediening, is de kip gestorven.

Sectie: Zelfde uitkomst als bij exp. 2 (blz. 75).

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

Een terugblik slaand op de voorgaande 4 beschreven experimenten, dan zien we het volgende:

exp. 1 met een totale dosis van 3000 mijten, zonder toediening van scherp, verloopt negatief;

exp. 2 met een totale dosis van 350 mijten, met toediening van scherp, geeft een infectie met doodelijken afloop;

exp. 3 met een totale dosis van 2500 mijten, eveneens met toediening van scherp, geeft, in tegenstelling met exp. 2, niet het gewenschte positieve resultaat; en

exp. 4 met een totale dosis van 300 mijten, welke in geëmulgeerden toestand werden verstrekt, doet weer, evenals bij exp. 2, het proefdier aan de opgetreden infectie ten gronde gaan.

Het is dus mogelijk om vogelcholera per os na toediening van mijten, welke zich $1\frac{1}{2} \times 24$ uur te voren hebben geïnfecteerd, over te brengen.

Van de vier geven dus twee experimenten een positief resultaat. Daar voor de vier infectieproeven tezamen 6300 geïnfecteerde mijten werden gebezigd, kunnen we het gemiddeld aantal mijten, noodig voor het optreden der infectie op ± 3000 stuks stellen. Het is echter een theoretisch getal, opgemaakt uit een gering aantal experimenten ten opzichte van veel materiaal.

Het is moeilijk aan te geven om welke redenen het exp. 1 negatief is verlopen. Denkelijk is het individueel weerstandsvermogen bij dit proefdier betrekkelijk groot geweest, afgezien van de grilligheid die er steeds bestaat bij het opwekken der infectie per os. Tevens moet er rekening gehouden worden met de mogelijkheid van optredende immuniteit, daar hier een opklimming van weinig tot grooter massa geïnfecteerd materiaal plaats vindt binnen een tijdsverloop van $1\frac{1}{2}$ maand.

Waarom het exp. 2, in vergelijking tot exp. 3, positief verliep, valt ook moeilijk te zeggen. Met waarschijnlijkheid mogen we aannemen dat toediening van scherp wel invloed uitgeoefend heeft op het aanslaan der infectie, hoewel hiernaast veel andere onbekende factoren, zooals bij alle infectieproeven per os, een rol zullen gespeeld hebben. Hetzelfde kan ook gezegd worden van het exp. 4. Ook hier is naar alle waarschijnlijkheid het optreden der infectie met betrekkelijk weinig materiaal te wijten aan het geven der mijten in geëmulgeerden toestand. Hoe het ook zij, de hoofdzaak is dat er mogelijkheid bestaat voor het optreden der infectie bij het dier, door het opnemen per os van 300 à 350 geïnfecteerde mijten.

Afgezien van de inwerkende factoren kunnen we zeggen dat de kippen door het opnemen van mijten, welke zich $1\frac{1}{2} \times 24$ uur te voren hebben geïnfecteerd, zich doodelijk kunnen infecteeren. Tevens merken we op, dat het aantal op te nemen geïnfecteerde mijten, benodigd voor een doodelijke infectie, niet eens groot behoeft te zijn, als we weten dat een kip spontaan 500 à 1000 mijten kan opnemen, wat eigen onderzoekingen aan het licht hebben gebracht (zie blz. 90), en dat dit getal heel wat grooter is dan het minimum aantal dat positief resultaat heeft gegeven. Zoo'n aantal zal in de natuur in hokken met veel mijten herhaaldelijk kunnen worden opgenomen.

VOEDERPROEVEN MET MIJTEN, 3½ DAG NA DE BACILLENOPNAME.

TWEEDE SERIE EXPERIMENTEN.

Deze serie bevat 2 experimenten met totaal 3200 mijten ver-
richt, welke 3½ dag tevoren op een positieve choleraduif hadden
gezozen. Een overzicht over deze proeven geven de tabellen 10
en 11.

TABEL X.

Experiment 5. (XXI.) Proefdier: Kip 317.

8-7-'29	50 mijten	(groep III)	In gekookt bloed; scherp na.
22-7-'29	100 "	(" VIII)	" " " "
2-8-'29	200 "	(" IX)	In brood; scherp na. " "
5-8-'29	400 "	(" X)	" " " "
9-8-'29	750 "	(" XI)	" " " "
16-8-'29	500 "	(" XIII)	" " " "
20-8-'29	500 "	(" XIV)	" " " "
23-8-'29	500 "	(" XV)	" " " "

30-8-'29 Kip 317 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os met totaal 3000 mijten,
3½ dag na de bacillenopname, met toediening van scherp.

TABEL XI.

Experiment 6. (XXIV.) Proefdier: Kip 341.

5-8-'29 200 mijten (groep X) Als emulsie.

7-8-'29 Kip 341 gestorven. *Positief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip met 200 mijten, 3½ dag na de
bacillenopname, als emulsie in bouillon met behulp van een slokdarm-
sonde per os toegediend.

Direct na het emulgeeren der 200 mijten in enkele c.c. bouillon werd deze
emulsie bij kip 341 met behulp van een slokdarmsonde per os toegediend.
Twee dagen na deze toediening stierf het dier zonder vooraf eenige ziekte-
verschijnselen te hebben vertoond. (Zie tabel 11.)

Sectie; Zelfde uitkomst als bij het exp. 2. (Blz. 75.)

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

We zien uit deze tabellen, dat:

exp. 5 met een totale dosis van 3000 geïnfecteerde mijten en
met toediening van scherp negatief verloopt;

exp. 6 met een totale dosis van 200 geïnfecteerde mijten welke

in geëmulgeerden toestand werden toegediend, een positieven uitslag geeft.

Het is dus mogelijk om met mijten, welke zich 3½ dag tevoren hebben geïnfecteerd, volgelcholera per os op te wekken.

Exp. 5 is in wezen hetzelfde experiment als de experimenten 2 en 3. De gebezigde geïnfecteerde mijten zijn echter 2 dagen later aangewend. Waaraan het niet aanslaan der infectie in exp. 5 is te wijten, valt moeilijk te zeggen. Denkelijk moet dit geweten worden aan factoren welke onder exp. 3 nader werden besproken, en dus minder aan de mogelijke achteruitgang van de virulentie der bacillen. Infectieproeven per os zijn nu eenmaal van vele factoren afhankelijk, welke we niet kennen en niet bij machte zijn te regelen.

In exp. 6 werd een mooier resultaat verkregen dan in exp. 4 van de vorige serie, waarbij de bacillen eveneens als emulsie in bouillon werden toegediend.

Als emulsie zullen de bacillen de magen eerder kunnen passeeren, dan wanneer de mijten in onbeschadigden toestand worden verstrekt. (Zie sectie kip 464, blz. 90.)

Het feit ligt hier voor ons, dat er met 200 mijten, welke zich 3½ dag tevoren hebben geïnfecteerd, een infectie per os bij het proefdier is op te wekken.

VOEDERPROEVEN MET MIJTEN, 5 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

DERDE SERIE EXPERIMENTEN.

Deze serie bevat 2 experimenten, met totaal 3500 mijten. De geïnfecteerde mijten, welke voor deze experimenten werden gebezigd, hadden 5 dagen tevoren op een choleraduif gezogen. Een overzicht over deze proeven geven de tabellen 12 en 13.

TABEL XII.

Experiment 7. (XXV.) Proefdier: Kip 351.

10-8-'29	500 mijten	(groep XI)	In brood; scherp na.
14-8-'29	500 "	(" XII)	" " " "
17-8-'29	500 "	(" XIII)	" " " "
21-8-'29	500 "	(" XIX)	" " " "
24-8-'29	500 "	(" XV)	" " " "

30-8-'29 Kip 351 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os met totaal 2500 mijten, 5 dagen na de bacillenopname, met toediening van scherp.

TABEL XIII.

Experiment 8. (XXXI.) Proefdier: Kip 413.

4-9-'29	500 mijten	(groep XVI)	Als emulsie.
8-9-'29	500 "	(" XVII)	" "

16-9-'29 Kip 313 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os, met totaal 1000 mijten, 5 dagen na de bacillenopname, als emulsie in bouillon met behulp van een slokdarmsonde toegediend.

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

We zien uit deze tabellen, dat:

exp. 7 met totaal 2500 geïnfecteerde mijten, 5 dagen na de opname van de bacillen met toediening van scherp, geen infectie geeft;

exp. 8 met totaal 1000 geïnfecteerde mijten, in geëmulgeerden toestand verstrekt, eveneens negatief verloopt.

We hebben dus met mijten, welke zich 5 dagen tevoren hadden geïnfecteerd, geen infectie kunnen verkrijgen.

Van het exp. 7 kan hetzelfde als van het exp. 5 gezegd worden.

Hoewel de mijten in exp. 8 in geëmulgeerden toestand werden toegediend, trad er toch geen infectie op, in tegenstelling met de vorige experimenten, waarbij de mijten eveneens werden geëmulgeerd.

Aan de vermindering der virulentie kan het niet aanslaan der infectie niet gelegen hebben; de virulentie is n.l. na een 5 dagen lang verblijf van den bacil in de milt niet noemenswaard achteruit gegaan. Ook zal het aantal aanwezige bacillen nog niet vermindert zijn, daar de bacillen pas na ongeveer 5 dagen in de excrementen optreden.

VOEDERPROEVEN MET MIJTEN, 10 DAGEN
NA DE BACILLENOPNAME.

VIERDE SERIE EXPERIMENTEN.

Deze serie bevat 2 experimenten met totaal 4000 mijten. De gebezigde geïnfecteerde mijten hebben 10 dagen tevoren op een choleraduif gezogen. Een overzicht over deze proeven geven de tabellen 14 en 15.

TABEL XIV.

Experiment 9. (XXIX.) Proefdier: Kip 383.

15-8-'29	500 mijten	(groep XI)	In brood.
19-8-'29	500 "	(" XII)	" "
22-8-'29	500 "	(" XIII)	" "
26-8-'29	500 "	(" XIV)	" "

3-9-'29 Kip 383 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os met totaal 2000 mijten, 10 dagen na de bacillenopname, zonder toediening van scherp.

TABEL XV.

Experiment 10. (XLVII.) Proefdier: Kip 424.

9-9-'29	500 mijten	(groep XVI)	In brood.
13-9-'29	500 "	(" XVII)	" "
16-9-'29	1000 "	(" XIX)	" "

18-9-'29 Kip 424 gestorven. *Positief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os, met totaal 1000 mijten, 10 dagen na de bacillenopname, als emulsie in bouillon met behulp van slokdarmsonde toegediend.

Twee dagen (45 uur) na de laatste gift van 1000 mijten stierf het proefdier aan vogelcholera. (Zie Tabel 15.)

Sectie: Zelfde bevindingen als bij exp. 2. (Blz. 75.)

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

We zien uit deze tabellen, dat:

exp. 9 met totaal 2000 geïnfecteerde mijten, zonder toediening van scherp, geen infectie geeft;

exp. 10 met een totale hoeveelheid geïnfecteerde mijten van 2000 stuks, in geëmulgeerden toestand verstrekt, positief verloopt.

De mogelijkheid bestaat, dat er met mijten, welke 10 dagen tevoren zich op een choleradier hebben geïnfecteerd, een infectie kan ontstaan.

Het veroorzaken van een infectie met onbeschadigde mijten schijnt zeer bezwaarlijk te gaan. In geëmulgeerden toestand gelukt het herhaaldelijk, zelfs na een interval van 10 dagen. Al kunnen we experimenteel met onbeschadigde mijten moeilijk een infectie doen optreden, het aanslaan der infectie na toediening van geëmulgeerde mijten bewijst toch voldoende dat de mijten zeer veel virulente bacillen moeten bevatten, en dat we het gevaar dat er van dergelijke mijten kan uitgaan, niet gering moeten achten.

Het aanslaan der infectie in het exp. 10 zal op grond van de pathologisch-anatomische veranderingen in het maagdarmkanaal wel hoofdzakelijk van de laatste gift (1000 mijten) zijn uitgegaan.

Een dergelijke acute haemorrhagische ontsteking van den darm, als hier werd aangetroffen, kan niet dagenlang hebben bestaan, zonder eenige ziekteverschijnselen te hebben gegeven. Het proefdier gaf slechts één dag voor zijn dood een zieken indruk. Ook de ervaringen bij het experiment 6, waar het proefdier 2 dagen na een eenmalige gift van slechts 200 geïnfecteerde mijten aan vogelcholera stierf en waarbij ook dezelfde pathologisch-anatomische veranderingen, hoewel in minder hevige mate, werden aangetroffen, rechtvaardigt het vermoeden, dat in dit experiment 10 de infectie van de laatste gift van 1000 mijten moet zijn uitgegaan.

De mijten, welke 10 dagen tevoren cholerabacillen hebben opgenomen, kunnen dus wel terdege een gevaar voor de verspreiding van vogelcholera opleveren.

VOEDERPROEVEN MET MIJTEN, 15 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

VIJFDE SERIE EXPERIMENTEN.

Slechts één experiment werd met mijten genomen, welke 15 dagen tevoren zich hadden geïnfecteerd. Het was n.l. de bedoeling om na 20 en 30 dagen een grooter aantal experimenten te verrichten, waarvoor dus veel geïnfecteerd materiaal ter beschikking moest blijven. Een overzicht over deze proef geeft tabel 16.

TABEL XVI.

Experiment 11. (XXXIV.) Proefdier: Kip 312.

27-8-'29 500 mijten (groep XIII) In brood.

4-9-'29 Kip 312 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os met 500 mijten, 15 dagen na de bacillenopname, zonder toediening van scherp.

Nadere bespreking en beoordeeling van dit experiment is overbodig.

VOEDERPROEVEN MET MIJTEN, 20 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

ZESDE SERIE EXPERIMENTEN.

In deze en in de volgende serie zijn het grootst aantal experi-

menten verricht. Het is toch van belang te weten na hoeveel dagen de eens geïnfecteerde mijten nog een gevaar voor het ontstaan van een infectie per os kunnen opleveren. Derhalve werden er met mijten, 20 en 30 dagen na de opname van de bacillen, een betrekkelijk groot aantal experimenten verricht.

