Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

Bijdrage tot de kennis van het wezen en de toepassing van het antivirus (Besredka)

https://hdl.handle.net/1874/311502

A gec. 192, 1932

Bijdrage tot de kennis van het wezen en de toepassing van het Antivirus (Besredka)

F. A. DE ZEEUW

BIJDRAGE TOT DE KENNIS VAN HET WEZEN EN DE TOEPASSING VAN HET ANTIVIRUS (BESREDKA).

Bijdrage tot de kennis van het wezen en de toepassing van het Antivirus (Besredka)

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE VEEARTSENIJKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS Dr. C. G. N. DE VOOYS, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER VEEARTSENIJKUNDE TE VERDEDIGEN OP DONDERDAG 24 NOVEMBER 1932 DES NAMIDDAGS TE 4 UUR DOOR

FRANS ADRIANUS DE ZEEUW
GEBOREN TE RIDDERKERK

KEMINK EN ZOON N.V. - OVER DEN DOM - UTRECHT

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

Bij het voltooien van dit proefschrift wil ik gaarne van de gelegenheid gebruik maken U, Hoogleeraren, Conservatoren en Prosectoren der Veeartsenijkundige Faculteit mijn erkentelijkheid te betuigen voor het genoten onderwijs.

U, Hooggeleerde *de Blieck*, hooggeachte promotor, betuig ik in het bijzonder mijn hartelijken dank. Dit geldt niet alleen de gelegenheid, die gij mij hebt gegeven gedurende de jaren, dat ik als assistent bij Uw Instituut werkzaam was, dit proefschrift te bewerken, maar tevens de belangstelling en de steun bij mijne onderzoekingen.

Dank ben ik verschuldigd aan U, Hooggeleerde *Wester*, voor de mij geboden gelegenheid enkele proeven in Uwe kliniek te verrichten.

U, Zeergeleerde *Beyers* en *Baudet* ben ik dankbaar voor de belangstelling en den steun, die ik steeds van U heb mogen ondervinden.

Mijn erkentelijkheid gaat tevens uit naar U, Zeergeleerde *Brands*, voor Uwe vele bemoeiingen betreffende de goedaardige droes-proeven. De sympathieke wijze, waarop gij mij steeds te hulp zijt gekomen, zal voor mij een aangename herinnering blijven.

Tevens dank ik U, hooggeachte *Lubberts*, voor Uwe voortdurende medewerking.

Tenslotte rest mij nog een woord van dank aan allen, die hebben medegewerkt aan het tot stand komen van dit proefschrift.

INHOUD.

INLEIDING 1

HOOFDSTUK I. LITERATUUROVERZICHT.

1. Overzicht der Immuniteitstheorieën 4
   A. Phagocytentheorie 8
   B. Humoraaltheorie 12
   C. Bacteriophaag en Immuniteit 15
   D. Locale immuniteit 17
2. Wezen en eigenschapen van het antivirus 22

HOOFDSTUK II. EIGEN ONDERZOEK BETREFFENDE ENKELE EIGENSCHAPPEN VAN HET ANTIVIRUS 40

1. Is gebrek aan voedingsstoffen oorzaak der bacterieremming in oude bouillonculturen? 41
2. Is de pH verandering in de bouilloncultuurfiltraten verantwoordelijk voor de groeiremming? 46
3. Werkt de groeiremmende factor specifiek? . . . 46
4. De beteekenis der filterpassage ten opzichte van de groeiremming 48
   A. Kan filtratie van normale bouillon door Seitz-filters remming geven? 49
   B. Kan filtratie van bouillon door Chamberland L 3 kaarsen remming geven? 50
   C. De invloed van filtratie van bacterieculturen op de remming 51
   D. Waaraan is de groeiremmende factor, welke door filtratie ontstaat, toe te schrijven? 56
5. Is locale immuniteit door remmende normale bouillonfiltraten mogelijk? 59

HOOFDSTUK III. WERKING VAN HET ANTIVIRUS BIJ ENKELE DIERZIEKTEN.

1. Antivirus bij pulloruminfectie der kuikens . . . 64
   A. Antivirus per os of subcutaan. Infectie met cultuur per os 67
   B. Antivirus per os of subcutaan. Contactinfectie . . . 68
   C. Antivirus intramusculair. Contactinfectie 70
   D. Niet gefiltreerde, gedoode bouillonculturen per os. Contactinfectie 72

2. Antivirus bij Klein'sche ziekte . . . . . .
Enkele curatieve prophylactische toepassingen . . . 75
3. Antivirus bij goedaardige droes der paarden . . . 79
Beschrijving der ziekte 80
Literatuuroverzicht van bereikte resultaten bij curatieve en preventieve behandeling van goedaardige droes . 82
Preventieve toepassingen van het antivirus bij jonge remontepaarden 93
Curatieve toepassing van het antivirus 115

SAMENVATTING EN CONCLUSIES 122

LITERATUUR 124

INLEIDING.

Antivirus voor therapeutische of preventieve doeleinden wordt in Nederland, voor zoover mij bij navraag is gebleken, door artsen zelden en ook door veeartsen slechts bij uitzondering toegepast.

Geheel anders schijnt dit te zijn in enkele andere Europeesche Staten. Hiervan getuigt althans één van *Besredka*'s laatste werken, getiteld „Antivirus-therapie", dat voor een groot gedeelte een verzameling is van resultaten die in de practijk werden bereikt met antivirus bij de meest uiteenloopende bacterieele ziekten zoowel bij mensch als dier.

Dit zijn bijna uitsluitend gunstige resultaten en hoewel bij een nadere bestudeering der literatuur al spoedig blijkt dat selectie hierbij niet vreemd is geweest, toch heeft dit werk in hooge mate bijgedragen tot vermeerdering van mijn belangstelling voor het „antivirus".

Met het begrip „antivirus" is ten nauwste de naam *Besredka* en zijn immuniteitstheorie, bekend onder den naam „locale immuniteitstheorie", verbonden.

In deze theorie brengt *Besredka* als zijn meening naar voren dat het verloop van een infectie afhankelijk is van de gesteldheid van een bepaald orgaan of orgaansysteem.

Het is bekend dat men langen tijd van meening was dat de meeste pathologische processen zich in het bloed afspeelden, welke opvatting door de ontdekking der phagocytose en later door die der serumtherapie werd ondersteund.

Jongere onderzoekingen brachten echter aan het licht dat bij bepaalde ziekten een zekere autonomie der organen niet was te ontkennen en men is langzamerhand gaan inzien, zoo zegt ongeveer *Besredka*, „dat neus, oog, mond hun eigen ziekten hebben evenals het bloed de zijne en andere organen de hunnen."

Sedert bovendien door experimenteele onderzoekingen was aangetoond dat ook een *locale* immuniteit mogelijk was heeft men getracht bepaalde celgroepen te immuniseeren.

Vooral bij de mensch, maar ook in de diergeneeskunde

heeft men een groot aantal infectieziekten van oog, neus, oor, mond, darm, genitaalapparaat en huid door locale vaccinatie gunstig kunnen beïnvloeden en dit heeft bovendien het bewijs geleverd dat in veel gevallen bij locale toepassing van het vaccin een infectie gemakkelijker kan bestreden worden dan met toepassing van de vaccintherapie langs parenteralen weg.

Het mag wel verwondering wekken dat het denkbeeld dat aan de theorie van *Besredka* ten grondslag ligt een vijftigtal jaren heeft noodig gehad alvorens het een nieuwe strooming in de immuniteitsleer kon teweeg brengen, want hoewel *Besredka*'s opvattingen de laatste tien jaren pas naar voren zijn gekomen en aanhangers hebben gevonden was de fundamenteele gedachte zeker niet nieuw te noemen.

Reeds in 1877 was *Buchner* tot een voor die dagen afwijkende opvatting der pathologie gekomen welke, naar hij zelf zegt, onder den invloed van de leer van *Lister* stond.

Tijdens een voordracht voor de leden van de morphologisch-physiologischen Gesellschaft te München zegt hij: „dasz die auf irgend einem Weg in den Kreislauf gelangten Mikroorganismen zunächst in einfach mechanischer Weise im ganzen Körper durch das kreisende Blut verteilt worden um allmählich beim Durchgang durch die Kapillarbezirke in den verschiedenen Stellen haften zu bleiben und dort in Konkurrenz mit den Gewebszellen zu treten".

Buchner wijst er verder op, dat de omstandigheden in verschillende organen voor een bepaald microorganisme geheel verschillend zijn.

„Auf Grund dieser Verhältnissen", vervolgt hij, „ergibt es sich nun dasz ein Spaltpilz von bestimmten Eigenschaften der in den Blutkreislauf gelangt ist, innerhalb des Menschlichen Körpers nicht an alle Stellen gleiche Aussichten für seine Existenz antreffen kan; vielmehr wird es nur ein bestimmtes Organ oder eine bestimmte Organgruppe sein, welche die relativ günstigsten Bedingungen für seine Lebensstätigkeit enthält."

Het gecompliceerde organisme, meent hij dus, valt voor de bacteriën in evenzoovele aparte en geheel verschillende deelen of soorten van organen uiteen als er physiologisch en morphologisch verschillende weefselsoorten zijn.

In het primair geïnfecteerde orgaan of weefsel komt het tot een reactieve ontsteking die aan de vermeerdering der ingedrongen microorganismen paal en perk stelt.

Deze reactie is de oorzaak van immuniteit van het orgaan tegen het ingedrongen microorganisme en geeft daardoor immuniteit aan het geheele lichaam, daar alleen in dit orgaan de smetstof in staat zou zijn geweest zich te vermeerderen.

De onder invloed der infectie opgetreden reactieve ontstekingen zijn voor *Buchner* het uitgangspunt van een min of meer langdurige immuniteit van het geheele lichaam.

„Das spezifische der Immunität gegenüber verschiedene Infektionskrankheiten liegt sonst nicht in der Qualität einer allgemeinen Körperveränderung, sondern in der Lokalität der jeweiligen Veränderung."

Toch heeft men bij latere studies over het probleem der immuniteit niet voldoende rekening gehouden met *Buchner's* opvattingen.

Eerst in 1921 heeft *Besredka* in zijn werk „Cutiinfection — cutivaccination — cutiimunité" de leer van de autonomie der organen weer op den voorgrond geplaatst en zij is onder zijn leiding het uitgangspunt geworden van een nieuwe strooming in de immuniteitsleer, die der locale immuniteit.

Aanvankelijk bediende *Besredka* zich voor zijn locale immunisatieproeven van gedoode bacterieculturen.

Het bleek hem echter dat een bepaald bacterieproduct — door hem „antivirus" genoemd — het voor immunisatie werkzame principe bevat.

Antivirus werd bij verschillende bacteriesoorten aangetoond o.a. bij staphylo- en streptococcen, cholera vibrionen, typhus bacteriën en coli bacillen.

Mogelijke perspectieven, die de toepassing van het antivirus voor de diergeneeskunde zou kunnen opleveren, liggen aan de bewerking van dit proefschrift ten grondslag.

Daar immuniteit, door antivirus opgewekt, volgens *Besredka's* hypothese op geheel andere gronden berust dan de klassieke immuniteitstheorieën aangeven, heb ik gemeend bij de literatuur over het wezen van het antivirus wat langer te moeten stilstaan en tevens vooraf een overzicht te moeten geven van de grondslagen der theorieën, die ieder op hun

eigen wijze het probleem der immuniteit trachten te verklaren.

De eigen onderzoekingen betreffen in hoofdzaak de studie van enkele der eigenschappen van het antivirus, o.a. de groeiremming, terwijl tevens een bijdrage wordt geleverd tot de kennis van de beteekenis van het antivirus zoowel uit preventief, als uit curatief oogpunt voor enkele dierziekten.

HOOFDSTUK I.

LITERATUUROVERZICHT.

1. Overzicht der Immuniteitstheorieën.

Het idee der vaccinatie en het begrip der immuniteit dateeren reeds van eeuwen her.

De primitieve Siameezen, Asjantis en Chineezen kenden reeds het principe der actieve immunisatie. Zij brachten, om zich tegen pokken te vrijwaren, ingedroogde korsten van pokkenlijders onder het neusslijmvlies of onder de huid. Ook stelde men zich, voor zoover men hiertoe in de gelegenheid was, bij goedaardig verloopende epidemieën opzettelijk aan besmetting bloot.

De inwoners van Senegambie pasten zelfs, om hunne dieren tegen longziekte te vrijwaren, een vaccinatie toe die op één lijn is te stellen met de cutivaccinatie zooals wij die kennen.

De wetenschappelijke phase voor de leer der immuniteit wordt ingeluid door *Pasteur* in 1879.

In dat jaar bestudeerde *Pasteur,* met zijn medewerkers *Roux* en *Chamberland,* de hoendercholera.

Na een tijdelijke onderbreking der onderzoekingen bemerkten zij, dat de eerst zoo virulente cholerabacil aan pathogeniteit voor de kip had ingeboet.

Wie schetst echter de verwondering der onderzoekers, toen de kippen, die hierdoor aan den dood waren ontkomen, ook niet stierven als zij met versche en virulente culturen werden ingespoten.

Aan dit cholera-experiment knoopte *Pasteur* een theoretische beschouwing vast, die hij aan het volgende ontleende:

Hij bracht ovale bacillen in bouillon en wachtte 3—4 dagen; daarna volgde filtratie en werd de bouillon opnieuw geënt. Hij merkte dan op dat zoo goed als geen groei optrad.

Het milieu, zoo dacht *Pasteur* zich, is uitgeput, als het ware

gevaccineerd tegen de nieuw ingebrachte kiemen. Hetzelfde zou, volgens *Pasteur*, zich in het lichaam afspelen.

Een niet behandelde kip draagt in de lichaamsvloeistoffen voedingsstoffen voor de ovale bacillen bij zich, bij een gevaccineerde kip zijn deze voedingsstoffen zoo goed als verdwenen, daar zij gebruikt zijn door de ingebrachte bacteriën.

Voor de natuurlijke ongevoeligheid geeft *Pasteur* een analoge verklaring:

„Ces derniers (dit zijn de dieren met een natuurlijke resistentie), sont comme vaccinés de naissance pour cette maladie parce que l'évolution foetale n'a pas introduit dans leur corps des aliments propres à la vie de microbes ou que ces matières nutritives ont disparu dans leur jeune age".

Pasteur schrijft dus zoowel de verkregen als de natuurlijke immuniteit toe aan hetzelfde principe: in beide gevallen kan de smetstof niet tot ontwikkeling komen door gebrek aan voedingsstoffen.

Omstreeks de tachtiger jaren van de vorige eeuw bracht *Koch* zijn methode om de morphologie der bacteriën te bestudeeren en om ze te cultiveeren. In een korte tijdsperiode werden met deze hulpmiddelen een rij van ontdekkingen gedaan die van tal van zijden bevestigd en uitgebreid werden.

De bijna steeds met onfeilbare zekerheid verloopende laboratoriumproeven, het constante voorkomen van pathogene kiemen in pathologische producten en vele dergelijke feiten deden de meening postvatten dat het probleem der infectieziekten althans in principe was opgelost.

De voorwaarde voor het optreden van een infectieziekte was gelegen in de aanwezigheid van specifieke bacteriën en alleen één opgave bleef voor de toekomst weggelegd: van alle mogelijke processen de verwekker op te sporen en diens eigenschappen te bestudeeren.

Deze opvatting viel samen met groote verbeteringen in de microscopische techniek en waren oorzaak dat de microscopische bacteriologie ware triomphen vierde.

Toch zijn er reeds vroegtijdig mannen geweest als *Virchow* en *Pachini* die er op wezen dat het niet opging om bijv. bij cholera, hoewel de choleravibrio als „causa morbi" was te beschouwen, de aard der ziekte en haar verloop alleen toe te schrijven aan het aantal choleravibrionen dat in den darm

aanwezig was, maar dat dit werd beheerscht door een zeer samengestelde formule waarbij de vitale factoren de hoofdrol speelden.

Het is niet mogelijk, zoo zegt *Virchow* in 1880, in Virchow's Archief, om bij de meest afgebakende richting in de pathologie het *leven* te elimineeren, en wij moeten er voor waken dat wij alleen uit zucht om de zaken simpel voor te stellen niet de grondslagen der biologie uit het oog verliezen.

De neiging om bij het opsporen van ziekteverwekkende kiemen het wezen der infectie te verwaarloozen was evenwel zoo sterk dat de nog jonge bacteriologische wetenschap dreigde in discrediet te geraken. Eerst in het begin der twintigste eeuw toen de ontdekkingsroes begon te verflauwen kwam men langzamerhand tot de overtuiging dat, hoewel de bacterie de „conditio sine qua non" beteekent, zijn uitwerking op het organisme nog door geheel andere factoren wordt beheerscht.

In de daaropvolgende jaren werd bovendien door tal van onderzoekingen het bewijs geleverd dat dikwijls pathogene microorganismen voorkomen zonder dat van die aanwezigheid door het optreden van ziekteverschijnselen wordt blijk gegeven.

Ter verklaring van deze feiten heeft men toen het begrip „individueele gevoeligheid" opgesteld, een begrip dat ook reeds *Pasteur* bij de bestudeering van vogelcholera naar voren bracht.

Onder invloed hiervan was men dus gedwongen de oude gedachtengang, waarbij men het optreden van een infectieziekte geheel beschouwde afhankelijk te zijn van het indringen van pathogene microben in een levend wezen, te laten varen.

Men zag dat een invasie van pathogene microorganismen aanslaat als zij op een geschikten „bodem" komen en dat zich dan een strijd ontspint tusschen het organisme en de bacteriën waarvan de uitslag afhankelijk is, eenerzijds, van het aantal en de virulentie der ingedrongen microorganismen, anderzijds van de het lichaam ter beschikking staande verweerkrachten.

Niet anders dan langs omwegen en na grooten pennestrijd tusschen de verschillende onderzoekers was men tot deze op-

vatting, die den grondslag vormt voor de meest bekende immuniteitstheorieën, gekomen.

Zoo verdedigde *Billroth* langen tijd de hypothese dat voor een vermeerdering der bacteriën in een levend lichaam een „fäuliche Zerzetsung" noodzakelijk was. Deze opvatting stond waarschijnlijk sterk onder den invloed van het sedert *Leeuwenhoek* bekende feit dat in doode organismen en vloeistoffen die organische stoffen bevatten gemakkelijk vermeerdering der bacteriën optreedt.

Langen tijd was ook *von Baumgarten* van meening dat het niet aanslaan van pathogene microorganismen moet worden toegeschreven aan een voor de bacteriën niet te verdragen osmotische spanning.

Deze beide geleerden meenden dus het uitblijven van bacteriënvermeerdering in het levend lichaam aan passieve omstandigheden te moeten toeschrijven.

Geheel anders was dit echter bij de door *Metchnikoff* ontworpen cellulair-theorie en de zich onder *Pfeiffers'* leiding ontwikkelende humoraaltheorie, die beiden het uitblijven of overwinnen van bacterieele ziekten aan iets actiefs toeschreven, dat verweerkracht werd genoemd.

Zoowel *Metchnikoff's* phagocytentheorie als *Buchner's* humoraaltheorie tracht een bevredigende verklaring te geven voor antibacterieele ongevoeligheid.

Een kort overzicht van de grondslagen dezer beide klassieke theorieën, aangevuld met die der locale immuniteitsleer en de bacteriophaag als immuniseerend principe, volgt hier.

A. Phagocytentheorie.

Als jong zoöloog bestudeerde *Metchnikoff* de digestieve functies bij laag en hoog georganiseerde diersoorten. Het bleek hem dat de intracellulaire digestie niet alleen bij lagere wezens als protozoën en dergelijke voorkomt, maar dat men dit ook bij hooger georganiseerde wezens kan waarnemen.

Omstreeks 1880 dacht men dat phagocyten dienden om gebruikte en voor het lichaam nuttelooze stoffen op te ruimen en dat zij ook een rol speelden voor de verdediging van het organisme tegen schadelijke vreemde lichamen.

Vooral de verdedigende beteekenis der phagocyten komt

sterk naar voren als het aan *Metchnikoff* gelukt bij een geheele dierenreeks, van laag tot hoog georganiseerde wezens, cellulaire reacties aan te toonen, die optreden als men in het organisme vreemde lichamen of infectieus agens brengt.

Zijn eerste experimenten werden verricht bij de doorschijnende larven van de zeester. Bij het inbrengen van vreemde lichamen als kleurstoffen (inkt, carmijn) zag hij dat de kleurstofpartikeltjes door de phagocyten werden opgenomen en langzaam gedigereerd. Ook bij injectie van levende microben werd hetzelfde waargenomen, zij werden geheel opgenomen en verteerd.

De proeven werden uitgebreid bij dieren van hooger orde tot aan de zoogdieren toe. De resultaten bleven steeds dezelfde. Of een microbe ingebracht werd bij een lager wezen of bij een zoogdier met zenuwstelsel en circulatiesysteem, de ractie die er op volgde was in wezen steeds identisch: de amoeboide mesodermcellen en de leucocyten der vaten komen door een mysterieus mechanisme naar de ingebrachte kiemen, zij leggen zich er tegen aan, omhullen en digereeren ze en reinigen op deze wijze de plaats waar zij hun ontstekinggevende werking zouden ontplooien. Door deze onderzoekingen van *Metchnikoff* werd ook het probleem der ontsteking nader belicht.

Bij de hoogere wezens is het phenomeen der ontsteking door het optreden van vasomotorische reacties meer gecompliceerd dan bij de lagere wezens, maar bij beide categorieën komt het op hetzelfde neer: de mobiele cellen versus de ingebrachte lichamen.

Reeds *Pasteur*, en met hem vele andere geleerden, had de vraag gesteld waardoor het was te verklaren dat ingebrachte kiemen in een refractair lichaam niet tot vermeerdering kwamen.

Hiervoor gaf *Metchnikoff* een eenvoudige biologische verklaring, ontleent aan het digestief vermogen der witte bloedcellen zooals hij die had waargenomen.

Absolute immuniteit, zoo zei hij, is het resultaat van geheele en snelle destructie der geïnjiceerde bacteriën. De relatieve immuniteit kon door hem experimenteel worden verklaard.

De zoetwaterkreeft (Daphines) is geheel transparant. Deze

kreeften zijn dikwijls geïnfecteerd met een schimmel (Bronospora bicupisdata) waarvan de sporen na passage van den wand van de darmtractus in het coeloom terecht komen. Zoodra zij daar aangekomen zijn worden zij een prooi der leucocyten. Kan men echter bewerkstelligen dat de sporen eenigszins tot ontwikkeling komen, n.l. door de phagocytose te vertragen, dan gaat de kreeft aan de schimmelinfectie ten gronde.

Dit was voor *Metchnikoff* het bewijs dat de natuurlijke resistentie berust op phagocytaire werking.

Hoe staat het bij de verkregen immuniteit?

Het verschil tusschen gevaccineerde en niet-gevaccineerde dieren bestaat volgens de cellulaire leer hierin dat de leucocyten aggressiever zijn geworden door de inspuiting van het vaccin en de eigenschappen hebben gekregen de ziektekiemen snel te dooden.

Spuit men bij een niet-gevaccineerd konijn streptococcen in, dan gaan zich die streptococcen ontwikkelen en vermeerderen, wat mogelijk is doordat de leucocyten door secretieproducten der microben op een afstand worden gehouden. Tenslotte overstroomen de streptococcen het lichaam en dooden het dier spoedig.

Bij gevaccineerde konijnen komt het op de plaats der injectie tot ophooping van witte bloedcellen, die, inplaats van dat zij worden tegengewerkt, naar den ontstekingshaard worden getrokken en de indringers vernielen.

Vaccinatie heeft dus verandering gebracht in het gedrag der leucocyten tegenover de ingedrongen micro-organismen.

Metchnikoff heeft nog tal van andere experimenten verricht om het verband aan te toonen tusschen immuniteit en phagocytose en tusschen afwezigheid der phagocytose en gevoeligheid.

Toen door *Fodor* in 1877 voor het eerst en later ook door *Pfeiffer* de bactericide kracht van bloed van gevaccineerde dieren werd aangetoond, was *Metchnikoff* genoodzaakt zijn leer een ruimere strekking te geven zonder haar grondslag daardoor te ondermijnen. Hij trachtte dit te doen door aan te toonen dat de leucocyten noodig waren voor het ontstaan der antistoffen en dat deze de fermenten waren waardoor de

leucocyten de opgenomen microben konden digereeren, welke fermenten tijdens de bloedstolling vrij in het serum zouden komen.

Hieruit volgt dus dat *Metchnikoff* direct verband wilde leggen tusschen de cellulaire immuniteitsleer en de leer die de immuniseerende werking wil toeschrijven aan het optreden van humorale eigenschappen.

Resumeerende zien we dat *Metchnikoff's* leer, welke hij in 1883 verkondigde en die gedurende tal van jaren door de aanhangers der humorale theorie is aangevallen en bestreden, berust op een algemeen biologisch begrip dat door eenvoudige suggestieve experimenten wordt gesteund. Zij schrijft de immuniteit van het lichaam niet toe aan een nieuwe bijzondere functie, die haar ontstaan heeft te danken aan het binnendringen van voor het lichaam pathogene kiemen, maar zij beschouwt dit als een onderdeel van een algemeene functie, de functie van intracellulaire digestie der witte bloedcellen, wier wijze van werken evengoed wordt gevonden bij de voeding der laagste organismen, als bij de zuivering en tenslotte het verweer bij de hooger georganiseerde wezens tegenover de invasies der microben. Niet door iedereen wordt de cellulaire theorie, zooals *Metchnikoff* die geeft, aangenomen en zeker niet voor zoover het betreft het verband tusschen antilichamen en leucocyten, maar zij heeft toch de groote verdienste dat zij de beteekenis der cellige elementen voor de immuniteit naar voren heeft gebracht en dat het aandeel dat deze elementen voor de immuniteit hebben als een der fundamenten moet worden beschouwd.

Steeds komt de destructie door de leucocyten bij de verdediging van het organisme op den voorgrond, hetzij dat deze het gevolg is van natuurlijke ongevoeligheid of van immuniteit tengevolge van vaccinatie of preventieve serumbehandeling.

Toch blijkt het dat de phagocytentheorie niet geheel compleet is wanneer wordt aangetoond dat leucocyten, die van alle bloed zijn ontdaan, in veel mindere mate phagocyteeren dan onder normale omstandigheden. Dit blijkt afhankelijk te zijn van de immuniteitsphase waarin het dier, waarvan de leucocyten afkomstig zijn, zich bevindt. Voor saprophy-

tische microorganismen voltrekt de omhulling zich normaal, maar voor pathogene kiemen blijft zij achterwege.

Het is niet te verwonderen dat ter verklaring van deze waarneming gedacht werd aan de lichaamsvochten.

Zonder dat *Metchnikoff* hiervoor het bewijs leverde, nam hij aan dat in het bloed van gevaccineerde dieren een substantie voorkomt, die de phagocyten actief maakt. Deze stof noemde hij *stimuline*.

Wright en *Douglas* en ook *Denys* en *Leclef* hebben aangetoond dat het lichaamsvocht van gevaccineerde dieren en ook van niet-gevaccineerde dieren een stof bevat, die grooten invloed heeft op de phagocytose, ja zelfs onmisbaar er bij is. Deze stof werkt niet, zooals *Metchnikoff* zich dacht, stimuleerend op de phagocyten, maar zij werkt op de microben zelf, waarvan het een minder weerstandbiedende prooi kan maken.

Deze stof kreeg den naam van *opsonine* en aldus gecompleteerd heeft zich de phagocytentheorie, schier zonder eenige verandering en steeds grooter aanhang vindende, gemakkelijk staande gehouden.

B. Humoraaltheorie.

Kort nadat *Metchnikoff* den grondslag had gelegd voor zijn phagocytenleer, toonden *Fodor*, *Nuttall* en *Buchner* in de jaren 1888—1892 aan, dat gedefibrineerd bloed en serum van diverse dieren de eigenschap hebben microorganismen meer of minder snel te dooden. Zoo doodt serum van een hond in vitro een emulsie van typhusbacillen in minder den 5 uur, terwijl konijnenbloed zelfs miltvuurbacillen in nog korteren tijd doodt.