Deze serie bevat 6 experimenten, alle met duiven genomen. Deze 6 experimenten kunnen weer naar het aantal aangewende mijten, als wel naar de wijze van toediening worden onderverdeeld. Zoo zijn er twee experimenten genomen, waarbij geen scherp werd toegediend; twee experimenten waarbij wel scherp werd gegeven en twee experimenten, waarbij de mijten in geëmulgeerden toestand werden ingegeven.

Het eene experiment in elk van deze groepen van twee experimenten werd genomen met totaal 1000 mijten en het andere met een totale hoeveelheid van 1500 exemplaren.

Een overzicht over deze proeven geven de tabellen 17 t/m. 22.

EXPERIMENTEN, ZONDER TOEDIENING VAN SCHERP.

(Zie tabellen 17 en 18.)

TABEL XVII.

Experiment 12. (XLVI.) Proefdier: Duif 954.

8-9-'29	500 mijten	(groep XV)	In brood.
19-9-'29	500 "	(" XVI)	" "

27-9-'29 Duif 954 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een duif per os, met totaal 1000 mijten 20 dagen na de bacillenopname, zonder toediening van scherp.

TABEL XVIII.

Experiment 13. (LXIX.) Proefdier: Duif 144.

8-9-'29	500 mijten	(groep XV)	In brood.
3-10-'29	1000 "	(" XXI)	" "

12-10-'29 Duif 144 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een duif per os, met totaal 1500 mijten, 20 dagen na de bacillenopname, zonder toediening van scherp.

EXPERIMENTEN, WAARBIJ SCHERP WERD TOEGEDIEND.

(Zie tabellen 19 en 20.)

TABEL XIX.

Experiment 14. (XLII.) Proefdier: Duif 89.

5-9-'29	500 mijten	(groep XIV)	In brood; scherp na.
8-9-'29	500 "	(" XV)	" " " "

15-9-'29 Duif 89 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een duif per os met totaal 1000 mijten,
20 dagen na de bacillenopname, met toediening van scherp.

TABEL XX.

Experiment 15. (LXVII.) Proefdier: Duif 142.

26-9-'29	500 mijten	(groep XIX)	In brood; scherp na.
3-10-'29	1000 "	(" XXI)	" " " "

12-10-'29 Duif 142 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie per os van een duif met totaal 1500 mijten.
20 dagen na de bacillenopname, met toediening van scherp.

EXPERIMENTEN MET MIJTEN, WELKE IN GEEMULGEERDEN
TOESTAND WERDEN VERSTREKT.

(Zie tabellen 21 en 22.)

TABEL XXI.

Experiment 16. (XXXVIII.) Proefdier: Duif 88.

1-9-'29	500 mijten	(groep XIII)	Als emulsie.
8-9-'29	500 "	(" XV)	" "

15-9-'29 Duif 88 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een duif per os, met totaal 1000 mijten,
20 dagen na de bacillenopname als emulsie in bouillon met behulp van
een slokdarmsonde toegediend.

TABEL XXII.

Experiment 17. (LXVIII.) Proefdier: Duif 143.

26-9-'29	500 mijten	(groep XIX)	Als emulsie.
3-10-'29	1000 "	(" XXI)	" "

12-10-'29 Duif 143 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een duif per os met totaal 1500 mijten,
20 dagen na de bacillenopname, als emulsie in bouillon met behulp van
een slokdarmsonde toegediend.

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

Uit de bovenstaande tabellen zien we, dat:

exp. 12 met een totale hoeveelheid van 1000 mijten en zonder toediening van scherp, negatief verloopt;

exp. 13 met een totale hoeveelheid van 1500 mijten ook zonder toediening van scherp, eveneens negatief verloopt;

exp. 14 met een totale hoeveelheid van 1000 mijten en waarbij scherp werd toegediend, geen resultaat geeft;

exp. 15 met een totale hoeveelheid van 1500 mijten eveneens met toediening van scherp, evenmin resultaat geeft;

exp. 16 met een totale hoeveelheid van 1000 mijten, welke als emulsie in bouillon werden toegediend, geen infectie geeft;

exp. 17 met een totale hoeveelheid van 1500 mijten, welke eveneens als emulsie in bouillon aan het proefdier werden toegediend, ook geen infectie bij het proefdier geeft.

Experimenteel kon er met 7500 mijten, welke 20 dagen tevoren de bacillen hadden opgenomen, geen vogelcholera bij duiven per os worden overgebracht.

Uit deze uitkomsten zou men geneigd zijn te veronderstellen, dat mijten, 20 dagen na de bacillenopname, geen gevaar meer voor de verspreiding van vogelcholera kunnen opleveren, tenminste niet, wanneer de mijten per os worden opgenomen. Men moet echter met het trekken van een conclusie voorzichtig zijn. Zijn er na 30 dagen nog voldoende virulente bacillen in de mijten aanwezig om een infectie per os te kunnen veroorzaken (zie exp. 22, blz. 87), dan zal dezelfde hoeveelheid mijten na 20 dagen zeker nog zooveel virulente bacillen moeten bevatten, om een infectie per os te kunnen geven. Bovendien is de virulentie na een twintig dagen lang verblijf in de mijten nog slechts weinig achteruitgegaan. (Zie Tabel 2.)

De mogelijkheid bestaat echter, dat duiven moeilijker per os zijn te infecteeren dan kippen. Voor het trekken van conclusies uit de voederproeven moeten we steeds voorzichtig zijn. Hierbij spelen steeds factoren een rol, die we niet kunnen kennen.

We mogen niet zeggen dat mijten, 20 dagen na de bacillenopname, geen gevaar meer voor de omgeving opleveren.

VOEDERPROEVEN MET MIJTEN, 30 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

ZEVENDE SERIE EXPERIMENTEN.

Ook deze serie bevat 6 experimenten. De opzet is dezelfde als bij de voorgaande 6, echter zijn hier kippen gebruikt. Ook hier weer 2 experimenten, zonder toediening van scherp; 2 experi-

menten, met scherp als nagift, en 2 experimenten met mijten, welke als emulsie in bouillon werden toegediend.

Elk van deze groep van 2 experimenten bestaat weer uit een experiment, waarbij totaal 1000 mijten werden gebruikt en één, waarbij 1500 exemplaren werden gebezigd.

Een overzicht over de proeven geven de tabellen 23 t/m. 28.

EXPERIMENTEN, ZONDER TOEDIENING VAN SCHERP.

(Zie tabellen 23 en 24.)

TABEL XXIII.

Experiment 18. (LXXX.) Proefdier: Kip 465.

4-10-'29	500 mijten	(groep XVIII)	In brood.
10-10-'29	500 "	(" XX)	" "

21-10-'29 Kip 465 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os met totaal 1000 mijten, 30 dagen na de bacillenopname, zonder toediening van scherp.

TABEL XXIV.

Experiment 19. (LXXIII.) Proefdier: Kip 461.

29-9-'29	500 mijten	(groep XVI)	In brood.
4-10-'29	1000 "	(" XVIII)	" "

12-10-'29 Kip 461 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os met totaal 1500 mijten, 30 dagen na de bacillenopname, zonder toediening van scherp.

EXPERIMENTEN, MET TOEDIENING VAN SCHERP.

(Zie tabellen 25 en 26.)

TABEL XXV.

Experiment 20. (XLIX.) Proefdier: Kip 423.

11-9-'29	500 mijten	(groep XIII)	In brood; scherp na.
19-10-'29	500 "	(" XX)	" " " "

17-10-'29 Kip 423 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os met totaal 1000 mijten, 30 dagen na de bacillenopname, met toediening van scherp.

TABEL XXVI.

Experiment 21. (LXXIV.) Proefdier: Kip 463.

29-9-'29	500 mijten	(groep XVI)	In brood; scherp na.
10-10-'29	1000 "	(" XX)	" " " "

17-10-'29 Kip 463 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os, met totaal 1500 mijten, 30 dagen na de bacillenopname, met toediening van scherp.

EXPERIMENTEN MET MIJTEN, WELKE IN GEËMULGEERDEN
TOESTAND WERDEN VERSTREKT.

(Zie tabellen 27 en 28.)

TABEL XXVII.

Experiment 22. (XCV.) Proefdier: Kip 462.

17-10-'29	500 mijten	(groep XXII)	Als emulsie.
24-10-'29	500 "	(" XXIII)	" "

26-10-'29 Kip 462 gestorven. *Positief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os met totaal 1000 mijten, 30 dagen na de bacillenopname, als emulsie in bouillon, met behulp van een slokdarmsonde toegediend.

De 1000 mijten werden als emulsie in bouillon (direct na het emulgeeren) in twee gedeelten, elk van 500 stuks, aan het proefdier toegediend.

2 dagen na de laatste gift stierf kip 462 aan vogelcholera.

Sectie: Zelfde bevindingen als bij exp. 2. (Blz. 75.)

In dit positief verloopend experiment werd de tweede gift zeven dagen na de eerste aan het proefdier toegediend. Binnen de 36 uren na de laatste gift stierf het dier.

De waarschijnlijkheid is wel zeer groot, dat in dit experiment de opgetreden infectie van de laatste gift van 500 geïnficeerde mijten moet zijn uitgegaan. Het dier vertoonde pas kort voor den dood eenige ziekteverschijnselen.

TABEL XXVIII.

Experiment 23. (LXXV.) Proefdier: Kip 464.

29-9-'29	500 mijten	(groep XVI)	Als emulsie.
17-10-'29	1000 "	(" XXII)	" "

24-10-'29 Kip 464 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele infectie van een kip per os, met totaal 1500 mijten, 30 dagen na de bacillenopname, als emulsie in bouillon met behulp van een slokdarmsonde toegediend.

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

Uit de bovenstaande 6 tabellen zien we dat:

exp. 18 met totaal 1000 mijten, zonder toediening van scherp geen infectie geeft;

exp. 19 met totaal 1500 mijten, zonder toediening van scherp eveneens negatief verloopt;

in exp. 20 met totaal 1000 mijten, met toediening van scherp, er geen infectie is opgetreden;

in exp. 21 met totaal 1500 geïnfecteerde mijten, met toediening van scherp, er ook geen infectie is verkregen;

exp. 22 met een totale hoeveelheid van 1000 mijten, welke als emulsie in bouillon werden toegediend *positief* verloopt;

exp. 23 met een totale gift van 1500 mijten welke eveneens als emulsie werden toegediend, weer geen infectie bij het proefdier geeft.

Met mijten, welke zich 30 dagen tevoren hadden geïnfecteerd, kon er experimenteel een infectie per os worden opgewekt.

Mocht het zijn, dat het positief verloop in het exp. 22 een uitzondering vormt en dat er bij het aanslaan der infectie factoren hebben medegewerkt, die doorgaans geen rol spelen, het feit echter, dat het gelukt is experimenteel een infectie per os op te wekken met mijten, 30 dagen na de bacillenopname, zegt voldoende om het gevaar, dat dergelijke mijten voor het ontstaan van vogelcholera kunnen opleveren, niet te gering te achten.

Voor het exp. 22 zijn totaal 1000 mijten gebezigd en naar alle waarschijnlijkheid is de infectie van de laatste gift van 500 mijten uitgegaan. Dit getal kan zonder bezwaar door een kip in een sterk besmette stal worden opgenomen.

Het proefdier dat in het exp. 22 werd gebezigd, verschilde, wat ouderdom en gezondheid betreft, voorzoover dat nagegaan kon worden, niet van andere proefdieren.

Het verstrekken van de mijten in geëmulgeerden toestand schijnt wel invloed uit te oefenen op het aanslaan der infectie.

VOEDERPROEVEN MET MIJTEN, 35 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

ACHTSTE SERIE EXPERIMENTEN.

Slechts 1 experiment werd er in deze serie genomen. Er waren nog 1500 mijten in voorraad en deze werden toen voor het exp. 24 aangewend.

Een overzicht over deze proef geeft tabel 29.

TABEL XXIX.

Experiment 24. (LXXXIII.) Proefdier: Kip 483.

11-10-'29	1500 mijten	(groep XIX)	Als emulsie.
-----------	-------------	-------------	--------------

21-10-'29	Kip 483 afgeschreven. <i>Negatief verloop.</i>		
-----------	--	--	--

Experimenteel infectie van een kip per os met 1500 mijten als emulsie in bouillon toegediend.

Met 1500 mijten, 35 dagen na de bacillenopname en als emulsie in bouillon en in één gift aan het proefdier toegediend, was er dus geen infectie bij het dier te verkrijgen.

EINDBEOORDEELING DER INFECTIEPROEVEN PER OS.

Van de 24 infectieproeven per os met totaal 34,000 mijten, welke zich op positieve choleraduiven hadden geïnfecteerd en korteren of langeren tijd na deze bacillenopname voor de infectieproeven werden gebezigd, zijn er 5 experimenten positief verlopen.

Van de 4 experimenten in serie 1 ($1\frac{1}{2}$ dag na de bacillenopname), verlieten er twee positief, n.l. het exp. 2 met een totale hoeveelheid van 350 geïnfecteerde mijten en waarbij scherp werd toegediend en het exp. 4 met een totale hoeveelheid van 300 mijten en waarbij de mijten in geëmulgeerden toestand werden verstrekt.

In het exp. 6 onder serie II ($3\frac{1}{2}$ dag na de bacillenopname) stierf het proefdier aan vogelcholera, na de toediening van 200 geïnfecteerde mijten, die als emulsie in bouillon werden toegediend.

In het exp. 10 onder serie IV (10 dagen na de bacillenopname) ging het proefdier aan de vogelcholera ten gronde na toediening van totaal 2000 geïnfecteerde mijten, welke ook als emulsie in bouillon werden toegediend.

In het exp. 22 onder serie VII (30 dagen na de bacillenopname) trad er een infectie bij het proefdier op na toediening van totaal 1000 geïnfecteerde mijten, welke eveneens als een emulsie in bouillon werden verstrekt.

Vogelcholera kan dus experimenteel worden overgebracht door toediening per os van geïnfecteerde mijten, zelfs nog na een interval van 30 dagen.