Het was vooral *Buchner*, die op grond van zijn onderzoekingen, waarbij hij had gezien dat de werkzaamheid van bloed en bloedserum bij verhitting tot 55° C., bij laten staan, onder invloed van zonnestralen en bij dialyseeren verdwijnt, tot de conclusie kwam dat de werkzame substantie van het serum van fermentachtige natuur moest zijn en veel overeenkomst had met albuminoide fermenten.

De aanwezigheid van dit ferment, zoo meende *Buchner*, verhindert de overstrooming van het organisme door de

microben; deze worden door het ferment, dat hij *alexine* heeft genoemd, gedood.

Behalve de bactericide werking van het bloedserum, bleek ook dat tegenover diersoort vreemde roode bloedcellen een soortgelijke werking bestaat.

Buchner toonde aan dat het alexine en deze globulicide stof identisch zijn.

Het is niet te verwonderen, dat men aanvankelijk de natuurlijke immuniteit tegenover een bepaalde bacterie aan de bactericide kracht van het serum wilde toeschrijven. Zoo wees *Behring* er op, dat rattenserum sterk bactericide is voor miltvuurbacillen en dat de rat voor miltvuur groote ongevoeligheid bezit. Hoewel dit door meerdere voorbeelden aannemelijk werd gemaakt, bleek het toch, dat er dikwijls geen parallelisme bestaat tusschen natuurlijke ongevoeligheid en bactericide kracht van het serum.

Nadat *Behring* en *Kitosato* bij dieren, die geïmmuniseerd waren tegen diphtherie en tetanus, hadden aangetoond dat deze immuniteit berustte op z.g. antitoxische stoffen, die de toxinwerking dezer bacteriën opheffen en dat deze ook met het serum van het eene dier op het andere kunnen worden overgebracht, kreeg de studie van de bactericide eigenschappen van de vloeistoffen een nieuwe wending door de onderzoekingen van *Pfeiffer*.

Pfeiffer heeft aangetoond dat cholera vibrionen, die gebracht werden in het abdomen van een tegen cholera geïmmuniseerde cavia, spoedig hun bewegelijkheid en vorm verliezen, om tenslotte geheel in kleinere granula uiteen te vallen.

Hiermede had *Pfeiffer* het bestaan van antibacterieele immuniteit bewezen. Hij meende dat voor de bacteriolytische werking levend weefsel, in casu endotheelcellen van het peritoneum, noodig was, omdat het hem niet gelukte dit verschijnsel in vitro te verwezenlijken. Dit bleek echter niet juist, want later toonde *Bordet* aan dat ook in vitro, zonder de aanwezigheid van cellen, bacteriolyse is te verkrijgen.

Behalve de antitoxische en bacteriolytische eigenschappen van immuunserum heeft men nog andere antistoffen gevonden, o.a. agglutininen, die bacillen in homogene suspensie

agglutineeren en praecipitinen, die oplosbare bacterieproducten praecipiteeren.

Groote perspectieven voor de studie der immuniteitsleer werden geopend door de onderzoekingen van *Bordet*.

Door inspuiting van roode bloedcellen van konijnenbloed bij een cavia bleek dat het serum van deze cavia zoodanige eigenschappen kreeg, dat hiermede bloedlichaampjes van het konijn tot lysis konden worden gebracht.

Het lysine der roode bloedlichaampjes is ontstaan in aansluiting op de injectie van avirulente, onschadelijke, alleen soortvreemde roode bloedcellen. Hiermede werd het bewijs geleverd, dat virulentie of toxinevorming voor de vorming van antilichamen niet noodzakelijk is, maar dat de physisch-chemische samenstelling der ingespoten substanties hierbij beslissend is.

Ook is het *Bordet* geweest, die de werking der lysinen nader heeft bestudeerd. Door verwarming kon hij een lysine afscheiden, dat aansprakelijk is te stellen voor de specificiteit der immuniteit, het andere is een in alle sera voorkomende factor en identisch met *Buchner's* alexine.

Het bleek dat zonder deze laatste factor geen lysis van roode bloedcellen, microben of welke de lysable elementen ook mochten zijn, mogelijk is.

Haar beteekenis voor de verdediging van het gevoelige normale organisme is waarschijnlijk gering, maar zij is zeer groot bij de verkregen immuniteit.

De specificiteit der immuniteit is gebonden aan een tijdens het immunisatieproces optredende nieuwe eigenschap, die berust op het ontstaan van amboceptoren (substance sensibilisatrice), die tot taak hebben de microben gevoelig te maken voor de bacteriolytische werking van het alexine (complement).

Evenals *Ehrlich* voor de antitoxische immuniteit een theoretische verklaring van het mechanisme gaf, zoo heeft hij ook voor de antibacterieele immuniteit een bevredigende verklaring kunnen geven, die is neergelegd in de „Seitenkettentheorie".

Deze „Seitenkettentheorie" heeft een zeer gunstigen invloed op den bloei der humorale theorie gehad, daar de groote in-

druk die zij maakte, jarenlang de critiek, die er op was uit te oefenen, heeft tegengehouden.

„Die Blicken zahlreicher Forscher wurden durch die immer erneuten Triumphe der Ehrlichen Konstruktionskunst dauernd vollständig gebannt", zoo schrijft *Sauerbeck* nog in 1912.

De reeds genoemde ontdekkingen van *Wright* en *Douglas* hebben tenslotte de humorale en cellulaire theorie dichter bij elkaar gebracht. Zij leverden het bewijs, dat de cellulaire factoren onder directen invloed staan van humorale eigenschappen.

C. Bacteriophaag en Immuniteit.

Nadat reeds enkele onderzoekers, als *Hankin* en *Twort*, vóór *d'Hérelle* de werking der bacteriophaag voor het eerst hadden gezien, maar er niet voldoende waarde aan hadden gehecht, toonde de laatste het bestaan er van aan bij een patient met Shigadysenterie.

Bacteriophaag wordt door *d'Hérelle* beschouwd als een parasiet der bacteriën en de bestudeering der eigenschappen omtrent zijn werking en veranderingen in normale en pathologische gevallen hebben geleid tot het opstellen van een hypothese ter verklaring der immuniteitsverschijnselen, die sterk afwijkt van de bestaande denkbeelden over immuniteit en daarom zeer zeker origineel genoemd kan worden.

Volgens *d'Hérelle* komt in de darm van gezonde dieren bacteriophaag voor, die zich ten koste der saprophyten staande houdt.

Wanneer nu pathogene microorganismen in het lichaam binnendringen, gaat de bacteriophaag zich op deze indringers instellen, dat wil zeggen, wordt virulent voor deze, wordt hun parasiet, vermenigvuldigt zich in het bacterielichaam en vernietigt ze, voordat ze den tijd hebben gehad hun werking te doen gelden.

Natuurlijke resistentie tegenover een bepaalde infectie berust op de aanwezigheid van een op de indringers ingestelde bacteriophaag. In geval er geen correspondeerende bacteriophaag wordt aangetroffen, verhindert niets de ontwikkeling en vermeerdering der microorganismen meer en slaat de infectie aan.

In den loop van een ziekte zou de bacteriophaag zich meer en meer richten tegen de pathogene kiemen, totdat de virulentie zoo hoog is opgevoerd, dat zij zich gemakkelijk kan ontwikkelen, de pathogene smetstof vernietigen en de genezing bevorderen.

De ziektekiemen op hun beurt echter kunnen zich eveneens verdedigen tegen de parasieten en refractair worden voor de schadelijke werking van de bacteriophaag. In dat geval verloopt de ziekte fataal, daar de bacteriophaag niet in staat is de bacteriën te vernietigen.

Tenslotte neemt *d'Hérelle* aan, dat de bacteriophaag met de bacteriën van individu op individu overgaat. Het verloop van een epidemie valt hierdoor te verklaren. Een epidemie zal tot staan komen als alle gevoelige individuen over een bacteriophaag beschikken, die actief werkzaam is tegen den verwekker der epidemie.

Treedt er een blijvend evenwicht tusschen bacterie en bacteriophaag op, dan blijft de patient chronisch lijder en zal cachectisch ten gronde gaan.

De werking der bacteriophaag bij natuurlijke en experimenteele ziekten schraagt de hypothese van *d'Hérelle*.

Zoo gelukte het *d'Hérelle* bij buffelsepticaemie met bacteriophaag te immuniseeren. Hij nam hierbij waar, dat de dieren in den beginne als het ware passief geïmmuniseerd waren door de aanwezigheid der bacteriophaag. Daarna trad een stadium van gevoeligheid in, dat tenslotte weer overging in grondige langdurige actieve immuniteit.

Bij dysenterie van den mensch kregen behalve *d'Hérelle* ook *Da Costa, Cruz, Spence* en *Mc.Kinley, Otto* en *Munter* goede resultaten.

Bij de ziekte van *Klein* bij kippen kon *d'Hérelle* door toediening van bacteriophaag de epidemie coupeeren, hetgeen door onderzoekingen van *Kramer* ten deele kon worden bevestigd.

Meerdere onderzoekers, zooals *Newton* en *Sickenga*, kregen echter ook minder gunstige resultaten met bacteriophaag bij curatieve toepassing, o.a. bij coli-infecties der urinewegen, terwijl andere in bepaalde gevallen het bestaan van bacteriophaag ontkennen (*Otto, Munter*), zoodat we tot de conclusie komen, dat de resultaten aanvechtbaar zijn.

Ook omtrent het mechanisme van de werking van de bacteriophaag bestaat geen zekerheid.

Volgens *d'Hérelle* scheidt bacteriophaag een lysine af dat de bacteriën aantast, waarschijnlijk door het ectoplasma der bacteriën op te lossen.

Of de curatieve werking berust op het vernietigen der bacteriën, of dat dit het gevolg is van de bacterieproteïnen, die onder invloed van de bacteriophaag zijn ontstaan, zijn thans nog onopgeloste vragen.

D. Locale immuniteit.

Besredka heeft naar aanleiding van zijn onderzoekingen, waarbij het probleem der locale of weefsel-gevoeligheid nader werd belicht, een hypothese opgesteld, waarmee hij de locale immuniteit tracht te verklaren.

De onderzoekingen, de experimenteele bewijsvoeringen, die er aan vooraf zijn gegaan, mogen hier in het kort volgen.

Sedert Pasteur was het bekend dat de cavia zeer gevoelig is voor miltvuur en moeilijk met verzwakte bacillen kan gevaccineerd worden.

In 1921 beschreef *Besredka* in zijn werk „Cutiinfection-cutivaccination-cutiimmunité" een aantal experimenten, waarbij het kwam vast te staan, dat bij sommige bacterieele infecties de verdediging van het organisme aan bepaalde groepen van cellen of weefsels gebonden is.

Het gelukte, wanneer hij bepaalde voorwaarden in acht nam, cavia's tegen een tien-, honderd-, ja zelfs duizendvoudige dosis miltvuurbacillen te beschutten. Hierbij diende men er alleen op te letten, dat het toedienen der miltvuurbacillen plaats had zonder dat daarbij de huid met het virus in contact kwam.

Het feit, dat tot hiertoe een subcutane, intraperitoneale, intratracheale injectie enz. steeds doodelijk was geweest, verklaart *Besredka* hierdoor, dat bij het insteken van de naald steeds de huid wordt geïnfecteerd, wat het in de huid op die plaats optredende oedeem zou bewijzen. Weet men deze huidinfectie te vermijden, dan is het volgens *Besredka* niet mogelijk een cavia aan miltvuur te doen sterven.

Na deze experimenten, waarmee *Besredka* het voor be-

wezen acht, dat de huid voor miltvuur het gevoelige orgaan is, heeft hij de logische gedachtengang gevolgd door te trachten immuniteit op te wekken door het gevoelige orgaan, in casu de huid, te immuniseeren.

Door het aanbrengen van vaccin op de huid of door intracutane injectie gelukte het hem na 2 à 3 dagen cavia's ongevoelig voor miltvuur te maken. De korte periode, waarin de immuniteit is opgetreden, deed reeds vermoeden, dat deze immuniteit niet berustte op de aanwezigheid van antilichamen. Besredka kon dan ook in het bloed van deze cutaan geimmuniseerde cavia's geen stoffen aantoonen, die een niet gevaccineerde cavia tegen een letale dosis miltvuur bacillen kon beschutten en hij komt tot de conclusie, dat de door hem opgewekte immuniteit niet parellel loopt met de antilichamenvorming.

Gevoeligheid van cavia's voor miltvuur, zegt hij, berust uitsluitend op een bijzondere gevoeligheid van de huid voor deze bacillen. De algemeene immuniteit, die na huidvaccinatie optreedt, berust eensdeels op de door de huid verkregen ongevoeligheid, anderdeels op de natuurlijke ongevoeligheid der overige organen.

Ongeveer gelijkluidende experimenten verrichtte *Besredka* later met staphylo- en streptococcen. Ook deze beide bacteriesoorten hebben affiniteit voor de huid. Hij kon door huidvaccinatie, waartoe staphylo- en streptococcenvaccins op de geschoren huid werden gebracht, een betere immuniteit tegen latere infecties opwekken dan langs anderen weg. Ook deze immuniteit trad op zonder dat door *Besredka* antilichamen konden worden aangetoond.

De ziekten, die zich in hoofdzaak in het darmkanaal localiseeren, boden hem eveneens karakteristieke voorbeelden van specifieke gevoeligheid van bepaalde organen voor bepaalde bacteriën. Na subcutane of intravasculaire injectie bij het konijn van dysenterie-, typhus- of paratyphusbacillen of choleravibrionen, vindt men deze in hoofdzaak terug in de galblaas, in de mucosae en den inhoud van den darm, hetgeen *Besredka* opvat als gevolg van affiniteit van deze microben voor de cellen van dit orgaan.

Het lijkt in strijd met het voorgaande, dat een infectie met deze smetstoffen via de digestie tractus toch moeilijker aan-

slaat dan een parenterale infectie. Dit komt echter, omdat de per os opgenomen microben van de slijmvliescellen verwijderd worden gehouden door een slijmlaag. Voor het tot stand komen van infecties via den darm is het daarom noodig de slijmlaag op kunstmatige wijze, bijv. door rundergal, te verwijderen, waardoor de cellen van de darmtractus toegankelijker worden voor de microben.

Besredka meende reeds bij zijn miltvuurvaccinaties te moeten aannemen, dat het werkzame verdedigende principe bij de locale vaccinatie niet in het organisme van het gevaccineerde dier zelf ontstaat, maar dat dit van de bacteriën afkomstig is. *Besredka* heeft dit met filtraten van staphylo- en streptococcen bouillonculturen trachten te bewijzen.

Hieruit blijkt dus, dat hij bij het tot stand komen van de locale immuniteit geen waarde hechtte aan de bacterielichamen als zoodanig, maar dat hij voor dit doel gebruik maakte van de in het vloeibare cultuurmedium voorkomende oplosbare bacterieproducten.

Hij nam achtereenvolgens de volgende proeven:

Met staphylococcenculturen, die gedurende een uur op 60° C. waren verhit, werden cavia's subcutaan, intracutaan en percutaan behandeld. Dit laatste geschiedde door het aanbrengen van compressen op de onthaarde huid die in de bouillonculturen waren gedrenkt. Bij daaropvolgende inspuiting van de voorbehandelde cavia's met staphylococcen kon bij de 3 verschillende wijzen van voorbehandeling een afnemende reactie worden geconstateerd. De reactie was het zwakst bij de percutane behandeling, het sterkst bij de subcutane. Bij de percutane behandeling trad inplaats van een ulcus een oppervlakkig abcesje op, dat spoedig doorbrak en snel verdween. De tijd, welke verliep tusschen de voorbehandeling en het aantoonen der immuniteit, bedroeg 24 uur. Deze periode achtte *Besredka* te gering voor het optreden van antilichamen.

Eenzelfde huidimmuniteit verkreeg *Besredka* verder bij het aanwenden van door porceleinen filters gefiltreerde staphylococcen bouillonculturen.

Een met filtraat voorbehandeld dier verdroeg een letale dosis staphylococcen; de reactie op de entplaats beperkte zich slechts tot een geringe laesie, terwijl de contrôle-cavia

heftige ontstekingsverschijnselen vertoonde, die later necrotisch werden. Volgens *Besredka* zou zich op deze wijze verkregen immuniteit niet alleen tot de entplaats beperken, maar door toedoen van de lymphebanen zou het geheele huidoppervlak kunnen worden geïmmuniseerd.

Deze en meerdere experimenten hebben er toe geleid dat men rekening heeft te houden met het feit, dat elk orgaan of orgaansysteem, zoowel zijn eigen gevoeligheid, als zijn eigen immuniteit kan hebben en dat door vaccinatie van het gevoelige orgaan immuniteit van het geheele organisme kan worden bereikt.

Duizenden vaccinaties tegen dysenterie en typhus bij den mensch en miltvuur bij de dieren, die in de practijk werden toegepast en waarvan grootendeels de resultaten zeer demonstratief waren, hebben het bewijs geleverd dat het werk van Besred*ka* ook uit practisch oogpunt van beteekenis is.

In de laatste jaren zijn nog tal van dierziekten volgens *Besredka's* methode behandeld.

Tot de voornaamste hiervan behooren, behalve miltvuur (*Velu, Nevodoff, Dauvois* e.a.) goedaardige droes (*Svetkoff* en *Veller, Sadovsky, Roger* en *Ricaud*) petechiaaltyphus (*Padovsky*) en borstziekte der paarden (*Gourvitch*) en verder mastitis bij het rund (*Cernovsky, Roger* en *Ricaud*) en tal van etterige en flegmoneuze huid- en slijmvliesaandoeningen.

Bij de theorie, die *Besredka* ter verklaring van het mechanisme van infectie en immuniteit na locale vaccinatie heeft opgesteld, spelen de receptieve cellen en de phagocyten beiden een groote rol. Volgens hem worden de bacteriën in een lichaam, waar geen cellen met speciale affiniteit voorkomen, of wanneer zij de cellen niet bereiken, zonder meer gephagocyteerd. Hierop berust de natuurlijke ongevoeligheid.

Besredka acht het verder onwaarschijnlijk, dat een dier, dat zich actief heeft geïmmuniseerd in aansluiting op ziekte of kunstmatige infectie, zich op een andere wijze zou verdedigen dan een dier, dat van nature ongevoelig is.

Zoowel bij de natuurlijke immuniteit als bij de actief verkregen immuniteit zou het er om gaan of er al of geen receptieve cellen zijn. Daarna komt de phagocytaire werking, welke zijn optimale punt bereikt, wanneer, ingeval we met

een gevoelig organisme te doen hebben, de bacteriën de receptieve cellen hebben ontmoet.

Het is niet zijn bedoeling dezen stelregel voor alle infecties met pathogene kiemen nu reeds aan te nemen, maar het geldt voor die ziekten, waarbij hij er in geslaagd is door vaccinatie van de specifiek gevoelige cellen immuniteit op te wekken.

De gang van zaken bij de actieve immunisatie gedurende den loop van een bacterieele ziekte, stelt *Besredka* zich als volgt voor.

Gedurende het ziekteproces komen de specifiek gevoelige cellen in contact met de pathogene kiemen en zijn derivaten, welk contact tot gevolg heeft dat de gevoelige cellen „gewennen" aan de nabijheid der bacteriën. De oorspronkelijke gevoeligheid is hiermede verdwenen en heeft plaats gemaakt voor een onverschilligheid bij een nieuwe microbeninvasie. De vroeger zoo prompt reageerende cellen gedragen zich bij de nieuwe invasie alsof het saprophyten waren.

De phagocyten worden niet meer gehinderd door een negatieve chematoxis en kunnen zich werpen op de bacteriën, die verwerkt worden als alle andere gephagocyteerde lichamen. De actieve immuniteit berust dus volgens deze theorie eerst op een gewennen der receptieve cellen, daarna op de werking der mobile phagocyten, die ongehinderd hun werking kunnen uitoefenen. Virulentie heeft geen invloed op phagocytaire werking.

Ook de immuniteit, welke optreedt in aansluiting aan vaccinatie, verklaart *Besredka* op dezelfde wijze. Gewoonlijk is de ziekte bij vaccinatie veel lichter in graad dan bij de natuurlijke ziekte, tengevolge daarvan zal ook de immuniteit welke optreedt, veel minder solide zijn.

De voor de vaccinatie gebruikte bacteriën komen met de voor de bacteriesoort receptieve cellen in contact, wat weer vroeg of laat eindigt in een ongevoeligheid der receptieve cellen.

Het zijn niet de bacterielichamen zelf, die met hun receptieve cellen in contact treden, maar het is het oplosbare derivaat der bacteriën — het antivirus — dat tot taak heeft de cellen te doen wennen, ze te vaccineeren.

Het vrijkomen van het antivirus is het gevolg van de phagocytose op de plaats van binnendringen van de voor vacci-

natie dienende microben. Immers op de plaats, waar de microben het lichaam zijn binnengebracht, is een toevloed gekomen van leucocyten als bij elke abnormale prikkeling van het organisme.

Deze hebben de microben gedigereerd, waarbij het antivirus is vrij gekomen; de receptieve cellen hebben zich met antivirus geïmprigneerd en deze zijn daarmede refractair geworden voor pathogene kiemen.

Dus wanneer een organisme is gevaccineerd, dan blijft de anders pathogene bacil van de cellen verwijderd, omdat elke affiniteit tusschen cel en bacterie is opgeheven. De bacil kan dan niet zijn vernielende werking ontplooien, de negatieve chemotoxis ontbreekt en de ingedrongen microorganismen worden door de phagocyten opgenomen alsof het saprophyten zijn.

Ook de passieve immuniteit berust volgens *Besredka*'s hypothese op de werking van antivirus, daar in het bloed van hoog geïmmuniseerde dieren antivirus vrij zou circuleeren.

2. Wezen en eigenschappen van het Antivirus.

Antivirus is de naam voor een stof die van microben afkomstig en in staat is locale immuniteit, dat is immuniteit die niet berust op antilichamen, op te wekken (*Besredka*).

Evenals vele onderzoekers vóór hem, was het *Besredka* opgevallen dat bepaalde microben in vloeibare media en bij 37° C. gekweekt spoedig hun virulentie verliezen. Deze virulentievermindering werd door *Besredka*, behalve bij cholera-vibrionen, ook bij staphylo- en streptococcen en andere bacteriën geconstateerd. De gebruikelijke verklaring die voor dit verschijnsel werd gegeven, n.l. dat dit was toe te schrijven aan ouderdom der culturen, afsterven der bacteriën en uitputting van den voedingsbodem, bevredigde hem niet.

Mede onder invloed van zijn dierexperimenten komt *Besredka* tot de conclusie dat dit het gevolg is van een stof, die onder invloed van de broedtemperatuur aan de oppervlakte der bacteriën komt, waarvan een verminderde virulentie het gevolg is. In de bacteriën, zoo meent hij, komt naast een virus een „antivirus" voor, dat antagonistisch werkt op de bacteriën en welks analoog men kent bij bepaalde

lichaamscellen bijvoorbeeld de witte bloedlichaampjes, die een ferment en antiferment bevatten.

Besredka schrijft aan dit antivirus immuniseerende eigenschappen toe. Het kan door filtratie van de microben worden gesepareerd en tevens is het thermostabiel. Het immuniseerende agens kan daardoor zonder de toxinen bevattende bacterielichamen worden toegediend. Sommige ziekteverwekkers bijv. miltvuurbacillen vormen geen oplosbaar antivirus. In dit geval wordt het antivirus, dat in vitro aan de bacteriën gebonden is, in het levende weefsel losgemaakt van de microben en door de receptieve cellen opgenomen.

Betreffende de immuniseerende werking kent *Besredka* het antivirus een sterk electief vermogen toe, waardoor een bepaald antivirus slechts die groep cellen, dat celcomplex zal immuniseeren, waarvoor het affiniteit heeft.

Zoo bezit het staphylococcen antivirus een uitgesproken affiniteit voor de huid en bepaalde mucosae, het cholera antivirus voor de mucosae van de darmtractus. Deze electieve affiniteit ontleent het antivirus aan de microben zelf en is dezelfde als die der bacteriën.

Staphylococcen localiseeren zich bij voorkeur in de huid. De veelvuldig voorkomende staphylococceninfecties van de huid, als furunculosis, impetigo, otitis, blepharitis zijn hiervan het bewijs.

Een dergelijke affiniteit als die der staphylococcen voor de huid bezitten de verwekkers voor cholera, typhus en bacillaire dysenterie voor den darm. Immers bij dieren die langs parenteralen weg, hetzij intraveneus, intraperitoneaal of subcutaan met deze bacteriesoorten zijn besmet, vindt men steeds de grootste reactieve verschijnselen in het darmkanaal en de bijbehoorende organen.

Het is niet te verwonderen, zegt *Besredka* nu, dat de directe derivaten dezer bacteriën dezelfde electieve eigenschappen bezitten, waardoor de werking uitsluitend tot een bepaald celcomplex of orgaansysteem blijft beperkt.

Toch kan, al is de werking van het antivirus slechts gericht op een bepaald celsysteem, en al worden, zooals *Besredka* zegt, slechts die cellen geïmmuniseerd, die in direct contact met het antivirus komen, deze plaatselijke immuniteit algemeene ongevoeligheid tot gevolg hebben. Als voorbeeld noemt

Besredka typhus. De receptieve cellen bevinden zich in de darmtractus. Wanneer deze receptieve cellen niet meer gevoelig zijn — deze geïmmuniseerd zijn — voor de typhusbacillen, dan zullen deze geen gelegenheid krijgen zich te vermeerderen en hun schadelijke werking te ontvouwen, waardoor de infectie niet zal aanslaan. De algemeene ongevoeligheid is dus het gevolg van immuniteit van het receptieve orgaan en natuurlijke ongevoeligheid der overige organen.

Verschillende onderzoekers, als *Brocq-Rousseau* en *Urbain, Lehndorff* en *Brumlick, Gerlach, Monod* en *Velu, Nevodoff* e.a. hebben zich, deels op grond van resultaten, verkregen bij locale immunisatieproeven in de praktijk, deels op grond van laboratoriumproeven, achter *Besredka* geschaard.

Een groot aantal onderzoekers hebben echter, nadat zij de experimenten van *Besredka,* waarop deze zijn theorieën heeft gebouwd, hadden herhaald, geheel andere uitkomsten gekregen.

Zooals we zagen was *Besredka* op grond van zijn experimenten bij miltvuur, typhus, staphylo- en streptococceninfecties tot de overtuiging gekomen dat voor het aanslaan van een infectie met een bepaald micro-organisme het noodzakelijk is dat er contact tot stand komt tusschen het microorganisme en bepaalde, door hem genoemde, receptieve cellen.

Hij toonde aan dat voor mlitvuur, staphylo- en streptococcen de huid het gevoelige orgaan is, en dat een infectie met pathogene miltvuurbacillen bijvoorbeeld zonder gevolgen verloopt als bij de infectie alle contact met de huid wordt vermeden.

Combiesco kon echter vaststellen dat caviae en konijnen bij absoluut vermijden van huidcontact voor intraveneuze, intraperitoneale, of subcutane infectie met miltvuurbacillen gevoelig waren als men maar een voldoende dosis neemt, met andere woorden, de letale dosis wisselt naar de infectie modus.

Combiesco neemt verder op grond van zijn onderzoekingen aan dat in stroomend bloed de kapselvorming tot zekeren graad onderdrukt wordt en dat hierin de beteekenis der huid bij miltvuur gelegen is. De miltvuurbacillen zouden zich in de

huid gemakkelijker kunnen staande houden. Werd door kweeken der bacillen op oxalaat bloed een aanpassing reeds vóór de infectie verkregen, dan konden *Combiesco* en *Dumitresco* door uitsluitend subcutane applicatie evengoed miltvuurinfectie krijgen als door cutane inspuiting.