Voor de 24 infectieproeven werden er 34,000 mijten aangewend. In slechts 5 experimenten is er een infectie bij het proefdier opgetreden, zoodat het gemiddeld aantal mijten, dat voor het overbrengen van een infectie noodzakelijk is, op ± 7000 moet geschat worden. Er werd echter met een veel geringer aantal mijten een infectie verkregen. Het aanslaan van een infectie per os hangt nu eenmaal van zooveel onbekende factoren af en in het eene geval zal er met een veel minder aantal mijten een infectie optreden dan in het andere geval, dat er eigenlijk geen kansberekening voor het aanslaan van een infectie mag gemaakt worden. In de genomen experimenten kon reeds met enkele honderden geïnfecteerde mijten een infectie per os worden opgewekt. Dit aantal kan zonder eenigen twijfel spontaan door de kippen in hokken waarin vele mijten voorkomen, worden

opgenomen. Zoo werden er in de krop van de kippen, welke in de kweekerij werden doodgezogen, aantallen van meer dan 500 mijten gevonden.

De enkele kippen welke in de kweekerij werden doodgezogen, werden geseceerd en het aantal mijten in bek, oesophagus, krop en magen geteld.

Sectie Kip 463.

Mondholte: enkele.

Trachea: geene.

Oesophagus: 10 stuks.

Krop: 543 volgezogen mijten + naar schatting enkele honderden, welke niet gezogen hadden.

Kliermaag: geene.

Spiermaag: 10 stuks.

Sectie Kip 465.

Mondholte: enkele.

Trachea: geene.

Oesophagus: ruim 20.

Krop: 500 à 600.

Kliermaag: geene.

Spiermaag: 20 à 30.

Sectie Kip 483.

Mondholte: geene.

Oesophagus: 15.

Trachea: geene.

Krop: 156 volgezogen mijten + naar schatting een kleine honderd, welke niet gezogen hadden.

Kliermaag: geene.

Spiermaag: enkele.

Sectie Kip 464.

Deze kip stierf een dag na haar verblijf in de kweekerij. Bij sectie werden er vele roode onbeschadigde mijten in de krop gevonden; hiernaast ook vele exemplaren, die reeds door de verteringssappen waren aangetast. Denkelyk waren er reeds een groot aantal mijten verteerd, daar de mijten reeds in denzelfden nacht van opname in de kliermaag kunnen aangetroffen worden.

Ruim 24 uur na de opname kunnen er dus nog vele intacte mijten in de krop aanwezig zijn.

Uit het bovenstaande zien we dus duidelyk dat de kip in staat is, om in één nacht het aantal mijten op te nemen, waarmee experimenteel een infectie kon worden opgewekt.

Het toedienen van de mijten in geëmulgeerden toestand schijnt invloed te hebben op het aanslaan der infectie. Denkelyk passeeren de bacillen hierbij direct de magen in groote hoeveelheden, wat niet het geval is wanneer onbeschadigde mijten worden toegediend. De mijten blijven daarbij lang in de krop achter (zie sectie Kip 464) en zullen langzaam aan verteerd worden, waar-

door de bacillen in kleine hoeveelheden de magen zullen passeeren.¹⁾

Het geven van scherp na de toediening van de geïnfecteerde mijten schijnt geen invloed op het aanslaan der infectie te hebben.

Voor de beoordeeling van de experimenten hebben we ook rekening te houden met factoren als individueele dispositie en toestand van het darmkanaal (af of niet beschadigd zijn van de mucosa).

* *
*

2. INFECTIEPROEVEN DOOR DEN STEEK.

Naast de infectieproeven per os hebben we ook getracht, de mogelijkheid van een overbrenging der infectie door den steek der mijten na te gaan. Hiervoor werden mijten, die zich te voren op een choleraduif geïnfecteerd hadden, bij enkele honderden tezamen onder batist op een gezonde duif gebracht, om ze dan gedurende een nacht de gelegenheid tot zuigen te geven. De intervallen varieerden hier van $\pm \frac{1}{2}$ uur tot 15 dagen.

De eerste experimenten werden met mijten verricht, die 7 en 15 dagen tevoren de bacillen hadden opgenomen. De vrij levende mijten gaan doorgaans pas enkele dagen na een voedselopname weer tot een herzuiging over; vandaar dat er in deze experimenten een interval van 7 en 15 dagen werd genomen. Later, toen het bleek, dat er met bovengenoemde experimenten geen infectie bij de proefdieren was te verkrijgen, werd het interval verkort, tot zelfs op enkele uren (directe overbrenging). Na elk experiment werd het aantal terugverzamelde mijten weer geteld en nagegaan hoeveel van deze werkelijk bloed hadden opgenomen, ter contrôle op de herzuiging.

Eén experiment, genomen in overeenstemming met de natuur, willen we niet onvermeld laten. Daar het een experiment betreft, waarbij de proefdieren zoowel door opname per os, als wel door den steek van geïnfecteerde mijten, konden geïnfecteerd worden, zal het hier, na de andere experimenten, besproken worden.

Er werden 28 experimenten met ruim 20,000 geïnfecteerde mijten genomen.

Ook hier was het wenschelijk om evenals bij de infectieproeven per os deze experimenten in verschillende groepen (series) te verdeelen.

¹⁾ Schönwerth komt tot de conclusie dat het aanslaan van een cholera-infectie per os afhankelijk is van het aantal opgenomen virulente bacillen. Bij duiven zou er pas een infectie per os optreden wanneer er minstens 614—168 millioen virulente bacillen aan de dieren worden toegediend.

Voor een duidelijk overzicht is het wenschelijk, de experimenten met het kortste interval, het eerst te bespreken.

Het volgende overzicht geeft een beeld van de samenstelling der experimenten:

Serie I.	Interval:	$\frac{1}{2}$ —4 uur.	4 exp.	met totaal	37 mijten.
" II.	"	1—4 dagen.	10	" " "	3500 "
" III.	"	5	2	" " "	1000 "
" IV.	"	7	5	" " "	5000 "
" V.	"	10	2	" " "	1250 "
" VI.	"	15	5	" " "	5000 "
Duiven werden hier als proefdier genomen.					

INFECTIEPROEVEN DOOR DEN STEEK MET MIJTEN, DIRECT NA DE BACILLENOPNAME. EERSTE SERIE EXPERIMENTEN.

Vier proeven werden er in deze serie genomen. De mijten, voor deze experimenten gebezigd, werden van een choleraduif gezocht kort na den dood van het dier en juist die mijten werden er van de duif gezocht, welke nog zeer weinig geïnfecteerd voedsel hadden opgenomen. De kans werd daardoor grooter dat deze mijten, wanneer ze op een gezond dier werden overgebracht, direct weer het afgebroken zuigingsproces zouden hervatten.

Onder het interval wordt in deze experimenten verstaan: tijdsduur, vanaf het moment van den dood van het vogelcholeradier tot het moment van het aanzetten der mijten op de gezonde duif.

In de experimenten 1 en 2 werden de mijten geobserveerd. In de exp. 3 en 4 werden de mijten onder batist op het proefdier aangezet, zoodat observatie hier onmogelijk was.

Een overzicht over deze proeven geven de tabellen 30 t/m. 33.

TABEL XXX.

Experiment 1. (XXII.) Proefdier: Duif 25.

17-7-'29 20 mijten (groep VII) Duur interval: 1 uur Gezogen: 2

20-7-'29 Duif 25 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van geïnfecteerde mijten, direct na de bacillenopname.

20 mijten, welke meerendeels geen kenmerken van voedselopname vertoonden, werden van de choleraduif 960 gezocht (direct na den dood van het dier) en op de gezonde duif 25 aangezet. De mijten werden tijdens het zuigen geobserveerd. Slechts 2 mijten hebben na verloop van eenigen tijd gezogen; de rest niet.

TABEL XXXI.

Experiment 2. (XXIII.) Proefdier: Duif 954.

17-7-'29 3 mijten (groep VII) Duur interval: 4 uur Gezogen: 2

24-7-'29 Duif 954 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van mijten, direct na de bacillenopname.

Van de gestorven choleraduif 960 konden er slechts 3 gedeeltelijk volgezogen mijten worden afgezocht. Deze werden ongeveer 4 uur na den dood van duif 960 onder een glazen bakje op gezonde duif 954 aangezet en tijdens het experimenteren geobserveerd. Na langen tijd hadden er slechts 2 mijten gezogen.

TABEL XXXII.

*Experiment 3. (CXXI.) Proefdier: Duif 255.*8-11-'29 10 mijten (gr. XXVII) Duur interval: $\frac{1}{2}$ uur Gezogen: alle22-11-'29 Duif 255 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van mijten, direct na de bacillenopname.

De gebezigde 10 mijten, welke een weinig bloed van choleraduif 152 hadden opgenomen en $\frac{1}{2}$ uur na den dood van duif 152 onder batist op gezonde duif 255 werden aangezet, hebben zich op deze duif geheel volgezogen.

TABEL XXXIII.

Experiment 4. (CXXII.) Proefdier: Duif 254.

8-11-'29 4 mijten (groep XXVII) Duur interval: 1 uur Gezogen: alle

22-11-'29 Duif 254 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van geïnfecteerde mijten, direct na de bacillenopname.

De gebezigde 4 mijten, welke een weinig bloed van choleraduif 152 hadden opgenomen en 1 uur later onder batist op gezonde duif 254 werden aangezet, hebben zich op deze duif geheel volgezogen.

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

Uit de tabellen zien we, dat:

exp. 1, met 20 mijten en met een interval van 1 uur, negatief is verlopen;

exp. 2, met 3 mijten en met een interval van 4 uur, eveneens negatief is verlopen;

exp. 3, met 10 mijten en met een interval van $\frac{1}{2}$ uur, geen infectie bij het proefdier heeft gegeven; en

exp. 4, met 4 mijten en met een interval van 1 uur, ook weer geen infectie heeft gegeven.

De kans voor het optreden van een infectie door den steek van mijten, kort na het opnemen der bacillen, is dus uiterst gering.

In de beide eerste experimenten werden de mijten geobserveerd om den duur van het interval nauwkeurig te leeren kennen. Vanwege de groote moeilijkheden hieraan verbonden, werden de mijten in de beide laatste experimenten onder batist op de duif gebracht en zodoende gedurende den nacht de gelegenheid tot zuigen gegeven. Observatie van het eigenlijke zuigingsproces was hierbij dus onmogelijk. Op grond van ervaring mag echter aangenomen worden, dat de mijten spoedig na het aanzetten op de duif tot zuigen zijn overgegaan.

INFECTIEPROEVEN DOOR DEN STEEK MET MIJTEN, 1—4 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

TWEDE SERIE EXPERIMENTEN.

De volgende experimenten 5 t/m. 14 werden met mijten genomen, welke 4 maal achtereen (na 1, 2, 3 en 4 dagen) tot herzuigen in de gelegenheid werden gesteld. De mijten, welke 1 dag na de bacillenopname voor de experimenten werden gebezigd, werden ook weer voor de experimenten, 2 dagen na de bacillenopname, gebruikt en zoo ook voor de volgende experimenten na 3 en 4 dagen, zoodat dezelfde mijten 4 nachten achtereen de gelegenheid tot voedselopname hebben verkregen. Hoewel de *vrijlevende* mijten pas eenige dagen na een voedselopname weer tot een herzuiging zullen overgaan, zou het toch mogelijk kunnen zijn, dat ze experimenteel eerder daartoe gebracht werden. Een eventueel uitgevoerde herzuiging na zoo'n korten tijd valt niet te constateeren, zoodat de gebezigde mijten noodgedwongen wel zoo lang tot een herzuiging in de gelegenheid gesteld moesten worden, tot aangenomen mocht worden, dat een herzuiging had plaats gevonden.

Ook de proefdieren werden steeds weer voor de volgende experimenten gebruikt.

De experimenten 5 t/m. 14 vormen dus één serie proeven, steeds met dezelfde mijten en proefdieren, echter met een verschillend interval genomen.

De experimenten kunnen als volgt worden ingedeeld:

3 experimenten met totaal 2500 mijten, 24 uur na de bacillenopname;

3 experimenten met totaal 2500 mijten, 2×24 uur na de bacillenopname;

2 experimenten met totaal 1500 mijten, 3×24 uur na de bacillenopname;

2 experimenten met totaal 1500 mijten, 4 × 24 uur na de bacillenopname.

Een overzicht over de proeven geven de tabellen 34 t/m. 43.

INFECTIEPROEVEN DOOR DEN STEEK MET MIJTEN,
24 UUR NA DE BACILLENOPNAME.

(Zie tabellen 34 t/m. 36.)

TABEL XXXIV.

Experiment 5. (LXXIX.) Proefdier: Duif 153.

2-10-'29 1000 mijten (groep XXV) Teruggevonden: alle
12-10-'29 Duif 153 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van totaal 1000 mijten, 24 uur na de bacillenopname.

TABEL XXXV.

Experiment 6. (XCI.) Proefdier: Duif 192.

16-10-'29 500 mijten (groep XXVI) Teruggevonden: alle
17-10-'29 Duif 192 vertoont geen ziekteverschijnselen en wordt voor het experiment 9 gebezigd.

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van 500 mijten, 24 uur na de bacillenopname.

TABEL XXXVI.

Experiment 7. (XVII.) Proefdier: Duif 191.

16-10-'29 1000 mijten (groep XXVI) Teruggevonden: alle
17-10-'29 Duif 191 vertoont geen ziekteverschijnselen en wordt voor het experiment 10 gebruikt.

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van 1000 mijten, 24 uur na de bacillenopname.

INFECTIEPROEVEN DOOR DEN STEEK MET MIJTEN,
2 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

(Zie tabellen 37 t/m. 39.)

TABEL XXXVII

Experiment 8. (LXXX.) Proefdier: Duif 141.

3-10-'29 1000 mijten (groep XXV) Teruggevonden: alle
12-10-'29 Duif 141 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van 1000 mijten, 2 dagen na de bacillenopname.

TABEL XXXVIII.

Experiment 9. (XCIII.) Proefdier: Duif 192.

17-10-'29 500 mijten (groep XXVI) Teruggevonden: alle
 18-10-'29 Duif 192 vertoont geen ziekteverschijnselen en wordt voor het
 experiment 11 gebruikt.

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van
 500 mijten, 2 dagen na de bacillenopname.

TABEL XXXIX.

Experiment 10. (XCIV.) Proefdier: Duif 191.

17-10-'29 1000 mijten (groep XXVI) Teruggevonden: alle
 18-10-'29 Duif 191 vertoont geen ziekteverschijnselen en wordt voor het
 experiment 12 gebezigd.

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van
 1000 mijten, 2 dagen na de bacillenopname.

INFECTIEPROEVEN DOOR DEN STEEK MET MIJTEN,
 3 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

(Zie tabellen 40 en 41.)

TABEL XL.

Experiment 11. (XCVIII.) Proefdier: Duif 192.

18-10-'29 500 mijten (groep XXVI) Teruggevonden: alle
 19-10-'29 Duif 192 vertoont geen ziekteverschijnselen en wordt voor het
 experiment 13 gebezigd.

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van
 500 mijten, 3 dagen na de bacillenopname.

TABEL XLI.

Experiment 12. (XCIX.) Proefdier: Duif 191.

18-10-'29 1000 mijten (groep XXVI) Teruggevonden: alle
 19-10-'29 Duif 191 vertoont geen infectieverschijnselen en wordt voor het
 experiment 14 gebezigd.

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van
 1000 mijten, 3 dagen na de bacillenopname.

INFECTIEPROEVEN DOOR DEN STEEK MET MIJTEN,
4 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

(Zie tabellen 42 en 43.)

TABEL XLII.

Experiment 13. (CL.) Proefdier: Duif 192.

19-10-'29 500 mijten (groep XXVI) Teruggevonden: alle

28-10-'29 Duif 192 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van
500 mijten, 4 dagen na de bacillenopname.

TABEL XLIII.

Experiment 14. (CII.) Proefdier: Duif 191.

19-10-'29 1000 mijten (groep XXVI) Teruggevonden: alle

28-10-'29 Duif 191 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van
1000 mijten, 4 dagen na de bacillenopname.

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

We zien uit de tabellen, dat alle experimenten negatief zijn verlopen.

De experimenten 5, 6 en 7 werden met totaal 2500 mijten verricht, welke 24 uur tevoren de bacillen hadden opgenomen. Het is niet zeker, dat mijten 24 uur na een voedselopname weer tot een herzuiging overgaan, wanneer zij daartoe in de gelegenheid worden gesteld; waarschijnlijk zal dit niet het geval zijn, en vooral niet bij vrijlevende mijten. Bij de genomen experimenten kon een herzuiging of een poging daartoe op geenerlei wijze worden aangetoond.

Op grond van het negatief verloop dezer experimenten moet aangenomen worden, dat mijten, 24 uur na de bacillenopname, of niet tot een herzuiging zijn overgegaan, of geen bacillen in of aan den steeksnuut bevatten, die een infectie tijdens de zuiging kunnen veroorzaken.

De experimenten 8, 9 en 10 werden met totaal 2500 mijten verricht, welke 2×24 uur te voren de bacillen hadden opgenomen. Deze mijten waren reeds eerder in de exp. 5 t/m. 7 gebruikt. Ook bij deze experimenten kon een eventueel uitgevoerde herzuiging niet aangetoond worden. Er mocht echter wel verondersteld worden, dat dit niet het geval is geweest. Uit het negatief verloop dezer experimenten mag worden aangenomen dat de gebezigde mijten of geen poging hebben aangewend om

tot herzuiging over te gaan of niet in staat zijn om vogelcholera door den steek, 2 dagen na de bacillenopname, over te brengen.

Twee der in bovenstaande experimenten gebezigde proefdieren waren reeds eerder gebruikt in de exp. 5 t/m. 7.

De experimenten 11 en 12 werden met totaal 1500 mijten verricht, welke 3×24 uur te voren de bacillen hadden opgenomen. Zoowel mijten als proefdieren waren reeds eerder in de voorgaande experimenten gebruikt. Ook na 3 dagen kon een eventueel uitgevoerde herzuiging niet met zekerheid worden aangetoond. Te oordeelen naar het uiterlijk aanzien der mijten (sterk met bloed gevuld en helrood van kleur, als direct na een voedselopname) moest hier wel aan een herzuiging gedacht worden. Uit het negatief verloop der beide experimenten valt te concludeeren, dat mijten, 3 dagen na de bacillenopname, geen gevaar opleveren voor het overbrengen van vogelcholera door den steek.

De experimenten 13 en 14 werden met totaal 1500 mijten verricht, welke 4×24 uur te voren de bacillen hadden opgenomen. De gebezigde mijten en proefdieren waren reeds eerder in de voorgaande experimenten gebruikt. Een herzuiging kon hier niet worden uitgesloten. De mijten gaven nog steeds denzelfden indruk als direct na een voedselopname (sterk met bloed gevuld en helrood van kleur). Daar mijten, 4 dagen na voedselopname, nog vele intacte roode bloedlichaampjes in het darmkanaal kunnen bevatten, kon een microscopisch onderzoek geen nadere gegevens verstrekken omtrent de eventueel uitgevoerde herzuiging. Uit het negatief verloop der beide experimenten mag geconcludeerd worden, dat mijten, 4 dagen na de bacillenopname, niet in staat zijn om vogelcholera over te brengen.

In de experimenten 5 t/m. 14 werden nu geïnfecteerde mijten in de gelegenheid gesteld, om zeer korten tijd na de bacillenopname, weer tot een herzuiging over te gaan. Uit het feit, dat de mijten steeds dezelfde helroode kleur, als direct na een voedselopname, hebben behouden, mag aangenomen worden, dat ze of in één van de 4 gevallen, of in alle 4 gevallen tot een herzuiging zijn overgegaan. Een infectie is er echter niet opgetreden. *Een mechanische overbrenging kan er dus na een interval van 24 uur en langer niet plaats vinden.* Voor de praktijk is dit van groot belang, daar de vrijlevende mijten practisch gesproken niet eerder dan na 24 uur tot een herzuiging kunnen overgaan.

INFECTIEPROEVEN DOOR DEN STEEK MET MIJTEN, 5 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

DERDE SERIE EXPERIMENTEN.

Deze serie bevat twee experimenten, elk met 500 mijten verricht.

Een overzicht over deze proeven geven de tabellen 44 en 45.

TABEL XLIV.

Experiment 15. (LXXVI.) Proefdier: Duif 151.

- 1-10-'29 500 mijten (groep XXIV) Teruggevonden: 300 Niet gez.: geene.
 12-10-'29 Duif 151 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van 500 mijten, 5 dagen na de bacillenopname.

TABEL XLV.

Experiment 16. (LXXVII.) Proefdier: Duif 152.

- 1-10-'29 500 mijten (gr. XXIV) Teruggevonden: alle Niet gez.: enkele
 12-10-'29 Duif 152 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van 500 mijten, 5 dagen na de bacillenopname.

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

Uit de tabellen zien we, dat:

exp. 15, met 500 mijten, negatief is verlopen; en

exp. 16, ook met 500 mijten, eveneens negatief is verlopen.

Bij het exp. 15 werden er slechts 300 der aangezette mijten teruggevonden; door het loslaten van het batist was de rest ontsnapt. Alle terugverzamelde mijten hadden bloed opgenomen.

Op grond van het negatief verloop der beide experimenten met totaal 1000 mijten, kan ook hier gezegd worden, dat mijten, welke 5 dagen te voren de bacillen hebben opgenomen, geen vogelcholera door den steek kunnen overbrengen.

INFECTIEPROEVEN DOOR DEN STEEK DER MIJTEN,
7 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

VIERDE SERIE EXPERIMENTEN.

Deze serie bestaat uit 5 experimenten met totaal 5000 mijten. Voor elk der 5 experimenten werden er 1000 mijten gebezigd; in elk experiment werden er tweemaal achtereen 500 mijten op de duif aangezet.

Het aantal mijten dat op het proefdier niet gezogen had, was hier niet groot.

Een overzicht over deze proeven geven de tabellen 46 t/m. 50.

TABEL XLVI.

Experiment 17. (XLV.) Proefdier: Duif 102.

6-9-'29	500 mijten	(groep XVI)	Teruggev.: alle	Niet gez.: 50
17-9-'29	500 "	(" XX)	" "	" " enkele
3-10-'29	Duif 102 afgeschreven. <i>Negatief verloop.</i>			

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van 1000 mijten, 7 dagen na de bacillenopname.

TABEL XLVII.

Experiment 18. (LII.) Proefdier: Duif 111.

13-9-'29	500 mijten	(groep XIX)	Teruggev.: alle	Niet gez.: 20
20-9-'29	500 "	(" XXI)	" "	" " enkele
28-9-'29	Duif 111 afgeschreven. <i>Negatief verloop.</i>			

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van totaal 1000 mijten, 7 dagen na de bacillenopname.

TABEL XLVIII.

Experiment 19. (LIII.) Proefdier: Duif 112.

13-9-'29	500 mijten	(groep XIX)	Teruggev.: 300	Niet gez.: 20
17-9-'29	500 "	(" XX)	" alle	" " enkele
25-9-'29	Duif 112 afgeschreven. <i>Negatief verloop.</i>			

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van totaal 1000 mijten, 7 dagen na de bacillenopname.

TABEL XLIX.

Experiment 20. (LIV.) Proefdier: Duif 113.

13-9-'29	500 mijten	(groep XIX)	Teruggev.: 380	Niet gez.: 10
20-9-'29	500 "	(" XXI)	" alle	" " enkele
28-9-'29	Duif 113 afgeschreven. <i>Negatief verloop.</i>			

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van totaal 1000 mijten, 7 dagen na de bacillenopname.

TABEL L.

Experiment 21. (LV.) Proefdier: Duif 115.

13-9-'29	500 mijten	(groep XIX)	Teruggev.: 340	Niet gez.: 10
17-9-'29	500 "	(" XX)	" 253	" " enkele
25-9-'29	Duif 115 afgeschreven. <i>Negatief verloop.</i>			

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van 1000 mijten, 7 dagen na de bacillenopname.

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

We zien uit de tabellen dat:

exp. 17, met totaal 1000 mijten, negatief is verlopen; alle aangezette mijten konden terug verzameld worden; ruim 50 hadden geen bloed opgenomen.

exp. 18, met totaal 1000 mijten, eveneens negatief is verlopen; ook hier konden alle aangezette mijten terug verzameld worden; ruim 20 mijten hadden hier niet gezogen.

exp. 19, met totaal 1000 mijten, geen infectie bij het proefdier heeft gegeven; ongeveer 200 mijten gingen tijdens het experimenteeren verloren, doordat het batist had losgelaten; $\pm$ 20 der terug verzamelde mijten hadden niet gezogen.

exp. 20, met totaal 1000 mijten, ook een negatief resultaat heeft gegeven; ruim 100 mijten gingen hier verloren, ook doordat het batist had losgelaten; enkele mijten hadden geen bloed opgenomen.

exp. 21, met 1000 mijten, weer geen infectie bij het proefdier heeft gegeven; ongeveer 400 mijten waren, ook door het loslaten van het batist, ontsnapt; van de terug verzamelde mijten hadden er slechts enkele geen bloed opgenomen.

De 5 experimenten, genomen met totaal 5000 mijten, welke 7 dagen te voren de bacillen hadden opgenomen, zijn dus alle negatief verlopen, zoodat aangenomen mag worden, dat mijten, 7 dagen na de bacillenopname, niet in staat zijn vogelcholera door den steek over te brengen.

INFECTIEPROEVEN DOOR DEN STEEK MET MIJTEN,
10 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

VIJFDE SERIE EXPERIMENTEN.

Deze serie bevat slechts twee experimenten. Beide experimenten werden het eerst van al de genomen infectieproeven door den steek verricht. Bij het verrichten van deze wisten we n.l. nog niet welke werkmethode voor deze experimenten de beste zou zijn. Volledigheidshalve zullen deze experimenten hier even vermeld worden.

Experiment 22. (XXXV.)

700 mijten, 10 dagen na de bacillenopname, en afkomstig van groep XIII werden in den avond van 22-8-'29 in een speciaal voor dit doel geconstrueerde kooi los op duif 954 aangezet. 15—30 minuten na het aanzetten werd de duif erg onrustig en deed alle moeite om zich van de mijten te ontdoen. Vele mijten werden hierbij opgepikt; bovendien gingen er direct vele mijten van de duif af. 's Morgens daarop konden er slechts 27 volgezogen mijten en 270 exempla-

ren, die niet gezogen hadden, teruggevonden worden. De rest was hoogstwaarschijnlijk door de duif per os opgenomen.

Een infectie is er bij de duif niet opgetreden. Was er echter wel een infectie opgetreden, dan zou het nog de vraag geweest zijn of deze door den steek, dan wel door de opname per os der mijten was veroorzaakt.

Het dier werd 30-9-'29 afgeschreven.

Dit experiment leerde, dat het ondoenlijk was om op bovenstaande wijze te experimenteren.

Experiment 23. (XXXVI.)

Na de mislukking in het experiment 22 (hier boven beschreven) werden de mijten in dit experiment onder batist op de duif gebracht.

500 geïnfecteerde mijten, afkomstig van groep XV, werden in den avond van 29-8-'29 onder batist op duif 88 gebracht en zodoende gedurende den nacht de gelegenheid tot zuigen gegeven. Den volgenden morgen werden er 300 mijten terugverzameld; slechts enkele hadden niet gezogen; de rest was door loslating van het batist ontsnapt.

Infectie is er bij de duif niet opgetreden, zoodat het dier een week later werd afgeschreven.

Hoewel niet ideaal, toch leerde dit experiment, dat de methode om de mijten onder batist te laten zuigen, zeer wel bruikbaar was.

INFECTIEPROEVEN DOOR DEN STEEK MET MIJTEN, 15 DAGEN NA DE BACILLENOPNAME.

ZESDE SERIE EXPERIMENTEN.

Deze serie bestaat uit 5 experimenten met totaal 5000 mijten. Voor elk der 5 experimenten werden er 1000 geïnfecteerde mijten gebezigd, terwijl elk experiment uit een tweemaalige herzuiging elk met 500 mijten bestond.