Ook *Gratia* vond dat de huid voor miltvuur gunstiger ontwikkelingsvoorwaarden biedt dan het bloed; toch kon hij onder bepaalde voorwaarden steeds door intraveneuze toediening van de smetstof een doodelijke infectie opwekken en eveneens langs intraveneuzen weg immuniteit verkrijgen, die ook tegen cutane infectie werkzaam was. Tenslotte gelukte het hem, wat *Besredka* niet was gelukt, in het serum van cutaan geïmmuniseerde dieren antilichamen aan te toonen die konijnen en caviae beschutten konden tegen een doodelijke infectie.

Wollmann neemt een dergelijk standpunt in als *Combiesco* en *Gratia.* Hij beschouwt echter de kapselvorming niet verantwoordelijk voor het doodelijke verloop der infectie, maar meent dat de voorwaarden voor de vorming van aggressinen in de huid bijzonder gunstig zijn, waardoor een huidinfectie gemakkelijker doodelijk verloopt dan andere infectie modi.

Soortgelijke resultaten krijgen ook andere onderzoekers over de specifieke gevoeligheid van bepaalde andere organen bijv. het darmkanaal.

Zoo brachten onderzoekingen van *Lange* en *Yoshioka* het bewijs dat bij muizen en caviae, die met muizentyphusbacillen gevoederd werden, deze bacteriën evengoed in de mesenteriale klieren en andere organen voorkomen als in den darm en darmmucosa.

Omgekeerd toonde *Sobernheim* aan, dat parenteraal bij caviae ingebrachte typhusbacillen zich niet bijzonder snel of bijzonder talrijk in de darmslijmvliezen nestelen, maar ook andere organen bevatten op hetzelfde tijdstip ongeveer evenzooveel bacteriën.

Een andere eigenschap die *Besredka* toeschrijft aan zijn antivirus, is de directe werking op de receptieve cellen. Deze eigenschap, zoo meent hij weer, is ook niet iets specifieks van het antivirus, maar dit heeft het te danken aan de bacteriën die het antivirus vormden.

Ter verklaring van deze opvatting wijst *Besredka* er op dat een dier langs intraperitonealen en intraveneuzen weg tegen staphylococcen met staphylococcenvaccin niet is te immuniseeren. Hiervoor is noodig, dat de huid er bij wordt betrokken als plaats van injectie, want zelfs subcutane inspuitingen van staphylococcen geven geen goede immuniteit. Hieruit volgt dus, dat de immuniteit beter wordt verkregen als het vaccin in direct contact met de cellen komt.

Het is volgens *Besredka* geheel natuurlijk, dat deze eigenschap ook behoort aan het antivirus, voor wiens ontstaan het slechts noodig is dat men de microben laat verouderen in hun voedingsmilieu zonder hier iets aan toe te voegen of af te nemen.

De immuniteit, die zich bij locale vaccinatie ontwikkelt, berust volgens *Besredka* alleen op een reactie tusschen de cellen en het vaccin zonder dat daarbij antilichamen optreden. Dit doet tevens ook uitspraak over het karakter van de immuniteit, n.l. dat deze is gelimiteerd tot die cellen, die met vaccin in contact zijn geweest.

Door onderzoekingen van *Ehrlich, Klemperer, Löffler* en *Zabolotny* was reeds lang bekend dat door parenterale toediening van dysenteriebacillen, typhusbacillen en cholera-vibrionen immuniteit was te bereiken. Om dit te verklaren neemt *Besredka* een hulphypothese aan, waarbij hij zegt dat onder den invloed van de specifieke affiniteit dezer bacteriën zij zich in het darmkanaal nestelen en dat bij vaccinatie de gedoode bacillen dit eveneens doen, en door hun werkzaam principe, het antivirus, hun immuniseerende werking ontplooien.

Schijnbaar terecht zeggen *Kolle* en *Prigge* dat, wanneer de gevoelige weefsels werkelijk een specifieke affiniteit voor bepaalde bacteriën uitoefenen, zooals *Besredka* meent, dan zou ook zeker bij rein subcutane of intraperitoneale injectie van miltvuurbacillen een huidinfectie tot stand moeten komen.

De meening van *Besredka,* dat er een specifieke affiniteit bestaat van de gevoelige cellen voor bepaalde micro-organismen staat dus in tegenspraak met de experimenteele grondslagen van zijn locale theorie. Bovendien is deze reeds

door de medegedeelde onderzoekingen van *Combiesco* en *Sobernheim* niet als onaanvechtbaar te beschouwen.

Reiter en *Kurokawa* hebben bovendien door experimenten aangetoond, dat men bijvoorbeeld door percutane immunisatie van muizen tegen typhus hechtere immuniteit krijgt dan bij immunisatie langs enteralen weg. Ook *Neri* kreeg bij immunisatieproeven van konijnen tegen typhus gelijkluidende uitkomsten, waaruit zou volgen dat het immunisatorisch effect bij vaccinatie van het gevoelige orgaan minder kan zijn dan wanneer de antigenen elders in het lichaam zouden worden ingebracht.

Meerdere onderzoekingen o.a. die van *Balteano* en *Tudoran* doen het vermoeden rijzen, dat bij immunisatie tegen typhus bij muizen de huid een grootere beteekenis heeft dan het „gevoelige orgaan" de darm. Misschien, zeggen *Kolle* en *Prigge*, zijn de verhoudingen dezelfde bij miltvuur, maar hier valt het niet zoo op, doordat tevens de huid het gevoeligste orgaan is.

Ook *Hartoch*, *Muratowa*, *Joffe* en *Bermann* konden bij caviae door intracutane vaccinatie betere beschutting tegen parathypus verkrijgen dan door intraperitoneale voorbehandeling.

Hartoch komt tenslotte op grond van eigen onderzoekingen en op grond van die van andere onderzoekers, speciaal van *Lumière* en *Chevrotier*, tot de opvatting, dat de huid bij immunisatie processen een zeer bijzondere plaats inneemt.

Hierover bestaan thans nog te weinig gegevens om uitspraak te doen, maar vele onderzoekingen spreken er voor dat de huid meer is dan een mechanisch beschuttingsmiddel tegen bacteriën invasies, maar dat het ook bij de actieve verdediging van het organisme ten nauwste is betrokken.

Zeker is, zegt hij, dat, zooals *Besredka* aangeeft, verworven immuniteit niet uitsluitend als een locale weefselomvorming kan worden opgevat; te talrijk zijn daarvoor de mededeelingen dat bij locale vaccinatie van menschen en dieren antilichamen optreden, wat in strijd is met de waarnemingen van *Besredka*.

Sobernheim en zijn medewerkers bijv. toonden aan, dat orale vaccinatie van konijnen met levende of gedoode typhusculturen, zoowel tegen stomachiale als parenterale infectie

beschutting geeft en dat deze vaccinatie in ieder geval met het optreden van specifieke antilichamen verloopt.

Dergelijke uitkomsten leverden de onderzoekingen van *Kosaka, Reiter, Zlatogoroff, Zabolotny, Gratia* en *Rhodes,* die antilichamen in verschillenden vorm (agglutinen, bacteriolysinen) konden aantoonen bij langs percutanen of oralen weg geïmmuniseerde dieren.

Deze gegevens staan zoo lijnrecht tegenover *Besredka's* opvattingen, dat men zou moeten aannemen dat de antilichamen met de toegepaste onderzoekingsmethoden niet konden worden aangetoond.

Kolle en *Prigge* concludeeren dat het tot stand komen van locale immuniteit door bacterieele stofwisselingsproducten, die antagonistisch ten opzichte der bacteriën zouden werken, op theoretische gronden en vooral wegens onvereenigbaarheid met de experimenten niet mag worden aangenomen.

Besredka zelf ziet, volgens een mondelinge mededeeling, in het feit dat bij rein subcutane inbrenging van miltvuurbacillen de infectie niet aanslaat geen tegenspraak van zijn hypothese.

Meerdere voorbeelden zijn hiervan bekend. Toch wel algemeen zal men het er over eens zijn dat het pokkenvirus een zeer dermatroop virus is. Niettegenstaande dit blijft bij intraveneuze inspuiting van dit pokkenvirus een pokkeneruptie dikwijls uit zoolang de huid niet gelaedeerd wordt. Hoewel niet in alle opzichten te vergelijken, acht hij miltvuur hiermede analoog.

Een der voornaamste eigenschappen die *Bedreska* aan het antivirus toekent is de specificiteit. Deze eigenschap is veelvuldig het onderwerp van studie geweest. Sommigen meenen dat gewone bouillon evengoed werkt als antivirus, anderen zeggen weer dat alle antivirus dezelfde waarde hebben.

In dit verband dienen de onderzoekingen van *Oesterlin* genoemd te worden. Nadat *Oesterlin* de doodelijke dosis van een pyocyaneuscultuur had bepaald, vroeg hij zich af of het mogelijk was door intrapleurale applicatie van pyocyaneus antivirus dieren tegen intrapleurale injecties van doodelijke doses pyoceaneuscultuur te beschutten. Inderdaad bleek het mogelijk door herhaalde intrapleurale injecties van deze fil-

traten, zoowel konijnen als caviae tegen intrapleurale infectie met Baccillus pyocyaneus te beschutten. Deze resistentie was alleen beperkt tot de pleuraholte.

Eveneens probeerde hij met aspecifieke filtraten een zelfde resultaat te bereiken. Hoewel het mogelijk was een verhoogde resistentie te verkrijgen met deze aspecifieke filtraten, geeft specifiek antivirus toch den indruk hechtere beschutting te geven.

Schweinberg, die bij proeven in vitro geen specificiteit van het antivirus kon aantoonen, meent ook bij het levend organisme eveneens specificiteit van het antivirus te moeten ontkennen, daar heterologe antivirus dikwijls ook goede resultaten geven. Ook *Moritsch, Kepinow* en *Miller* komen tot dit resultaat.

Schweinberg is het dus wat betreft de specifieke werking niet eens met *Besredka*, wel echter wat betreft het punt antigene werking. Beiden meenen dat antilichamen geen beteekenis hebben, daar de genezing, eventueel immuniteit, zeer snel optreedt.

Eisler en *Lehndorff* maakten een praeparaat waarbij sterk werd afgeweken van de bereidingswijze door *Besredka* gevolgd. Bacterieemulsies werden in zoutoplossing aan autolyse onderworpen. Na eenigen tijd werd dit proces onderbroken en de vloeistof gefiltreerd en daarna verhit ter verwijdering der toxinen. Het op deze wijze verkregen praeparaat onderscheidde zich in zijn werking niet van het door *Besredka* bereide antivirus. Het bleek dat de genezende werking van dit praeparaat, histan genoemd, een aspecifieke was. Coli, proteus- en coccenhistan, dat aan de kliniek werd verstrekt, gaven alle hetzelfde resultaat.

Evenals het antivirus bevat het histan een rij specifieke antigenen. Hierop berust de genezende werking echter niet, daar de gunstige werking te snel optreedt om dit als antigene werking te kunnen beschouwen. Zij meenen dat de gunstige werking van het antivirus en histan berust op een verandering in den colloidalen toestand der weefsels, waardoor een verhooging van het prestatievermogen van de cellen van het organisme optreedt (protoplasmaactiveering).

Kollath en *Herfarth* gingen den invloed na van compressen gedrenkt in antivirus, gewonen bouillon, peptonwater,

vleeschnat en enkele aminozuren en toepassing van vochtige en droge warmte op het verloop van intracutane staphylococceninfecties bij het konijn. Voor deze proeven werd gebruik gemaakt van een kunstmatig zeer virulent gemaakten staphylococcenstam. Het bleek bij hun proeven dat volgens de voorschriften van *Besredka* gemaakt antivirus, gewone bouillon en ook vleeschnat en peptonwater een duidelijke, zij het een quantitatief verschillende, beschuttende werking uitoefenden. Ook enkele aminozuren werden nagegaan, waarbij bleek dat tryptophaan, leucine, cystine, tyrosine en alanine in dalende lijn een ontstekingswerende werking bezaten. Droge en vochtige warmte, alsmede keukenzoutoplossingen hebben geen invloed.

Werden antivirus en gewone bouillon met aether uitgeschud dan nam hun werkzaamheid toe. Dit moet worden verklaard dat voor het verhinderen der beschuttende werking vetten en vetachtige bestanddeelen in aanmerking komen. Ook kon worden aangetoond, dat een zeer dun laagje vaseline de resorptie van de beschuttende stoffen verhinderen. Men kan hieruit de conclusie trekken, dat ondanks de aanwezigheid van goede werkzame bestanddeelen, de werking gering is, omdat door vetten de resorptie wordt verhinderd.

Beide onderzoekers zien hierin de verklaring van het feit dat verschillende schrijvers zoo verschillend berichten over de resultaten die zij met bouilloncompressen verkregen.

De schrijvers onderzochten ook nog caseine en de eindproducten van de eiwitstofwisseling (ureum, urinezuren, allantoïne). Deze stoffen bleken echter geheel onwerkzaam, zoodat de gunstige werking alleen beperkt bleef tot peptonen, hun verwante stoffen en hun afbraakproducten.

Chikhanoff deed interessante experimenten met betrekking tot de specificiteit van het antivirus.

Chikhanoff maakte hierbij gebruik van de reactie van *Bordet-Gengou*. Hij werkte met staphylococcen- en streptococcenantivirus en de homologe bacteriestammen. Konijnen werden voorbehandeld, met bepaalde intervallen, met intraveneuze injecties van gedoode staphylo- en streptococcen. Het verhittingsproces om de microben te dooden werd steeds verkort en tenslotte werden levende culturen ingespoten.

Het onderzoek naar het voorkomen in het bloed van deze

dieren van complementbindende stoffen werd volgens de techniek van *Bordet-Gengou* verricht. Men verving echter het antigeen door antivirus. Het resultaat hiervan was dat men in staat bleek door middel van de complementbindingsreactie in het antivirus stoffen aan te toonen, die de eigenschappen bezitten het alexine te fixeeren. De mate van fixatie bleek dezelfde te zijn als die der homologe bacteriën.

Deze reactie, zoo besluit *Chikhanoff*, is zoo strikt specifiek, dat zij kan dienen om den aard van het antivirus te bepalen en dat men hiermede verschillende antivirus kan differentieeren op dezelfde wijze als bacteriesoorten worden onderkend.

Enkele interessante proefnemingen zijn in de literatuur bekend in verband met den invloed van antivirus op de biochemische eigenschappen der microben en op de phagocytose bij *Pfeiffer's* phenomeen.