Het aantal mijten dat niet gezogen had, was in deze serie experimenten zeer gering.

Een overzicht over deze proeven geven de tabellen 51 t/m. 55.

TABEL LI.

Experiment 24. (LVI.) Proefdier: Duif 117.

14-9-'29	500 mijten	(groep XVI)	Teruggev.: alle	Niet gez.: 7
25-9-'29	500 "	(" XX)	" "	" " 8
2-10-'29	Duif 117 afgeschreven. <i>Negatief verloop.</i>			

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van totaal 1000 mijten, 15 dagen na de bacillenopname.

TABEL LII.

Experiment 25. (LVII.) Proefdier: Duif 117.

14-9-'29	500 mijten	(groep XVI)	Teruggev.: alle	Niet gez.: 15
25-9-'29	500 "	(" XX)	" "	" " enkele
2-10-'29	Duif 118 afgeschreven. <i>Negatief verloop.</i>			

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van totaal 1000 mijten, 15 dagen na de bacillenopname.

TABEL LIII.

Experiment 26. (LXI.) Proefdier: Duif 129.

21-9-'29	500 mijten	(groep XIX)	Teruggev.: 277	Niet gez.: 3
25-9-'29	500 "	(" XX)	" alle	" " 31

2-10-'29 Duif 129 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van totaal 1000 mijten, 15 dagen na de bacillenopname.

TABEL LIV.

Experiment 27. (LXII.) Proefdier: Duif 128.

21-9-'29	500 mijten	(groep XIX)	Teruggev.: alle	Niet gez.: enkele
25-9-'29	500 "	(" XX)	" "	" " 9

2-10-'29 Duif 128 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van totaal 1000 mijten, 15 dagen na de bacillenopname.

TABEL LV.

Experiment 28. (LXIII.) Proefdier: Duif 130.

21-9-'29	500 mijten	(groep XIX)	Teruggev.: 221	Niet gez.: enkele
25-9-'29	500 "	(" XX)	" alle	" " 21

2-10-'29 Duif 130 afgeschreven. *Negatief verloop.*

Experimenteele overbrenging van vogelcholera door zuiging van totaal 1000 mijten, 15 dagen na de bacillenopname.

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

Uit de tabellen zien we, dat:

exp. 24, met totaal 1000 mijten, negatief is verlopen; de gezigde 1000 mijten, konden na een verblijf van 12 uur op de duif, weer terug verzameld worden; slechts enkele mijten hadden geen bloed opgenomen.

exp. 25, met totaal 1000 mijten, eveneens negatief is verlopen; ook hier konden alle aangezette mijten weer terug verzameld worden, terwijl enkele hiervan geen bloed hadden opgenomen.

exp. 26, met totaal 1000 mijten, ook geen infectie bij het proefdier heeft gegeven; een tamelijk groot aantal mijten ging hier, bij dit exp., verloren, doordat het batist had losgelaten; slechts een gering aantal der terug verzamelde mijten was niet tot herzuiging overgegaan.

exp. 27, met totaal 1000 mijten, weer een negatief resultaat

heeft gegeven; alle aangezette mijten konden terug verzameld worden; enkele hadden geen bloed opgenomen.

exp. 28, met totaal 1000 mijten, weer geen infectie heeft gegeven; een betrekkelijk groot aantal aangezette mijten was, door het loslaten van het batist, verloren gegaan; een gering aantal der terug verzamelde mijten had niet gezogen.

De 5 experimenten, met totaal 5000 mijten, 15 dagen na de bacillenopname, zijn dus alle negatief verlopen, waaruit geconcludeerd mag worden, dat mijten, die 15 dagen te voren de bacillen aan een choleradier hebben opgenomen, niet in staat zijn vogelcholera door den steek over te brengen.

Tot slot willen we hier nog een experiment vermelden, waarbij zooveel mogelijk in overeenstemming met de natuur werd gehandeld.

Experiment 29.

In een kweekplaats werden twee choleraduiven, in het stadium van algemeene bloedinfectie, geplaatst; op beide werden vele duizenden hongerende mijten aangezet. Na den dood van deze duiven werden zij nog gedurende een nacht in de kweekplaats gehouden en pas 's morgens daarop daaruit verwijderd. Vele duizenden mijten hadden toen gezogen en hadden zich in de voor hen aangebrachte natuurlijke schuilhoeken teruggetrokken.

Een week lang werd er nu elken nacht een gezonde duif in deze geïnfecteerde kweekplaats gebracht. De dieren zouden dus door opname per os als wel door het zuigen van deze geïnfecteerde mijten geïnfecteerd kunnen worden.

Bij geen der gezonde duiven is er echter een infectie opgetreden. (Misschien was de duur van de proef wat te kort genomen.)

EINDBEOORDEELING DER RESULTATEN.

Met $\pm 20,000$ geïnfecteerde mijten werden er 28 experimenten verricht, waarbij overbrenging van vogelcholera door den steek werd beoogd. Voor deze proeven werden uitsluitend duiven genomen. Het interval varieerde van $\frac{1}{2}$ uur—15 dagen.

De experimenten nog even in 't kort nagaand, dan zien we, dat:

E. ENKELE EXPERIMENTEN MET STOMOXYS CALCITRANS, STEGOMYIA FASCIATA EN ORNITHODORUS MOUBATA.

Tot slot enkele experimenten met *Stomoxys calcitrans*, *Stegomyia fasciata* en *Ornithodorus moubata*.

De bedoeling was niet om met deze arthropoden overbrengingproeven te verrichten, doch slechts om na te gaan hoelang de vogelcholerabacil zich na de opname in deze kan handhaven ter vergelijking van dat, wat bij *Dermanyssus avium* werd gevonden.

Bij *Dermanyssus avium* werd een zeer lange levensduur van den bacil gevonden; lag dit nu aan de mijt, of moesten we dat lange verblijf voor rekening van de bacillen brengen.

Om dit nu nader na te gaan, werden de bovengenoemde vliegen en teeken met vogelcholerabacillen geïnfecteerd en de levensduur der opgenomen bacillen door dierproeven gecontroleerd.

STOMOXYS CALCITRANS.

16 geïnfecteerde exemplaren werden in 10 experimenten aangewend. We vonden een levensduur van den bacil in het insect van hoogstens 5 dagen. Door de in steriel physiologische keukenzoutoplossing geëmulgeerde insecten bij muizen subcutaan te injecteeren, kon er tot 4 dagen na de bacillenopname een choleraïnfectie bij de muis opgewekt worden. Met vliegen, 6 dagen en later na de bacillenopname, gelukte dit niet meer.

Was het al lastig om een voldoende aantal geïnfecteerde vliegen te verkrijgen, nog moeilijker was het om de insecten zes dagen en langer zonder een herhaalde voedselopname in het leven te behouden. Door het geven van suikerwater gelukte dit in enkele gevallen.

Tevens kon tijdens dit onderzoek het optreden van virulente bacillen in de faeces, binnen de 24 uur na de bacillenopname, worden aangetoond.

Een experiment, waarbij de overbrenging van den bacil door den steek van een geïnfecteerde vlieg op een gezonde duif werd getracht te verkrijgen, is gelukt.

Een geïnfecteerde *Stomoxys* werd op de gezonde duif 954 gebracht. Na een interval van 10—15 min. heeft de vlieg gedurende ongeveer 3 minuten op de gezonde duif gezogen.

Binnen 24 uur stierf de duif aan vogelcholera.

Op de entplaats was een groote locale haard tot ontwikkeling gekomen, waaruit de bipolaire bacillen microscopisch en cultureel konden aangetoond worden.

STEGOMYIA FASCIATA.

Met dit insect werden er slechts enkele proeven genomen.

Enkele tientallen hongerende insecten kregen gedurende den nacht de gelegenheid zich op een choleramuis te infecteeren. Slechts een klein percentage nam voedsel op. Deze geïnfecteerde insecten werden nu 6 en 8 dagen na de infectie bij duiven subcutaan geïnjecteerd. Infectie is er bij het proefdier niet opgetreden, zoodat we mogen aannemen dat ook dit insect evenals *Stomoxys calcitrans*, niet in staat is om den vogelcholerabacil langer dan 6 dagen virulent bij zich te houden.

ORNITHODORUS MOUBATA.

Voor de experimenten met *Ornithodorus moubata*, hadden we slechts larven ter onzer beschikking. Na zuiging op een choleramuis (onder batist) werd een gedeelte van deze geïnfecteerde larven voor cultuuraanleg gebezigd, opdat we zekerheid mochten hebben, dat de cholerabacillen in deze teeken aanwezig waren. De larven werden n.l. in een zeer vroeg stadium van de algemeene bloedinfectie op een choleramuis gebracht, wat we wel moesten doen om een voldoende aantal teeken te verkrijgen, welke voedsel hadden opgenomen, daar deze teeken zeer moeilijk experimenteel tot zuigen zijn te brengen.

In den aanvang werden de geïnfecteerde larven in reageerbuisjes (met batist afgesloten) bewaard. Al de geïnfecteerde larven stierven hierin spoedig na de infectie af. Later toen we de geïnfecteerde exemplaren in kleine glazen potjes, waarin wat zand was aangebracht en welke eveneens met batist werden afgesloten, bewaarden, bleven alle teeken in het leven. De doodsoorzaak van de eerste geïnfecteerde larven mochten we dus niet aan de opname van de bacillen wijten.

De geïnfecteerde larven gingen ten deele niet vervellen. Denkelijk behoefden deze larven nog een tweede voedselopname voor ze tot een vervelling konden overgaan.

19 geïnfecteerde exemplaren werden in 10 experimenten aangewend.

Zeven dagen en later na de bacillenopname gingen vele larven

tot vervelling over. Met geen van deze vervelde teeken hebben we een infectie bij een duif kunnen opwekken. De vervelde teeken bevatten dus geen vogelcholerabacillen meer.

Experimenten met niet vervelde larven toonden aan, dat er 5 en 7 dagen na de bacillenopname nog virulente cholerabacillen in de teek aanwezig kunnen zijn, doch doorgaans 7 dagen na de bacillenopname daaruit verdwenen zijn.

Dus afgezien van de vervelling kunnen de larven van *Ornithodoros moubata* de vogelcholerabacillen niet langer dan hoogstens 7 dagen virulent bij zich houden.

BEOORDEELING DER RESULTATEN.

De vliegen, *Stomoxys calcitrans* en *Stegomyia fasciata* en de teek *Ornithodoros moubata* kunnen slechts korten tijd (hoogstens enkele dagen) den vogelcholerabacil virulent in den darm behouden. Van de steekvliegen was dit te verwachten, daar vele onderzoekingen hebben aangetoond dat vliegen slechts korten tijd pathogene bacillen bij zich kunnen houden. (Zie blz. 14.) Met de teek *Ornithodoros moubata* zijn er in dezen nog geen experimenten genomen, wel met de aanverwante teek *Argas persicus*, waarmee *Hindle* en *Duncan* in dit opzicht verschillende uitkomsten verkregen.

Gezien den korten tijd, waarbinnen de bacillen in bovengenoemde vliegen en teeken kunnen verblijven, mogen we aannemen dat het lang aanwezig blijven van de bacillen in Dermanyssus avium iets specifieks voor deze mijt is.

SAMENVATTING.

Het doel van het voorgaand onderzoek was, om experimenteel vast te stellen, welke beteekenis *Dermanyssus avium* als overbrenger van vogelcholera bezit.

HOOFDSTUK I.

LITERATUUROVERZICHT.

In dit hoofdstuk zijn de verzamelde literatuurgegevens betreffende de beteekenis, welke *Dermanyssus avium* als overbrenger van Vogelcholera en andere dierziekten heeft gespeeld, vermeld. Hiernaast zijn de literatuur-gegevens omtrent de overbrenging van vogelcholera en andere eveneens tot de haemorrhagische septichaemie-groep behorende dierziekten door andere arthropoden dan *Dermanyssus avium* medegedeeld.

Uit dit overzicht blijkt, dat er van *Dermanyssus avium* als ziekteoverbrenger zeer weinig bekend is en ook, dat er met vogelcholera en de andere ziekten, welke tot de haemorrhagische septichaemie-groep behooren, nog weinig doelbewust is geëxperimenteerd.

Een samenvatting omtrent het lot van pathogene bacillen in arthropoden besluit dit hoofdstuk. Deze gegevens zijn van belang ter vergelijking van wat bij *Dermanyssus avium* werd gevonden.

HOOFDSTUK II.

MORPHOLOGIE EN BIOLOGIE VAN *DERMANYSSUS AVIUM*.

Dit hoofdstuk omvat ten deele literatuur-gegevens, ten deele eigen biologische waarnemingen, voor zoover ze van beteekenis zijn voor het ontstaan en de verspreiding van ziekten door *Dermanyssus avium*. Enkele nieuwe gezichtspunten werden hierbij naar voren gebracht, o.a. over het zuigingsproces.

HOOFDSTUK III.

HET EXPERIMENTEEL GEDEELTE.

In dit hoofdstuk wordt het technisch en het experimenteel

gedeelte van het onderzoek behandeld. Aan de bespreking van het experimenteel gedeelte gaat vooraf de omschrijving van de werkmethoden, welke bij dit onderzoek werden gevolgd. Deze techniek, geheel nieuw, was gedeeltelijk tamelijk lastig.

De vermelde resultaten werden uit ruim 150 experimenten met totaal 60,000 mijten verkregen. Als proefdieren in deze experimenten werden kippen, duiven en muizen gebezigd.

RESULTATEN.

De Vogelcholerabacil kan zich zeer lang in *Dermanyssus avium* handhaven, zonder sterk in virulentie achteruit te gaan. Zijn aanwezigheid kon in hongerende mijten, bij kamertemperatuur bewaard, tot 120 dagen geconstateerd worden. Cultureel en uit coupes kon er een sterke vermeerdering van de opgenomen bacillen in *Dermanyssus avium* aangetoond worden. Deze sterke vermeerdering vindt vooral binnen de eerste 24 uur na de bacillenopname plaats. De bacillenvermeerdering is als een soort „pseudocultuur” op te vatten. De mijt is daardoor niet als een echte tusschengastheer, maar als een langdurige drager te beschouwen. De bacillen oefenen geen nadeeligen invloed uit op den levensduur van de mijt.

De bacillen worden in groote hoeveelheden met de excrementen uitgescheiden. In den regel bevatten de excrementen, 15 dagen na de bacillenopname, geen virulente bacillen meer. In enkele gevallen kunnen echter nog virulente bacillen een langen tijd na de bacillenopname (ongeveer 49 dagen) met de excrementen worden uitgescheiden.

Een herzuiging oefent weinig of geen invloed uit op de achtergebleven bacillen. Ondanks herhaalde voedselopname blijven de bacillen lang in het lichaam van de mijt achter.

Uit het histologisch onderzoek is gebleken dat de bacillen tot het darmlumen beperkt blijven. Een indringen in de darmcellen of het optreden van de bacillen buiten het darmkanaal, kon niet worden aangetoond. Overerving van den bacil op de nakomelingen (eipassage) komt niet voor. Wel kan de bacil zich tijdens de vervellingen van protonymphe tot deutonymphe en tot imago, in de mijt handhaven.

De mijt is niet in staat om de vogelcholerabacillen door den steek op gezonde dieren over te brengen. De genomen 28 experimenten met totaal 20,000 mijten en waarbij de intervallen varieerden van enkele minuten tot 15 dagen, zijn alle negatief verlopen. Op grond van dit negatief verloop kan eveneens aangenomen worden, dat de bacillenhoudende excrementen geen gevaar opleveren voor het ontstaan van een infectie.

Opname per os van geïnfecteerde mijten kan wel een infectie bij het proefdier veroorzaken. Van de 24 infectie-proeven per os

met totaal 34,000 mijten en waarbij het interval varieerde van 1½ dag tot 35 dagen, gaven 5 experimenten een positief resultaat. Het voor het optreden van een infectie benodigd aantal mijten behoeft niet groot te zijn, slechts enkele honderden (200 à 300) kunnen reeds voldoende zijn. De kippen zijn in staat zulke groote hoeveelheden en zelfs nog meer gedurende één nacht op te nemen.

De enkele experimenten met *Stomoxys calcitrans*, *Stegomyia fasciata* en *Ornithodoros moubata* brachten aan het licht, dat deze arthropoden niet in staat zijn om de vogelcholerabacil lang bij zich te houden (hoogstens enkele dagen). Dit in tegenstelling van wat bij *Dermanyssus avium* is waargenomen.

ZUSAMMENFASSUNG.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit war, experimentell genauer zu untersuchen, welche Rolle *Dermanyssus avium* als Überträger von Geflügelcholera besitzen kann.

I. LITERATURÜBERSICHT.

Im einleitenden Teil wird eine Zusammenfassung der in der Literatur erwähnten Angaben über die Bedeutung von *Dermanyssus avium* als Überträger von Geflügelcholera und anderer Tierkrankheiten gegeben und daran anschliessend werden weiter unsere Kenntnisse von der Übertragung von Geflügelcholera und den übrigen zu der hämorrhagischen Septikämiegruppe gehörenden Tierkrankheiten durch andere Arthropoden als *Dermanyssus avium* besprochen.

Diese Übersicht zeigt, dass über die Rolle von *Dermanyssus avium* als Krankheitsüberträger sehr wenig bekannt ist und dass mit der Geflügelcholera und den verwandten Krankheiten der hämorrhagischen Septikämiegruppe bisher nur sehr wenig zielbewusst experimentiert wurde.

Eine Zusammenfassung über das Verhalten von pathogenen Bazillen im Darm von blutsaugenden Arthropoden, die für eine Beurteilung der entsprechenden Verhältnisse bei *Dermanyssus avium* von Bedeutung ist, schliesst dieses Kapitel ab.

II. MORPHOLOGIE UND BIOLOGIE VON *DERMANYSSUS*.

Neben einer Zusammenfassung der Literaturangaben werden auch eigene biologische Beobachtungen an *Dermanyssus avium* besprochen, soweit diese mit dem Entstehen und der Verbreitung von Krankheiten durch diese Arthropodenart in Verbindung stehen. Hierbei werden einige neue Beobachtungen gemacht (u.a. über den Saugprocess).

III. EXPERIMENTELLER TEIL.

Zunächst wird die Untersuchungstechnik, die für diese Versuche völlig neu ausgearbeitet werden musste, genauer beschrieben. Die technischen Schwierigkeiten waren teilweise nicht gering, doch liessen sie sich durch eine geeignete Versuchsanordnung überwinden, sodass einwandfreie Resultate erhalten werden konnten.

Es wurden im ganzen über 150 Versuche gemacht, zu denen etwa 60,000 Exemplare von *Dermanyssus* gebraucht wurden. Als Versuchstiere nahmen wir Tauben, Hühner und Mäuse. Aus diesen Versuchen können wir die folgenden Schlüsse ziehen.

Der Geflügelcholerabazillus bleibt sehr lange im Darm von *Dermanyssus avium* am Leben, ohne stark an Virulenz einzubüssen. Die Bazillen konnten in hungernden, bei Zimmertemperatur bewahrten Milben noch nach 120 Tagen nachgewiesen werden. An Kulturen und Schnittpräparaten sieht man besonders in den ersten 24 Std. nach der Blutaufnahme eine starke Vermehrung der Bazillen. Es handelt sich hierbei aber nur um eine Art „Pseudo-kultur“. Die

Milben wären daher weniger als echte Zwischenwirte, sondern mehr als Zwischenträger von langer Dauer zu betrachten. Die Bazillen üben anscheinend keinerlei schädigenden Einfluss auf die Milben aus.

Die Bazillen werden mit den Exkrementen zunächst in grosser Zahl ausgeschieden. In der Regel befassen die Fäzes 15 Tage nach der Blutaufnahme keine Bazillen mehr. Ausnahmsweise haben wir sie aber noch nach etwa 49 Tagen nachweisen können.

Eine wiederholte Blutaufnahme übt keinen oder nur höchstens einen geringen Einfluss auf die Bazillen im Darm der Milben aus. Sie bleiben auch dann lange im Körper vorhanden.

Die histologische Untersuchung zeigt, dass die Bazillen auf das Darmlumen beschränkt bleiben. Ein Eindringen in die Darmwände oder ein Auftreten der Bazillen ausserhalb des Darmtrakts konnte nicht beobachtet werden. Eine Vererbung der Bazillen auf die Nachkommenschaft kommt nicht vor, wohl bleibt die Infektion bei der Häutung von Protonymphen zur Deutonymphen und weiter zum Imago bestehen.

Die Milben können die Infektion nicht durch den Saugakt auf gesunde Tiere übertragen. 28 Versuche mit 20,000 Milben verliefen alle bei Intervallen von einigen Min. bis zu 15 Tagen negativ. Aus dem negativen Verlauf dieser Versuche kann auch geschlossen werden, dass die bazillenhaltigen Fäzes keine Gefahr für die Verbreitung der Infektion bilden.

Dagegen kann die Aufnahme per os von infizierten Milben eine Infektion hervorrufen. Von 24 Versuchen mit zusammen 34,000 Milben, bei denen das Intervall zwischen $1\frac{1}{2}$ und 35 Tagen lag, waren 5 Experimente positiv. Die Anzahl der für das Anschlagen einer Infektion nötigen Milben braucht nicht gross zu sein. Nur wenige Hunderte (200—300) können schon genügen. Die Hühner können eine so grosse Anzahl Milben und sogar noch mehr in einer einzigen Nacht auffressen.

Abschliessend wurden für Vergleichszwecke noch einige Versuche mit *Stomoxys calcitrans*, *Stegomyia fasciata* und *Ornithodoros moubata* gemacht. Es zeigte sich, dass im Gegensatz zu den Verhältnissen bei *Dermanyssus avium* die Bazillen im Darm dieser Insekten höchstens einige Tage am Leben bleiben.

LITERATUUR.

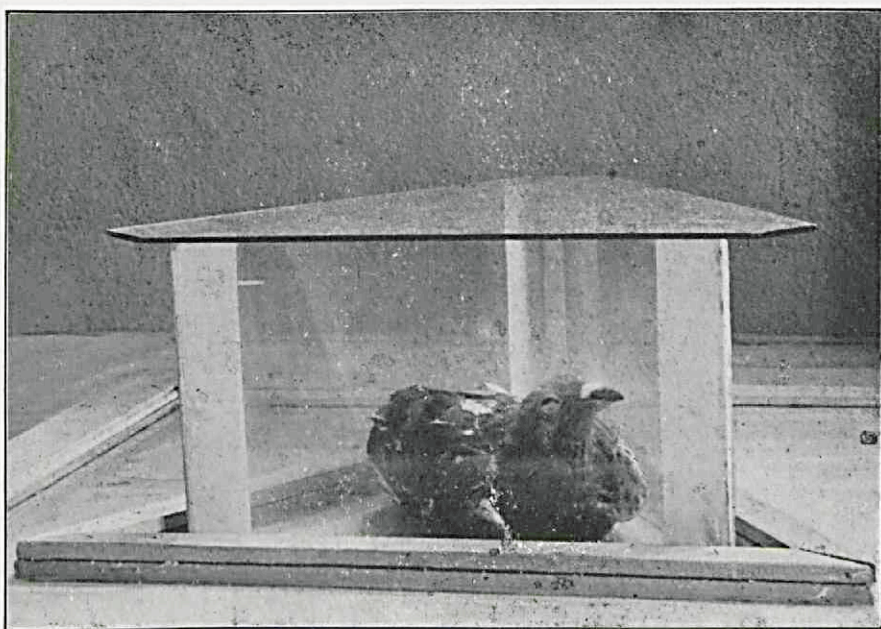
- Bacot, A. W.* Observations on the length of time that fleas (*Ceratophyllus fasciatus*) carrying *Bacillus pestis* in their alimentary canals are able to survive in the absence of a host and retain the power to re-infect with plague.
Jl. of Hygiene. Plague supplement IV, blz. 770—773, 1915.
- Notes on the development of *Bacillus pestis* in bugs (*Cimex lectularius*) and their power to convey infection.
Jl. of Hygiene, Plague supplement IV, blz. 777—792, 1915.
- Bahr, P. H.* A study of epidemic dysentery in the Fiji Islands.
British Medical Journal, Vol. I, blz. 294—296, 1914.
- Beller.* *Dermanyssus avium* als Ursache von Massensterben beim Hausgeflügel.
Berliner tierärztl. Wochenschr., blz. 261, 1924.
- Bishopp, F. C.* and *Wood, H. P.* Mites and lice on poultry.
U. S. Dept. Agr., Farmers' Bull, 801, 1917.
- Cornwall, J. W.* and *Kesava Menon, F.* On the possibility of the transmission of plague by bedbugs.
Indian Journal of Medical Research, Vol. V, blz. 137—159, 1917/18.
- Dammann und Oppermann.* Ein erster Einbruch der Wild- und Rinderseuche in die Provinz Hannover.
Deutsche Tierärztl. Wochenschrift, Jg. 13, blz. 293—296, 1905.
- *Simulia ornata* als Vermittler der Wild- und Rinderseuche.
Deutsche Tierärztl. Wochenschrift, Jg. 13, blz. 505—506, 1905.
- Dowson, F.* The dissemination of infectious diseases by insects.
Americ. Vet. Rev., blz. 271, 1901.
- Duncan, J. F.* On a Bactericidal principle present in the alimentary canal of insects and arachnids.
Parasitology XVIII, no. 2, blz. 238—252, 1926.
- Ewing, H. E.* The *Dermanyssid* Mites of North America.
Proceedings United States National Museum, Vol. LXII, Art. 13, blz. 1—26, 1922.
- A Manual of external Parasites, 1929.
- Faichnie, N.* Fly borne enteric fever: the source of infection.
Journ. of the Royal Army Med. Corps, Vol. XIII, blz. 580—584, 1909.
- *Bacillus typhosus* in flies.
Journ. of the Royal Army Med. Corps, Vol. XIII, blz. 672—675, 1909.
- Ficker, M.* Typhus und Fliegen.
Archiv für Hygiene, Bd. 46, blz. 274—283, 1903.
- Francis, E.* and *Mayne, B.* Tularaemia Francis 1921, II. Experimental transmission of tularaemia by flies of the species *Chrysops discalis*.
Public Health Reports, Vol. 36, blz. 1738—1746, 1921.
- Francis, E.* and *Lake, G. C.* Tularaemia Francis 1921, IV. Transmission of tularaemia by the bedbug, *Cimex lectularius*.
Public Health Reports, Vol. 37, blz. 83—95, 1922.
- Francis, E.* Microscopic changes of tularaemia in the tick, *Dermacentor andersoni* and the bedbug, *Cimex lectularius*.
Public Health Reports, Vol. 42, blz. 2763—2772, 1927.
- Gallagher, B. A.* Diseases of Poultry.
U. S. Dept. of Agr., Farmers' Bull, 1337, 1927.