Lehndorff en *Brumlik* deelen mede, dat toevoegingen van 30 % homoloog antivirus aan een colibacillencultuur de ontwikkeling niet verhinderde, maar modificaties bij de microben te voorschijn riep die in contrôlebuisjes met gewonen bouillon en heteroloog antivirus niet waren waar te nemen.

Deze modificaties betroffen de fermentatieve en reduceerende eigenschappen der colibacillen; indolvorming en kleurbaarheid bleven behouden. Tevens verloren zij onder invloed van het antivirus in hangenden druppel hun bewegelijkheid. Vooral jonge culturen lieten zich beïnvloeden door specifiek antivirus. Typhusbacillen werden onder invloed van het antivirus minder agglutinabel.

Volgens de onderzoekingen van *Goussartchik* *) bleven echter streptococcen in hun correspondeerende antivirus gedurende 6 maanden in leven en zij behielden tevens alle biochemische eigenschappen.

Choleravibrionen konden eveneens in antivirus gedurende maanden bewaard blijven, waarbij zij hun virulentie behielden.

Lehndorff en *Brumlick* berichten dat *Pfeiffer's* phenomeen bij caviae, die ingespoten werden met homoloog antivirus, duidelijker optreedt dan bij contrôledieren; de korrelvorming

---

*) Ontleend aan „Antivirustherapie" A. Besredka.

is duidelijker en gaat sneller, terwijl de kleurbaarheid minder wordt.

Brumlik bestudeerde eveneens de werking van het antivirus op de phagocytose. Zijn experimenten betroffen staphylococcen, typhus- en colibacillen, welke bacteriën hij emulgeerde in heterologe en homologe antivirus en die hij vervolgens injiceerde in de buikholte bij caviae. Met tusschenpoozen van 20—45 minuten werd peritoneaal vocht afgenomen en gedeeltelijk direct onderzocht door middel van uitstrijkjes, gedeeltelijk gebruikt om culturen te enten en colonies te tellen. Deze experimenten werden begeleid door gelijke proefnemingen met heteroloog antivirus en gewonen bouillon. Het resultaat was dat alleen het antivirus een duidelijke verhooging der phagocytose gaf en dat deze phagocytose bevorderende werking zuiver specifiek was.

Brumlik ging tevens na onder welke voorwaarden hij maximale phagocytose en bacteriolytische werking kreeg. Daarvoor werden de culturen vele malen gefiltreerd en weer opnieuw geënt met intervallen van 10 dagen. Hij kwam aan het einde der proef tot de conclusie, dat na de 2e filtratie de phagocytose haar hoogste punt bereikt.

Op grond van de specifieke eigenschappen van de door *Brumlik* bestudeerde antivirus van staphylococcen, typhus- en colibacillen, komt hij tenslotte bij de bespreking van de werking tot de conclusie, dat het niet mogelijk is dat deze werking berust op een eenvoudige irritatie van de endotheelcellen.

Tot dezelfde conclusie komen *Grineff* en *Tchouiko,* die met elkaar antivirus en bouillon vergeleken. Volgens deze onderzoekers bestaat er een quantitatief en qualitatief verschil in de werking van antivirus en bouillon op de witte bloedcellen. De phagocytose door bouillon is minder uitgesproken dan die van het antivirus. Bij gewonen bouillon is de leucocytose alleen toe te schrijven aan verhoogde activiteit van de neutrophile leucocyten; de endotheelcellen doen hieraan niet mee. Bij antivirus zag men niet alleen de neutrophiele zich vermeerderen, maar ook de monocyten en de cellen van het endotheel.

De werking van het antivirus berust volgens *Grineff* en

Tchouiko niet op een werking die gelijk is te stellen met de proteinetherapie.

De antigene werking is volgens deze auteurs van secundaire beteekenis, het is vooral de locale directe werking op de cellen die domineert.

Een der meest bestudeerde eigenschappen van het antivirus is ongetwijfeld de remmende werking in vitro tegenover bacteriegroei.

Het is niet onmogelijk dat de aanleiding hiervoor gezocht moet worden in de omstandigheid, dat velen oorspronkelijk in de meer of mindere mate der groeiremming een maatstaf zagen die bij de waardebepaling van het antivirus kon dienen, en waarschijnlijk ook, omdat sommigen in de groeiremmende werking tevens een factor zagen die ook in het levende organisme op het verloop van infectie invloed uitoefende.

Wat het laatste betreft, zegt *Besredka* uitdrukkelijk, dat het verhinderen der bacterievermeerdering in levende weefsels door antivirus voor het doen uitblijven van infectie van ondergeschikt belang is. Ook kan uit de meer of mindere groeiremming het immuniseerend vermogen niet worden afgeleid. Deze maatstaf is niet betrouwbaar, zooals uit de literatuur is gebleken. Bovendien, zegt *Besredka*, komt bij sommige bacteriën, bijvoorbeeld bij miltvuurbacillen, een „antivirus fixe" voor, dat, zooals de naam reeds doet vermoeden, zich niet van de bacteriën losmaakt. Hierdoor wordt door hem verklaard dat groeiremming in zijn miltvuurculturen uitbleef.

Volgens *Besredka* is de groeiremming het gevolg van het optreden van antivirus in oude bouillonculturen dat slechts tegen de homologe bacteriën zou zijn gericht.

Reeds *Pasteur* sprak van een „milieu vacciné", waarmede hij te kennen gaf, dat hem verminderde groei in oude culturen bekend was.

In 1904 heeft *Eykman* gewezen op thermolabile stofwisselingsproducten in culturen, die volgens hem aansprakelijk zijn te stellen voor de natuurlijke groeiremming der microorganismen.

Hij kwam naar aanleiding van zijn onderzoekingen tot de conclusie dat het uitblijven van bacterievermeerdering niet

berust op gebrek aan voedingsstoffen, maar vooral op de vorming van stoffen die den groei remmen. Deze stoffen waren volgens *Eykman* min of meer selectief, dat wil zeggen, dat ze bacteriën van eigen soort sterker remden dan soortvreemde bacteriën; verder waren zij diffusable en thermolabiel.

Wat betreft de meer of mindere specifieke groeiremming geeft *Eykman* toe dat er vele uitzonderingen zijn, in dien zin, dat soortvreemde bacteriën evengoed kunnen worden geremd als soorteigen micro-organismen.

Het gelukte ook *Conradi* en *Kurpjuweit* in 1905 deze stoffen in bouillonculturen aan te toonen.

Zij toonden aan dat er naast een selectief versterkte ontwikkelingsremmende werking een algemeene voorkwam, die op heterologe bacteriesoorten eveneens remmenden invloed uitoefende. Zoo zagen zij dat de stoffen die bij groei der bacillus coli ontstonden, ook typhus- en paratyphusbacillen in hun groei konden belemmeren.

Zij schreven deze stoffen, evenals *Eykman* dit had gedaan, een enzymachtig karakter toe, terwijl zij tevens de thermolabiliteit en dialyseerbaarheid konden vaststellen. Ook *Otto* en *Munter* konden de bevindingen van *Eykman* en *Conradi* omtrent hun „autotoxin" bevestigen.

Ook *Hajos*, die een onderzoek verrichtte naar een eventueel verwantschap tusschen autotoxine en bacteriophaag, kon met zijn culturen van typhus, paratyphus A en B en colibacillen die 12—14 uur oud waren de vroegere bevindingen bevestigen.

Hij vond, evenals *Otto* en *Munter* voor hem, dat de werking niet absoluut specifiek was maar dat zij zich ook uitstrekt tot biologisch dichtbijstaande bacteriën.

Hajos toonde verder aan dat de door hem na meerdere entingen gewonnen bouillon alleen remmend werkte en niet kiemdoodend; hij is atoxisch en geeft tegenover de homologe bacteriën bij dierexperimenten geen beschutting.

In tegenstelling met het door *Eykman* en *Otto* vastgestelde „autotoxin" was de remmende substantie filtreerbaar en tegen hitte bestand. Hij is van meening dat het hier geen uitputting van den voedingsbodem betreft, want slechts bij toevoeding van twee deelen bouillon op één deel filtraat gelukte het pas bacteriën te doen groeien, terwijl 10 cc. physiologische

keukenzoutoplossing met enkele druppels bouillon reeds duidelijken groei geven.

Een groot aantal onderzoekingen is verricht over de remmende werking nadat *Besredka* het antivirus had gevonden.

Laval maakte antivirus van staphylo- en streptococcen, diphtheriebacillen, colibacillen en choleravibrionen. De eigenschappen van de antivirus werden nagegaan tegenover de homologe bacteriestammen en tegenover typhus-, dysenterie-, pyoceaneus- en miltvuurbacillen.

De reacties der antivirus waren alcalisch, alleen het streptococcenantivirus reageerde zuur.

Hij deelt mede dat de homologe bacteriën in hun vermeerdering door het antivirus werden belemmerd, groeiremming dus, dat echter de andere microben min of meer goed groeiden onafhankelijk van de reactie van het antivirus.

In het staphylococcenantivirus groeiden miltvuurbacillen en pyoceaneusbacillen zeer goed. Colibacillen en choleravibrionen gaven een gelijkmatige troebeling; de groei was echter geringer dan in normalen bouillon.

Het diphtherie-antivirus bleek een zeer geschikte bodem te zijn voor staphylococcen, choleravibrionen en pyoceaneusbacillen; minder goed echter voor coli- en typhusbacillen.

De zure reactie die in het streptococcenantivirus werd geconstateerd, belemmerde den groei niet, zelfs kreeg men den indruk dat pyoceaneus beter er in groeide dan in gewonen bouillon. Dit is lijnrecht in strijd met de opvattingen van *Louros* en *Gaessler*, die meenden dat door de zure reactie der streptococcenantivirus niet alleen de correspondeerende bacteriën werden geremd, maar tevens alle andere soorten.

De onderzoekingen van *Laval* werden bevestigd door *Dzerchgorsky*, *Ponomareff* en *Fein*. Zij toonden aan dat de zuurgraad van het streptococcenantivirus geen enkele beteekenis heeft voor de remmende werking.

Zij cultiveerden streptococcen in glucosebouillon en alcaliseerden elke 2 dagen door middel van een alcalische zoutoplossing het streptococcenmilieu, zoodat de voedingsbodem gedurende 20 maanden bij P_H 7.3 bleef.

Het onder deze omstandigheden bereide antivirus verhinderde den streptococcengroei, hoewel zij wel levend bleven,

maar andere microben zooals staphylococcen, typhus-, paratyphus- en dysenteriebacillen groeiden normaal.

Volgens deze auteurs is de remmende werking niet het gevolg van de zure reactie, maar van gebrek aan koolhydraten van het milieu.

Epstein wees er op dat een volledige onderdrukking van den bacteriegroei pas na meerdere homologe entingen en ook meerdere filtraties der bouillonculturen viel waar te nemen, maar dat zijn filtraten reeds na eenmalige enting in vivo optimaal werkzaam waren. Entte hij deze goedwerkende filtraten nogmaals met denzelfden stam, dan kreeg hij goeden groei, zoodat hij concludeert dat de werking der filtraten in vivo niet op dezelfde specifiek antagonistisch op den groei der bacteriën werkende substantie berust.

Kauffmann kon in culturen met colibacillen, die hij maandenlang liet groeien, geen groeiremming waarnemen.

Met deze waarneming staat *Kauffmann* vrijwel alleen. De meeste onderzoekers meenden wel een factor die de groeiremming veroorzaakt te moeten aannemen. Omtrent de specificiteit hiervan en het principe waarop de groeiremming berust loopen de meeningen sterk uiteen.

Barg bestudeerde het parallelisme tusschen de groeiremmende factoren en de immuniseerende eigenschappen van cultuurfiltraten van *Besredka*.

Barg wilde probeeren de groeiremmende werking op te heffen en de immuniseerende werking te behouden.

Door toevoeging van koolhydraten (glucose, lactose, maltose, laevulose) aan staphyloccoccus aureus filtraten werd steeds weer rijkelijke groei verkregen. Werden koolhydraten toegevoegd welke niet werden vergist door den betreffenden stam, dan werd geen verhoogde groei waargenomen. Het gelukte hem op deze wijze met filtraten, waarin nog zeer goede groei optrad, door intradermale injectie steeds een goede immuniteit op te wekken.

Barg kwam op grond van deze onderzoekingen tot de conclusie dat de remmende werking in vitro niet verantwoordelijk was voor de immuniseerende werking, en dat de groeiremming berustte op gebrek aan koolhydraten.

Louros en *Goessler* waren van meening dat de groeiremmende factor te zoeken was in de verandering der P_H.

Bepaalt men dagelijks de P_H, dan ziet men dat elke stam zijn eigen P_H-curve heeft. Bij bepaalden zuurgraad komt de groei tot stilstand. Zij besloten dat de groeiremming alleen berustte op zuurvorming.

Ook *Lange* zocht de groeiremming in de P_H-veranderingen. Hij overtuigde zich er van, dat wanneer hij de P_H der streptococcenbouillonculturen telkens weer normaal maakte, de groeiremming niet of slechts zwak optrad.

Chaillot stelde eveneens onderzoekingen naar de remmende oorzaak in. Hij gebruikte 8 dagen oude filtraten van bouillonculturen en komt tot de conclusie dat de remmende werking hiervan in geen geval mag worden toegeschreven aan vermindering der voedingsstoffen.

Epstein kan *Besredka's* meening dat bacteriefiltraten actieve eigenschappen bezitten om den bacteriegroei te remmen niet bevestigen. Volgens hem berust dit uitsluitend op het reeds lang bekende verschijnsel van uitputting van den voedingsbodem. Met het meer of minder uitgeput zijn van den bodem heeft de werking in vitro volgens hem echter niets te maken.

Schweinberg komt naar aanleiding van zijn onderzoekingen over het antivirus tot de conclusie dat de remming der cultuurfiltraten niet specifiek is. De groeiverminderende remming berust gedeeltelijk op uitputting van den voedingsbodem, gedeeltelijk op P_H-verandering. Een eigen specifiek werkende groeibelemmerende factor kon in vitro door hem niet worden aangetoond.

Mallory en *Marble* kwamen op grond van onderzoekingen met *Besredka's* antivirus tot de conclusie dat dit geen specifieke groeiremmende eigenschappen had. Zelfs bij herhaalde entingen trad niet steeds groeiremming op; mocht zij zijn opgetreden dan was een correctie van de P_H voldoende den groei weer normaal te maken.

Ook *Kruse* en *Pancini* hadden langen tijd vóór *Mallory* en *Marble* de aandacht op de P_H gevestigd.

Een zeer interessant onderzoek naar de groeiremmende factoren bij gefiltreerde bouillonculturen werd verricht door *Aldershof*. Hem was het opgevallen dat men bij de bestudeering van dit onderwerp den invloed, dien de filtratie door porseleinen kaarsen eventueel zou kunnen hebben, geheel

had verwaarloosd. Hij gebruikte voor zijn proeven Chamberland- en E.K. Seitz-filters.

Het bleek hem dat niet geënte en meermalen gefiltreerde bouillon evenals de bouilloncultuurfiltraten een groeiremmende werking bezaten.

Volgens *Aldershof* is de remming van den groei een gevolg van de filtratie en alleen van filtratie, daar geënte gefiltreerde bouillon geen sterker remmend vermogen bezat dan niet geente, dus gewone normale, maar gefiltreerde bouillon.

Ook de vraag of dit berust op ontbreken van voor groei noodzakelijke voedingsstoffen, of dat er werkelijk een groeiremmende factor is opgetreden, trachtte hij te beantwoorden. Het bleek hem dat een groeiremmende factor moest worden aangenomen, daar toevoeging van bouillon aan de cultuurfiltraten en aan den ongeënten gefiltreerden bouillon deze vloeistoffen niet voor voedingsbodems geschikt maakte, terwijl dezelfde bouillon, toegevoegd aan ettelijke malen gefiltreerde physiologische keukenzoutoplossing, in staat bleek bacteriën in dit mengsel te doen groeien.

Aldershof meent dat verandering der P_H hierop van geen invloed is. Ook onttrekking van eiwit, koolhydraten en zouten door de filtratie is niet aannemelijk.

Met betrekking tot de beteekenis die het vet, hoewel niet te verwachten, eventueel zou kunnen hebben, werden de proeven van *Kollath* en *Herfarth* nagegaan.

Onttrekking van vet had echter geen invloed op den groei der verschillende bacteriën.

De mogelijkheid dat de filters remmend werkende stoffen zouden afgeven is niet waarschijnlijk, daar gefiltreerde zoutsoluties geen veranderingen ondergaan en ook gefiltreerde bouillon, voor zoover het de niet colloidale stoffen betreft, niet verandert.

Aldershof gelooft dat de verklaring voor de remmende werking die in meermalen gefiltreerden bouillon optreedt, moet worden gezocht in de physisch-chemische en colloidchemische veranderingen van den bouillon tengevolge der filtratie, waardoor de aanwezige eiwitten zoodanig worden veranderd dat zij minder goed door de micro-organismen kunnen worden benut, tengevolge waarvan remming van den groei ontstaat.

Het bleek hem dat de remmende invloed bij direct contact van den bouillon met de bacteriën het grootst is, dat wil zeggen, dat wanneer men met in physiologische keukenzoutoplossing geëmulgeerde bacteriën ent is de remming duidelijker dan bij enting van vasten voedingsbodem met bacterienaald, waarbij kan worden aangenomen dat een klompje bacteriën wordt ingebracht.

Het neerslag dat bij verwarming van het filtraat ontstaat, hetzij dit is verkregen door meerdere malen filtreeren door een porseleinen kaars of Seitzfilter, is afkomstig van de filters en is des te zwaarder naarmate het aantal filtraties grooter is. Volgens *Aldershof* bestaan deze neerslagen uit fosfaten die van de filters afkomstig zijn; zij oefenen geen invloed uit op de remming.

HOOFDSTUK II.

EIGEN ONDERZOEK BETREFFENDE ENKELE EIGENSCHAPPEN VAN HET ANTIVIRUS.

Bij het samenvatten der literatuur-gegevens over de groeiremmende eigenschappen zien we dat vóór *Besredka's* onderzoekingen een deel der onderzoekers de groeiremming in oude bouillon-culturen wil toeschrijven aan uitputting van het medium, terwijl anderen van meening zijn dat de groeiremming het gevolg is van een verandering van het milieu door het optreden van bijzondere stoffen die de groei verhinderen.

Eensgezindheid omtrent den aard dezer stoffen bestaat er niet. Nu eens zouden zij thermolabiel zijn (*Eykman, Conradi, Kurpjuweit, Otto* en *Munter*), dan weer thermostabiel (*Hajos*) soms passeeren ze porceleinen filters (*Hajos*), soms niet (*Eykman, Conradi*).

Na *Besredka*'s onderzoekingen over het antivirus hebben speciaal de factoren die in streptococcen- en staphylococcenbouillonculturen de groei belemmeren bijzondere aandacht getrokken en tal van onderzoekingen hebben hierover het licht gezien. Ook bij deze onderzoekingen komt men tot uiteenloopende conclusies en worden zoowel veranderingen in de P_H (*Louros* en *Gaessler*), als uitputting der bodems en secretie van bijzondere groeiremmende stoffen (antivirus), als oorzaak aangemerkt, terwijl door *Aldershof* het proces der filtratie in verband wordt gebracht met de groeiremming.

Ook over het wezen en de andere eigenschappen van het antivirus loopen de meeningen zeer uiteen.

Uit de min of meer chaotische reeks gegevens komt tenslotte de vraag naar voren: bestaat er werkelijk een specifieke stof — het antivirus — die aansprakelijk is te stellen voor de remming in vitro en is deze dezelfde als bij de immunisatie.

De hier volgende proeven zijn bedoeld als een bijdrage tot beantwoording van deze vragen.

Allereerst is nagegaan of de groeiremming niet het gevolg is van een der eerste gevolgen der bacterie vegetatie, n.l. uitputting van den voedingsbodem, terwijl verder proeven zijn verricht met betrekking tot den invloed van de eventueel, tijdens den groei, optredende P_H-veranderingen en van het filtratieproces.

Tenslotte is een proef uitgewerkt om na te gaan of oude bouillonculturen werkelijk specifiek immuniseerende eigenschappen bezitten en of er parallelisme bestaat tusschen de groeiremmende eigenschap en het immuniseerend vermogen.

1. Is gebrek aan voedingsstoffen oorzaak der bacterieremming in oude bouillonculturen?

De mogelijkheid dat het verschijnsel der groeiremming berust op vermindering of uitputting van voedende bestanddeelen in de bouillonculturen leidde tot de volgende proeven:

Bij pullorumcultuurfiltraat dat een duidelijke groeiremming bezat tegenover pullorum-bacillen werd een gelijke hoeveelheid (5 cc.) normale bouillon gevoegd (buis 1). Een tweede buis werd gevuld met gelijke hoeveelheden physiologische keukenzoutoplossing en normale bouillon (ieder 5 cc.), terwijl een 3e en 4e buisje beide werden gevuld met normale bouillon (5 cc. in elk buisje).

Alle 4 buisjes werden geënt met pullorum-bacillen. Hiertoe werd met een pipet 1/100 cc. van een 24 uur oude bouilloncultuur per 5 cc. vloeistof toegevoegd, zoodat in de buisjes 1 en 2, 2/100 cc. cultuur werd gebracht.

Na bebroeden bij 37° C. gedurende 24 uur werd de groei beoordeeld door het aantal kiemen per cc. te bepalen.

Het bepalen van het aantal kiemen per cc. vloeibare cultuur werd verricht door het maken van groote verdunningen, van welke verdunning dan een bepaalde hoeveelheid op een agarplaat werd gebracht. Het aantal kiemen dat op deze plaat groeide werd vermenigvuldigd met het verdunningsgetal, zoodat de uitkomst het aantal kiemen per cc. leverde.

Aan cultuurbuis 3 werd nadat zij 24 uur in de broedstoof had gestaan 5 cc. antivirus toegevoegd en aan cultuurbuis 4, 5 cc. physiologische keukenzoutoplossing.

Na opnieuw 24 uur bij 37° C. te zijn bebroed werd nogmaals het aantal kiemen bepaald.

Het bleek hierbij dat het aantal kiemen in cultuurbuis 3, die oorspronkelijk 5 cc. bouillon bevatte, na toevoeging van het antivirus weinig is toegenomen, althans niet in die mate als dit in de normale bouillon, welke een gelijke verdunning had ondergaan door toevoeging van physiologische keukenzoutoplossing, had plaats gehad.

Vergelijken we cultuurbuis 1 en 2, dan zien we dat cultuurbuis 1 minstens evenveel voedingsstoffen bevat als buis 2.

In cultuurbuis 1 komen per eenheid na bebroeding echter minder kiemen voor dan in 2, waaruit valt af te leiden dat de remmende invloed in oude bouilloncultuuren niet kan worden toegeschreven aan gebrek aan voedingsstoffen.

Ook de vergelijking van de culturen 3 en 4 voert tot dezelfde conclusie.

Bij het ingaan van het 2e etmaal bevatten beide evenveel voedingsstoffen. In beide buizen was de eerste 24 uur goede groei opgetreden, daar niets de vermeerdering van de microben belemmerde. Bij toevoeging van pullorumcultuurfiltraat nam de vermeerdering echter sterk af vergeleken bij normale verdunde bouillon.

Duur van bebroeden.	1 5 cc. Antivirus + 5 cc. Bouillon.	2 5 cc. phys. NaCl. + 5 cc. Bouillon.	3 5 cc. Bouillon.	4 5 cc. Bouillon.
24 uur.	Geringe troebeling. 210 millioen.	Matige troebeling. 560 millioen.	Zware troebeling. 790 millioen.	Zware troebeling. 670 millioen.
			+ 5 cc. antivirus.	+ 5 cc. phys. NaCl. opl.
48 uur.			450 millioen.	960 millioen.

Een tweede zeer eenvoudige proef werd eveneens genomen

om na te gaan of gebrek aan voedingsstoffen de groei in oude bouilloncultuuren verhindert.

Hierbij werd gebruik gemaakt van goed remmende staphylococcen-, streptococcen- en vlekziekte-bouilloncultuurfiltraten.

In geen der filtraten trad bij herenting met de homologe bacterie groei van eenige beteekenis op.

Aan elk filtraat werd toegevoegd 2 %, 4 %, 25 % en 50 % gewone voedingsbouillon, waarna de correspondeerende bacteriën werden geënt, en het geheel in de broedstoof geplaatst.

Als contrôle diende physiologische keukenzoutoplossing, waaraan eveneens dezelfde percentages bouillon waren toegevoegd.

Uit de tabel valt het resultaat af te lezen.

Toegevoegd.	Staphylococcen cultuurfiltraat geënt met staphylococcen.	Streptococcen cultuurfiltraat geënt met streptococcen.	Vlekziekte cultuurfiltraat geënt met vlekziektebacillen.	Physiologische NaCl oplossing		
				Geënt met Staphylococcen.	Geënt met Streptococcen.	Geënt met Vlekziektebacillen.
2 % normale bouillon.	—	—	—	+	+	±
4 % normale bouillon.	—	—	—	+	+	+
25 % normale bouillon.	—	±	+	+	+	+
50 % normale bouillon.	+	+	+	+	+	+

Uit deze tabel volgt, dat er werkelijk een remmende factor ook bij deze cultuurfiltraten bestaat, want physiologische keukenzoutoplossing met dezelfde hoeveelheden normale bouillon gemengd geeft reeds een duidelijken groei.

Toevoeging van 25 % normale bouillon aan het antivirus

heft den remmenden factor op voor vlekziektebacillen. Om de remmende werking bij de streptococcen en staphylococcencultuurfiltraten op te heffen is echter toevoeging van 50 % bouillon noodzakelijk.

Ook deze proef levert niet het bewijs, dat gebrek aan voedingsstoffen de oorzaak der groeivermindering is.

Bij de voorgaande proef die enkele malen werd herhaald bleek bovendien dat de remming in oude bouillonculturen in graad zeer verschillend kan zijn.

Dit komt bijvoorbeeld duidelijk in de volgende tabel uit, waarbij een ander vlekziektecultuurfiltraat werd gebruikt.

Dit vlekziektecultuurfiltraat werd vermengd met 1 %, 5 % 10 %, 25 % en 50 % normale bouillon, waarna vlekziektebacillen werden ingebracht.

Na 24 uur bebroeden werd evenals bij het voorgaande experiment door uitstrijken van een öse materiaal op een agarplaat de groei nagegaan van de verschillende mengsels.

Als contrôle diende physiologische keukenzoutoplossing, waaraan dezelfde percentages bouillon waren toegevoegd.

Vergelijken we den groei in de verschillende buisjes, waarin zich antivirus met een zeker percentage bouillon bevindt, met den groei in de buisjes welke een mengsel van physiologisch keukenzout en bouillon bevatten, dan krijgen we den indruk dat over het algemeen de groei in de laatste mengsels beter is geweest dan in de eerste. Zelfs toevoeging van 50 % normale bouillon aan het antivirus heft de remmende werking niet op. Dit is een aanmerkelijk verschil met het bij de vorige proef gebruikte vlekziektecultuurfiltraat waarbij reeds goede groei bij toevoeging van 25 % normale bouillon optrad.

In het mengsel physiologisch keukenzout plus 5 % bouillon zou men, naar het aantal kolonies dat op de plaat werd geteld, kunnen afleiden dat in dit cultuurbuisje sterke groei was opgetreden. Dit was echter niet het geval. Het groote aantal kolonies staat waarschijnlijk in direct verband met het feit dat vlekziektebacillen in vloeibare cultuur spoedig aan elkander kleven. Hoewel de culturen steeds voor de enting der platen werden geschud is het toch mogelijk dat in het onderhavige geval een vlokje bacillen op de plaat is gebracht. Achteraf bezien is een vlekziektebacil voor dergelijke proeven

minder geschikt en kan men zich beter van bewegelijke bacteriën bedienen.

ANTIVIRUS + NORMALE BOUILLON.