- Gauthier, J. C. et Raybaud, A.* Conservation prolongée du Bacille de Yersin chez les puces (*Ceratophyllus fasciatus*) en sommeil hivernal.
Comptes rendus hebdomadaires des séances et mémoires de la Société de Biologie, Bd. 68, blz. 942—944, 1910.
- Gerlach, F.* Geflügelspirochätose in Oesterreich. II, Mitteilung.
Zentralblatt f. Bakt., Paras. und Infekt.krkh. I Abt., Bd. 94, blz. 45—51, 1925.
- Graham-Smith, G. S.* Flies in relation to disease. Non-bloodsucking flies.
Cambridge, 1914.
- Goodall, F. B.* Recurrent Mange in Horses.
The Veterinary Record, Vol. XIX, Oct. 1906.
- Gude, H.* Die Wild- und Rinderseuche im Regierungsbezirk Marienwerder, insbesondere die während der Kriegsjahre 1915—1919 im Kreise Strassburg (Westpr.) gemachten Beobachtungen.
Archiv f. Wiss. und Prakt. Tierheilkunde, Bd. 52, blz. 483—524, 1925.
- Hankin, E. H.* Note on the relation of insects and rats to the spread of plague.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. und Infekt.krkh. I Abt., Bd. 22, Orig. blz. 437—438, 1897.
- Heelsbergen, T. v.* Handbuch der Geflügelkrankheiten und der Geflügelzucht, 1929.
- Hertel, M.* Über Geflügelcholera und Hühnerpest.
Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte, Bd. 20, blz. 453, 1904.
- Henninger, E.* Dipteren als Überträger von Tierkrankheiten. Sammelbericht.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. und Infekt.krkh. Ref. Bd. 88, blz. 441, 1928.
- Hirst, S.* The principal species of acari parasitic on rats, with brief notes on hosts and distribution.
Ceylon J. Sci., Sect. D, Med. Sci., 1 pt. 4, p.p. 273—276, 1926 (ref. Rev. of appl. Entom., blz. 92, 1927).
- Hindle, E. and Duncan, J. F.* The viability of bacteria in *Argas persicus*.
Parasitology, Vol. 17, blz. 434—446, 1925.
- Hunter, W.* The spread of plague infection by insects.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. u. Infekt.krkh., Abt. I, Bd. 40, Orig. blz. 43—55, 1905.
- Hutyra, v. F. und Marek, J.* Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere, 1922.
- Jettmar v., H. M.* Beiträge zum Studium der Pest unter den Insekten. I Mitteilung. Die Tarbaganlaus.
Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrkh., blz. 551—568, 1925.
- Kaupp, B. F.* Poultry diseases, 1922.
— Parasites of Poultry.
Extension circular no. 160, Apr. 1926. (N. C. Agric. ext. Service.)
- Klee, R.* Geflügelkrankheiten, 1910.
— Schädigung eines Entenbestandes durch *Dermanyssus avium*.
Deutsche Tierärztl. Wochenschrift, Jg. 9, 1901.
- Klodnitzky, N. und Jordansky, V.* Weitere Beobachtungen über die Lebensdauer der Pestbacillen im Organismus der Wanzen.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. und Infektionskrkh., Abt. I, Bd. 55, Orig. blz. 349—352, 1910.
- Kraneveld, F. C. en Djaenoedin, R.* Het vaststellen van Septicaemia Haemorrhagica bij noodslachtingen.
Ned. Indische bladen voor diergeneeskunde. Deel 40, blz. 177—183, 1928.

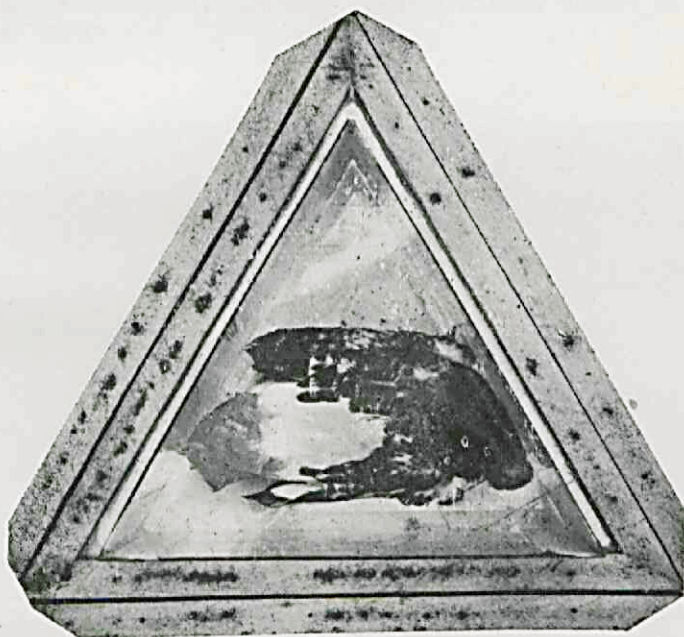
- Krontowski, A.* Zur Frage über die Typhus- und Dysenterieverbreitung durch Fliegen.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. u. Infekt.krkh. Abt. I, Orig. Bd. 68, blz. 586—590, 1913.
- Koegel, A.* Beitrag zur Bekämpfung des Ungeziefers in Geflügelhaltungen.
Berl. Tierärztl. Wochenschr., blz. 534—535, 1924.
- Köhnlein.* Die Vogelmilbe (*Derm. avium*) und ihre Bekämpfung.
Arch. f. Wissensch. u. Prakt. Tierheilkunde, Bd. 53, blz. 144—180, 1925.
- Küster, H.* Die Übertragung bakterieller Infektionen durch Insekten.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. u. Infekt.krkh., Abt. I, Ref. Bd. 33, blz. 90—94, 1903.
- Lamb, G., Liston, W. G., Petrie, G. F., Rowland, S., Gloster, F. H., Kasava, Pai. M., Manker, V. L., Ramachandrier, P. S. und Avari, C. R.* Mitglieder der Kommission zur Erforschung der Pest in Indien. — Bericht über die Pestforschung in Indien.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. u. Infekt.krkh., Abt. I, Ref. Bd. 40, blz. 636—643, 1907.
- Leboeuf, A.* Dissémination du bacille de Hansen par la mouche domestique.
Bull. Soc. Path. Exot. t. V, no. 10, blz. 860—868, 1912.
- Lüpke.* D. Tierärztl. Wochenschr., blz. 356, 1900.
- Macfie, J. W. S. and Thomson, J. G.* A trypanosome of the canary (*Serinus canarius*, Koch).
Trans. Roy Soc. Trop. Med. a. Hyg., Vol. 23, no. 2, blz. 185—191, 1929 (ref. Trop.dis. bull. Vol. 27, no. 4, blz. 282, 1930).
- Maggiore, A. and Tombolato, A.* Osservazioni sul tifo essudativo dei gallinacci o peste aviaria.
Rend. R. Accad. Sci. Ist. Bologna, Classe Sci. fis., XXVII p.p. 200—203, ref. Rev. of appl. entomology, blz. 199, 1924.
- Magnusson, H.* Pasteurellose beim Renntier. Zugleich ein Beitrag zur Kenntniss der biologischen Eigenschaften der Pasteurella.
Zeitschr. f. Infekt.krkh. d. Haustiere, Bd. 15, blz. 61, 1914.
- Manning, J. van Vliet.* Bedbugs and bubonic plague.
Med. Record, Bd. 82, blz. 148—151, 1912.
- Marchoux, E.* Transmission de la lèpre par les mouches (*Musca domestica*).
Ann. de l'institut Pasteur, Bd. 30, blz. 61—68, 1916.
- Martini, E.* Lehrbuch der Medizinischen Entomologie, 1923.
— Verbreitung von Krankheiten durch Insekten.
Ergebnisse der Hygiene, Bakteriologie, Immunitätsforschung und Experimentellen Therapie, Bd. 7, blz. 295—542, 1925.
- Mello, F. de et Cabral, J.* Les insectes sont-ils susceptibles de transmettre la lèpre?
Bull. Soc. Path. Exot. t. XIX, no. 9, blz. 774—777, 1926.
- Morgan, E.* Notes on some diseases in South America transmissible from animals to man.
Vet. Journal, Vol. LXXVIII, blz. 453—461, 1922.
- Nicoll, W.* Flies and typhoid.
Fl. of Hygiene, Vol. XV, blz. 505—526, 1917.
- Nieschulz, O. und Kraneveld, F. C.* Experimentelle Untersuchungen über die Übertragung der Büffelseuche durch Insekten.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. u. Infekt.krkh. Abt. I, Bd. 113, Orig. blz. 403—417, 1929.

- Nöller, W.* Zur Parasitenkunde bei Haus- und Nutztieren.
Deutsche Tierärztl. Wochenschr., Jg. 27, blz. 555—560, 1919.
- Die neueren Ergebnisse der Haemoproteus-Forschung.
Arch. f. Protistenkunde, Bd. 41, 1920.
- Die Wichtigsten parasitischen Protozoen. Teil I, blz. 54—93, 1922.
- und *Kuchling, M.* Zur Züchtung des Schaftrypanosomas und der Schaf-lausrickettsia aus dem Schafblute.
Berl. Tierärztl. Wochenschr., blz. 197—198, 1923.
- Nuttall, H. F.* Zur Aufklärung der Rolle, welche die Insekten bei der Verbreitung der Pest spielen. Über die Empfindlichkeit verschiedener Tiere für dieselbe.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. u. Infekt.krkh., Abt. I, Bd. 22, Orig. blz. 87—97, 1897.
- Zur Aufklärung der Rolle, welche stechende Insekten bei der Verbreitung von Infektionskrankheiten spielen.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. u. Infekt.krkh., Abt. I, Bd. 23, blz. 625—635, 1898.
- Otten, L.* Over den infectiositeitsduur der Indische rattevloo (Loemopsylla cheopis).
Geneesk. tijdschr. v. Ned.-Indië, Deel 57, blz. 309—315, 1917.
- Otto.* Bericht über das Veterinärwesen im Königreich Sachsen für das Jahr 1907. Jg. 52, blz. 47.
- Plasaj.* Sur la transmission du choléra aviaire par les dermanyssus.
Jugoslovenski veterinarski Glasnik. livr. 1—6, ref. Rev. gén. méd. vét. t. 34, blz. 654, 1925.
- Reichenow, Ed.* Die Haemococcidien der Eidechsen.
Arch. f. Protistenkunde, Bd. 42, blz. 179, 1921.
- Reinhardt, R.* Handbuch der Geflügelkrankheiten, 1922.
- Riedmüller, L.* Geflügelspirochätose in der Schweiz.
Schweizer Arch. f. Tierheilkunde, Bd. LXXII, blz. 8—14, 1930.
- Rosenholz, H. P.* und *Owsjannikowa, O. W.* Über die Rolle der Wanzen (Cimex lectularius) und Zecken (Ornithodoros moubata) bei der Übertragung des Milzbrandes.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. u. Infekt.krkh., Abt. I, Bd. 110, blz. 160, 1929.
- Schmidt, F.* Wild- und Rinderseuche in Südbrasilien.
Arch. f. Wiss. u. Prakt. Tierheilkunde, Bd. 52, blz. 18—37, 1925.
- Schönwerth, A.* Abhängigkeit der erfolgreichen Infektion mit Hühnercholera von der Anzahl der dem Tiere einverleibter Bacillen, sowohl bei intramusculärer Infektion als bei Fütterung.
Arch. f. Hyg., Bd. 17, blz. 361—392, 1893.
- Schuckmann, W. v.* Über Fliegen, besonders ihre Rolle als Krankheitsüberträger und Krankheitserreger und über ihre Bekämpfung. (Sammelbericht.)
Zentralbl. f. Bakt., Paras. u. Infekt.krkh., Abt. I, Bd. 81, Ref. blz. 498, 1926.
- Schulze, P.* Ein neues Verfahren zum Bleichen und Erweichen tierischen Hartgebilde.
Sitzungsber. d. Gesellsch. Naturf. Freunde zu Berlin, 1920/21.
- Scott, J. R.* Studies upon the common house-fly (Musca domestica).
Jl. of Med. Research., Vol. 37, blz. 121—125, 1917/18.
- Sluiter, Swellengrebel en Ihle.* De dierlijke parasieten van den mensch en van onze huisdieren, 1921.

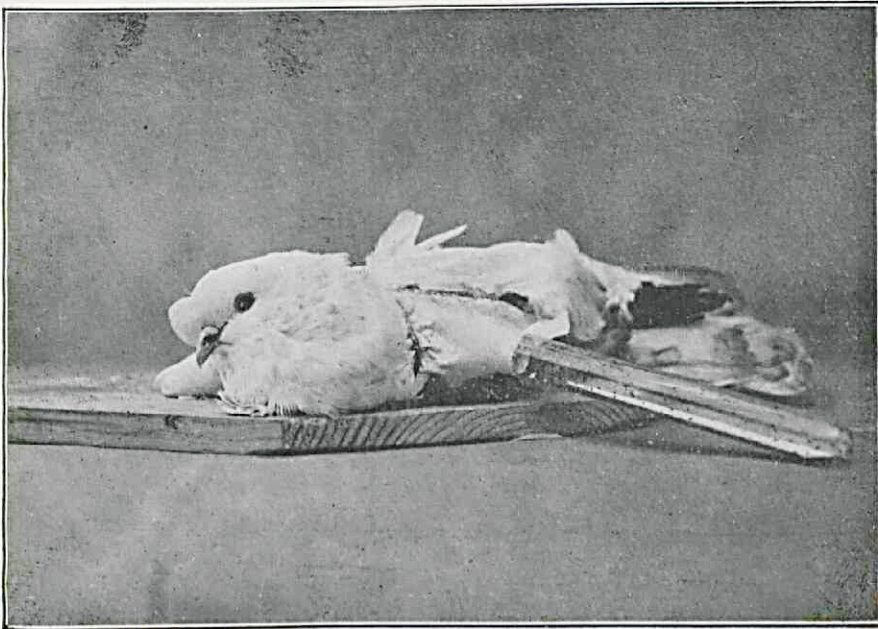
- Steenis, P. B. van.* Enkele gegevens over *Loemopsylla cheopis* en *Pygiopsylla ahala* in verband met de epidemiologie der pest.
Geneesk. tijdschr. voor Ned.-Indië, Deel 63, blz. 570—596, 1923.
- Swellengrebel, N. H. und Otten, L.* Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Übertragung der Pest durch Flöhe und Läuse.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. u. Infekt.krkh., Abt. I, Bd. 74, Orig. blz. 592—603, 1914.
- Ward and Gallagher.* Diseases of Domesticated Birds, 1920.
- Widmann, E.* Zur Frage der Übertragung von Bakterien durch Läuse.
Münch. Med. Wochenschr. Jg. 62 II, blz. 1336—1338, 1915.
- Wollman, E.* Le rôle des mouches dans le transport de germes pathogènes étudié par la technique des élevages aseptiques.
Cpt. rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences, Vol. 172, blz. 298—301, 1921.
- Wood, H. P.* The chicken mite: its life history and habits.
U. S. Dept. of Agric. Bull. 553, 1917.
- Tropical Fowl mite in the United States.
U. S. Dept. Cir. 79, 1920.
- Zirolia, G.* Der Pestbacillus im Organismus der Flöhe.
Zentralbl. f. Bakt., Paras. u. Infekt.krkh., Abt. I, Bd. 31, Orig. blz. 687, 1902.
- Zürn, F. A.* Die Tierischen Parasiten auf und in dem Körper unserer Haus-säugetieren, 1882.



Afb. 1. Zuigplaats der mijten van terzijde gezien. Duidelijk is de onderlinge verhouding van kooi en verzamelplaats der mijten zichtbaar. (Zie blz. 30.)

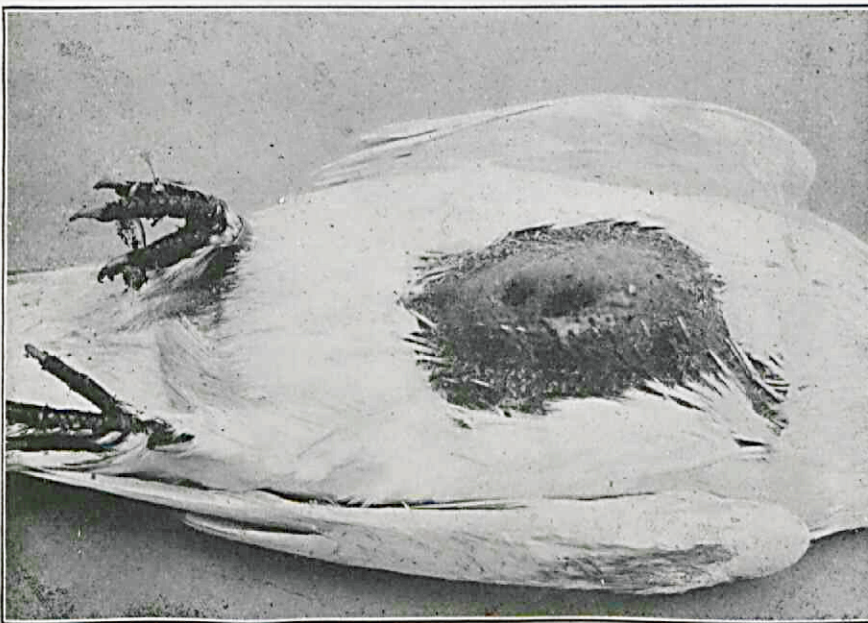


Afb. 2. Zuigplaats der mijten van boven gezien. (Foto genomen 12 uur na 't aanzetten der mijten op choleraduif.) De verzamelplaats (schuilhoek) der mijten is hier geopend door wegnahme van de bovenste helft der gespleten latjes, welke omgekeerd naast de onderste vastzittende latjes zijn geplaatst. De kolonievorming der mijten (zwarte vlekjes) komt hier duidelijk uit. De wijze van het aanbrengen der voorwerp-glaasjes onder de wanden der kooi, ter verkrijging van eenige ruimte daar onderdoor, is vooral aan kopeind van de duif duidelijk zichtbaar.



Afb. 1. Wijze van aanzetten van geïnfecteerde mijten op gezonde proefdieren, zooals dat geschiedde bij de infectieproeven door den steek. (Zie blz. 33.)

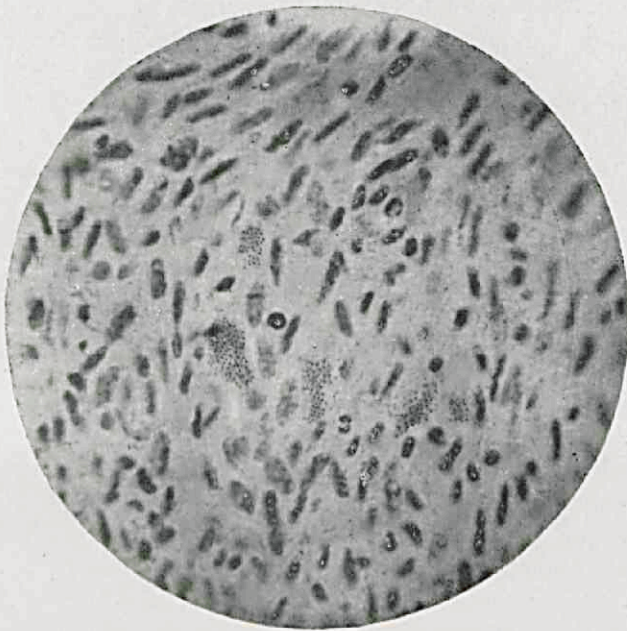
De in het reageerbuisje zichtbare donkere stippen duiden de daarin aanwezige mijten aan.



Afb. 2. Locale huidreactie bij duif 117 (zie exp. 3 (LXXXVII), blz. 61), na subcutane infectie met bacillenhoudende excrementen, 11 dagen na de bacillenopname.

De donkere vlekjes op den haard duiden de plaatsen aan waar het dier werd geïnfecteerd en waar 2 dagen na de infectie punctie werd verricht voor aanleg van culturen.

PLAAT III.



Alb. 1. Microfoto van een darmcoupe van een geïnfecteerde milt, 12—24 uur na de bacillenoopname. (Zie blz. 69.)

Te midden der donker gekleurde kernen der bloedlichaampjes van het opgenomen bloed, liggen de typische opeenhoopingen van de vogelcholerabacillen. Deze hoopjes duiden de vermeerdering aan der oorspronkelijk daar gelegen bacillen. (Ter verduidelijking iets bijgewerkt.)

INHOUD:

	Blz.
Inleiding	7
Hoofdstuk I. Literatuuroverzicht	8
A. Overzicht omtrent de overbrenging van vogelcholera (haemorrhagische septichaemiegroep) door <i>Dermanys-</i> <i>sus avium</i> en andere arthropoden	8
1. <i>Dermanyssus avium</i> als ziekteoverbrenger	8
a. <i>Dermanyssus avium</i> en vogelcholera	9
b. <i>Dermanyssus avium</i> en andere ziekten	9
2. Verschillende andere arthropoden als overbrengers van vogelcholera	10
3. Andere ziekten, tot de haemorrhagische septichae- miegroep behorende, en insecten	11
B. Samenvatting der literatuurgegevens omtrent het lot van pathogene bacillen in arthropoden	14
Hoofdstuk II. Morphologie en biologie van <i>Dermanyssus avium</i>	15
1. Morphologie van <i>Dermanyssus avium</i>	15
2. Verspreiding en voorkomen van <i>Dermanyssus avium</i>	15
3. Ontwikkeling en levensgewoonten van <i>Dermanyssus</i> <i>avium</i>	18
4. Levensduur en weerstandsvermogen van <i>Dermanyssus</i> <i>avium</i>	21
5. Invloed van <i>Dermanyssus avium</i> op haar gastheer	22
6. Enkele biologische waarnemingen	23
Hoofdstuk III. Experimenteel gedeelte	26
A. Materiaal en techniek	26
1. Cholerastam	26
2. Kweeken van <i>Dermanyssus avium</i>	26
3. Verzamelen van hongerende mijten	27
4. Proefdieren	28
5. Tot zuigen brengen van mijten op geïnfecteerde dieren	29
6. Tot zuigen brengen van geïnfecteerde mijten op gezonde proefdieren	32
7. Infectie per os	34
8. Bewaren van geïnfecteerd materiaal	35
9. Verzamelen van excrementen	35
10. Histologisch onderzoek	36
11. Andere arthropoden (<i>Stomoxys calcitrans</i> , <i>Stego-</i> <i>myia fasciata</i> en <i>Ornithodorus moubata</i>)	37
B. Overzicht over de groepen van geïnfecteerde mijten	39
C. De Vogelcholerabacil in <i>Dermanyssus avium</i>	41
1. Levensduur van den bacil in <i>Dermanyssus avium</i> onder verschillende omstandigheden	41

2. Vermeerdering van den bacil in <i>Dermanyssus avium</i>	47
3. Invloed van de aanwezigheid van den bacil op <i>Dermanyssus avium</i>	48
4. Overerving van den bacil op de nakomelingen en passage door de vervellingen	49
a. Eipassage	
b. Passage van den bacil door de vervellingen	
5. Excrementenonderzoek	58
a. Aantoonen van den bacil in de excrementen	
b. Macroscopisch onderzoek van de excrementen	
6. Invloed van een herzuiging op de aanwezigheid van de bacillen in <i>Dermanyssus avium</i>	65
7. Localisatie en ontwikkeling van den bacil in den darm van <i>Dermanyssus avium</i>	69
D. Infectieproeven	72
1. Infectieproeven per os	72
a. Inleiding	
b. Experimenten na 1½—35 dagen	
c. Eindbeoordeeling der resultaten	
2. Infectieproeven door den steek	91
a. Inleiding	
b. Experimenten na ½ uur—15 dagen	
c. Eindbeoordeeling der resultaten	
E. Enkele experimenten met <i>Stomoxys</i> en <i>calcitrans</i> , <i>Stegomyia fasciata</i> en <i>Ornithodoros moubata</i>	106
Samenvatting	109
<i>Zusammenfassung</i>	112
Literatuur	114

STELLINGEN.

I.

Aan *Dermanyssus avium* als ziekteoverbrenger moet meer aandacht besteed worden, dan tot dusver is geschied.

II.

De z.g.n. Kleinsche ziekte en de ziekte veroorzaakt door *Bact. pullorum* zijn identisch.

III.

Bij systematisch onderzoek van melk uit de afzonderlijke kwartieren van een zelfde reeks koeien komen dikwijls sterke uierafwijkingen voor den dag, waarvoor geen bacterieele oorzaak is te vinden. Niet zelden gaan deze afwijkingen gepaard met voorbijgaande duidelijke klinische verschijnselen.

IV.

Wanneer de partus bij een ingetreden hoofdligging bij runderen niet getermineerd kan worden, verdient het aanbeveling de noodzakelijke embryotomie aan te vangen met het wegnemen van het hoofd met behulp van een zegend instrument.

V.

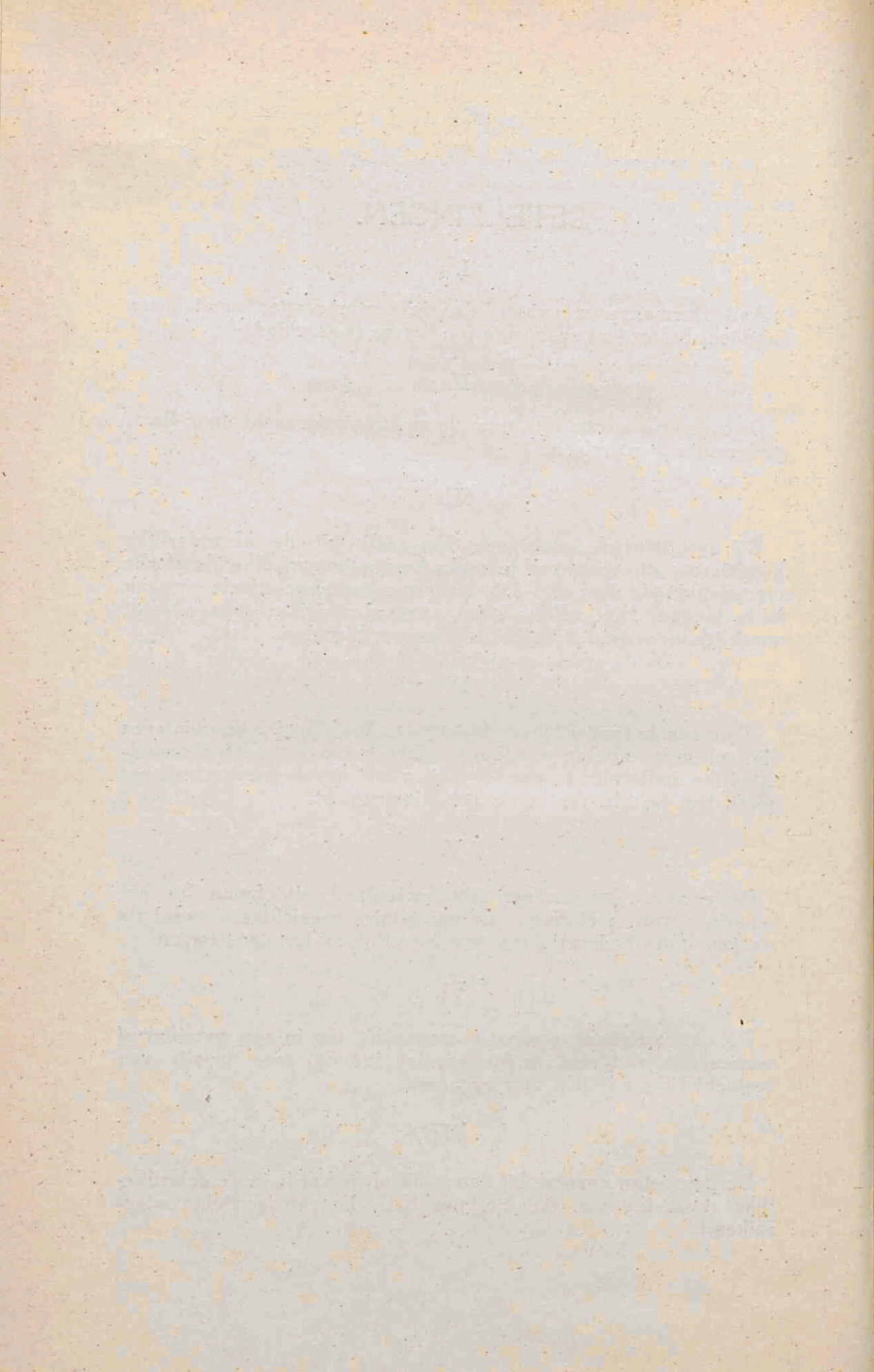
Destructoren kunnen een grooten invloed uitoefenen bij het beperken van bacterieele en parasitaire veeziekten. Vooral de zoogenaamde bodemziekten worden er door teruggedrongen.

VI.

De aanwezigheid van een corpus luteum in een ovarium of ovariotestis van een hermaphrodit is nog geen bewijs van geslachtelijke rijpheid dier organen.

VII.

De pernocton narcose bij den hond of de kat is in de gebruikelijke doseering van 0.3 c.c. per K.G. lichaamsgewicht ontoereikend.



U
19