Buis.		Macroscopische groei.	Aantal kolonies op plaat.
1	Antiv. + 1% bouillon.	In geen der buisjes duidelijke groei.	25 kolonies.
2	Antiv. + 5% bouillon.		3 kolonies.
3	Antiv. + 10% bouillon.		6 kolonies.
4	Antiv. + 25% bouillon.		12 kolonies.
5	Antiv. + 50% bouillon.		14 kolonies.
6	Alleen antivirus.		22 kolonies.

PHYSIOLOGISCHE KEUKENZOUT OPLOSSING + NORMALE BOUILLON.

Buis.		Macroscopische groei.	Aantal kolonies op plaat.
1	Phys. NaCl. + 1% bouillon.	—	3 kolonies.
2	Phys. NaCl. + 5% bouillon.	±	257 kolonies.
3	Phys. NaCl. + 10% bouillon.	±	68 kolonies.
4	Phys. NaCl. + 25% bouillon.	+	75 kolonies.
5	Phys. NaCl. + 50% bouillon.	+	56 kolonies.
6	Alleen Phys. NaCl.	—	3 kolonies.

Resumé.

Uit de onder 1 genoemde proeven blijkt: ten eerste, dat de remmende werking in bouillonfiltraten niet het gevolg is van gebrek aan voedingsstoffen ontstaan door de vegetatie der bacteriën, en ten tweede dat de groeiremmende factor bij verschillende stammen van éénzelfde bacteriesoort in graad sterk kan uiteenloopen.

2. Is de P_H verandering in de bouilloncultuurfiltraten verantwoordelijk voor de groeiremming?

Van een aantal bouilloncultuurfiltraten van staphylo- en streptococcen en colibacillen die allen een min of meer duidelijke remming gaven werd de P_H bepaald. Dit geschiedde volgens de colorimetrische methode van *Walpole*.

Hierbij bleek dat de P_H der streptococcenfiltraten varieerde tusschen 6.9 en 7.3, die der staphylococcen tusschen 7.6 en 7.8 en die der colibacillen tusschen 8.0 en 8.2.

Normale voedingsbouillon waarvan uitgegaan was had een P_H van 7.6. Bij het cultiveeren der bacteriën had dus de P_H eenige wijziging ondergaan, te weten: de streptococcen media waren meer zuur, de overige meer alkalisch geworden. De schommelingen waren echter gering en zij overschreden niet de maximale en minimale grenzen waarbinnen groei mogelijk is.

Het was te verwachtenn dat de P_H niet verantwoordelijk was te stellen voor de groeiremming. Bij correctie der P_H. tot 7.6 verbeterde de bacteriegroei in de filtraten dan ook niet.

3. Werkt de groeiremmende factor in vitro specifiek?

Karakteristiek voor de groeiremmende eigenschappen van het antivirus is volgens *Besredka* de specificiteit. Volgens zijn oorspronkelijke mededeelingen zouden alleen homologe bacteriesoorten in hun groei worden geremd. Een staphylococcen antivirus zou bijvoorbeeld alleen staphylococcen in hun groei remmen, terwijl andere bacteriën erin groeien als in normale bouillon.

Slechts weinigen hebben bij hunne proefnemingen uitkomsten verkregen die *Besredka's* meening in dit opzicht volledig kunnen bevestigen en het schijnt ook dat hijzelf hiervan min of meer is terug gekomen.

Sprekende over dit onderwerp bij een persoonlijk bezoek aan zijn laboratoria bleek het dat zijn meening over de specificiteit der groeiremmende eigenschap thans aldus is te formuleeren: remming van heterologe bacteriesoorten kan voorkomen, het behoeft echter niet en is geen vaste regel; de remming van homologe bacteriën is het sterkst.

In de volgende proef is nagegaan of van een specifieke groeiremmende factor gesproken kan worden.

Verschillende bacteriestammen (coli, paratyphus, staphylococcus, streptococcus en pullorum) werden geënt in bouillon; elke bacteriesoort in 6 cultuurbuizen, zoodat 5 reeksen elk van 6 culturen ontstonden. Deze werden geplaatst in de broedstoof gedurende 8 dagen; hierna volgde verhitting der culturen tot 100° C., gedurende 20 minuten. Opnieuw werden daarna de buizen geënt; één buis met de homologe bacteriesoort en de overblijvenden van elke reeks ieder met een andere bacteriesoort. Na 24 uur werd de groei gecontroleerd door van elke cultuur 1/100 cc. op een agarplaat te brengen.

Geënt met:	Colicult.	Paratyphus cult.	Staphylococcen cult.	Streptococcen cult.	Pullorum cult.	Normale bouillon.
Coli	±	++	++	++	++	++
Páratyphus . . .	±	++	++	++	++	++
Staphylococcen	±	++	±	++	±	++
Streptococcen .	±	++	++	++	++	++
Pullorum bact.	±	++	++	++	±	++
Contr. antivirus	—	—	—	—	—	

Uit de bovenstaande tabel blijkt dat na 8 dagen een duidelijke groeiremming slechts bij enkele culturen valt waar te nemen. Het blijkt dat de colicultuur niet alleen tegen den homologen colistam, maar ook tegenover de overige bacteriesoorten eveneens groeiremmend werkt. De overige culturen bezitten geen aantoonbare groeiremmende kracht, zelfs niet tegenover de homologe bacteriesoort. Alleen de staphylococcencultuur remt de groei der staphylococcen; dit neemt men echter ook bij de pullorumcultuur waar, die behalve de pullorumbacillen ook de staphylococcen remt.

Slechts in enkele oude bouillonculturen bleek dus een groeiremmende factor te bestaan.

Het feit dat de colicultuur alle overige soorten eveneens remt mag, volgens *Besredka's* standpunt, niet als een bewijs tegen de specificiteit worden beschouwd.

Ook de pullorum bouilloncultuur bewijst dit niet, zoodat het resultaat van deze proef beschouwd kan worden als aansluitend bij *Besredka's* opvattingen, alhoewel niet te ontkennen valt dat deze specificiteit verre van absoluut is.

Dat sommige bacterieculturen geen remming vertoonen is door mij herhaaldelijk waargenomen.

Bij een eenigszins critische beschouwing der literatuur blijkt echter dat dit een bekend verschijnsel is, alhoewel, zoover ik heb kunnen nagaan, nimmer uitdrukkelijk hierop is gewezen.

Op de vraag of het hier werkelijk om een bepaalde stof gaat die de groei der bacteriën remt, geeft deze proef geen volledige opheldering.

Het is n.l. niet uit te sluiten dat bijvoorbeeld de remming in de coliculturen berust op een stofwisselingsquestie. Men zou zich toch immers kunnen voorstellen dat de verminderde groei in de coliculturen van staphylococcen, streptococcen, enzoovoorts berust op afwezigheid van voor deze bacteriën assimileerbare stoffen.

4. De beteekenis der filterpassage ten opzichte van de groeiremming.

Aldershof is de eerste geweest die bij de bestudeering der groeiremmende factoren in het antivirus volgens *Besredka* de aandacht gevestigd heeft op de beteekenis die het filtratieproces voor de groeiremmende eigenschap zou kunnen hebben.

Zijn onderzoekingen leidden tot de opvatting dat de groeiremmende factor berust op de filtratie en dat van een specifieke, de bacteriegroei remmende stof, die door de bacteriën zou worden afgescheiden, geen sprake is.

Zoover ik heb kunnen nagaan wordt in de literatuur niet veel aandacht geschonken aan deze mededeelingen. *Besredka* zelf bestrijdt *Aldershof's* opvattingen door er onder meer op te wijzen dat het antivirus wordt verkregen na 1 of 2 filtraties en niet na 7 of meer, en verder dat het heelemaal niet noodig

is, dat flitratie plaats vindt om de remmende eigenschap te kunnen aantoonen, deze is eveneens merkbaar in niet gefiltreerde doch gedoode bouillonculturen.

Over dit onderwerp nu zijn door mij een aantal experimenten verricht, die ten doel hadden den invloed na te gaan ten opzichte van de groeiremming van filtratie van verschillende voedingsmedia door E. K. en Chamberland filters.

Allereerst is dit nagegaan voor normalen voedingsbouillon, daarna voor bouillonculturen.

A. Kan filtratie van normale bouillon door E. K. Seitz filters remming geven?

a. Bij deze proef werd Liebig's bouillon gebruikt. De filtratie had plaats door denzelfden E.K. filter tot 10 keer toe. Na elke filtratie werd een hoeveelheid filtraat genomen voor groeibepaling van bacillus coli, bacillus paratyphi en staphylococcen.

Bij verhitting der filtraten trad een neerslag op. Dit was het sterkst in het 1e filtraat; het 2e, 3e enz. filraat bevatte steeds minder neerslag; het 10e heel weinig.

Filtraties.	Bacillus coli.	Bacillus-paratyphi.	Staphylo-coccen.
1	+	+	+
2	+	+	+
3	+	+	+
4	+	+	+
5	+	+	+
6	+	+	+
7	+	+	+
8	+	+	+
9	+	+	+
10	+	+	+

Uit de tabel volgt, dat bij meerdere filtraties door denzelf-

den E.K. filter niet de minste verhindering of belemmering van den groei der bacteriën blijkt te bestaan.

b. Hierbij werd Liebig's bouillon telkens gefiltreerd door een nieuwen E.K. filter.

Na elke filtratie werd de groei bepaald. Het filtraat werd voor de bepaling der groeiremming gesteriliseerd door verhitting gedurende 1 uur bij 70° C.

Het neerslag was na elke filtratie zwaarder. Enting der filtraten geschiedde van vasten voedingsbodem af met een öse. Dit verdient speciaal vermelding omdat was opgemerkt, hetgeen *Aldershof* reeds eerder had gezien, dat bij enting van een vasten bodem af, dus wanneer men kan aannemen dat een klompje bacteriën in het filtraat wordt gebracht, de groei beter is dan wanneer geënt wordt uit een emulsie.

Om deze reden werd ook een reeks filtraten geënt uit bacterie-emulsies. Er bleek wel een in graad verschillende groei plaats te hebben, n.l. de groei bij enting uit emulsie van bacteriën was minder sterk maar van verhindering was geen sprake.

Daar in alle filtraten duidelijke groei optrad, volgt, dat ook na filtratie door een reeks nieuwe E.K. Seitzfilters geen merkbare remming valt waar te nemen.

Resumé:

Meermalen filtreeren van normalen bouillon door een reeks nieuwe E.K. Seitzfilters of door steeds dezelfde heeft geen remmenden invloed op den bacteriegroei in dezen bouillon.

B. Kan filtratie van bouillon door Chamberland L 3 kaarsen remming geven?

Voor het ten uitvoer brengen van dit experiment werd eveneens gebruik gemaakt van gewonen Liebig's voedingsbouillon, welke gefiltreerd werd door een reeks Chamberland L 3 kaarsen. Na elke filtratie werd een gedeelte van het filtraat over enkele bouilloncultuurbuisjes verdeeld. Hierin werd het bestaan van een eventueel opgetreden groeiremmende eigenschap tegenover verschillende bacteriën gecontroleerd.

Het resultaat, dat men bij een dergelijke proef kan bereiken, volgt uit onderstaande tabel, waarbij dient te worden

opgemerkt, dat bij verschillende reeksen kaarsen andere uitkomsten worden verkregen.

Filtraat.	Staph.	Strept.	Coli.	Parat.	Pull.	Klein'sche bac.	Ovale bac.
1	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++
3	++	+	++	++	++	++	++
4	++	+	++	++	++	++	++
5	++	±	++	+	++	++	++
6	++	—	++	+	++	++	+
7	+	—	++	+	+	++	±
8	+	—	++	±	±	++	—
9	—	—	++	—	—	++	—
10	—	—	++	—	—	+	—
11	—	—	++	—	—	+	—
12	—	—	++	—	—	+	—

Uit de tabel volgt, dat na herhaalde filtratie door een bepaalde willekeurige reeks Chamberland L 3 kaarsen gewone normale voedingsbouillon zoodanig kan veranderen, dat bepaalde micro-organismen er niet meer normaal in kunnen groeien.

C. De invloed van filtratie van bacterieculturen op de remming.

Uit de voorgaande proef is gebleken, dat meermalen herhaalde filtratie van gewonen bouillon door porseleinen bacteriekaarsen verhindering van den groei der bacteriën kan geven. De volgende proef heeft ten doel, na te gaan, welken invloed, met het oog op de groeiremming, de filtratie heeft van bacterieculturen. Immers, het moet mogelijk worden geacht, dat onder invloed van den bacteriegroei de remmende werking na filtratie duidelijker voor den dag zou treden.

Reeds bij het uitvoeren van de voorgaande en andere inleidende proeven, die grootendeels een herhaling waren van de onderzoekingen van *Aldershof*, was het, zooals reeds is opgemerkt, opgevallen, dat de herhaalde filtraties een in graad zeer wisselenden invloed op de groeiremming in de filtraten hadden. Behalve deze eigenaardigheid was eveneens opgemerkt. dat er bij de bacteriën zelf groot verschil bestaat in het verwekken van den groeiremmenden factor. Men is dikwijls in de gelegenheid in oude culturen groeiremming waar te nemen, ook wanneer men filtratie uitschakelt, maar daarentegen treft men ook bacteriënstammen aan waarbij deze eigenschap der groeibelemmering, ondanks langeren tijd bebroeden en meerdere herentingen, zoo goed als uitblijft. Bij een eenigszins critische beschouwing der literatuur blijkt dat dit meermalen is geconstateerd, ook al is er dan ook door niemand speciaal op gewezen.

In dit verband behoeft slechts herinnerd te worden aan de onderzoekingen van *Kaufmann*, die bij de Bacillus coli geen remmenden factor kon waarnemen, terwijl daarentegen *Barnes* meedeelt, dat een duidelijke groeiremming in coliculturen door hem reeds viel waar te nemen na vier dagen bebroeden.

Deze omstandigheden maken het noodzakelijk dat, ter beoordeeling van den afzonderlijken invloed der kaarsfiltratie op bouillonculturen, tevens van dezelfde culturen contrôleantivirus wordt bereid waarbij de filtratie vervalt.

In de volgende proef is dan ook, waar het noodig is, filtratie door centrifugatie vervangen. Op deze wijze kan dus worden vastgesteld, welke de afzonderlijke invloed is van den groei der bacteriën in voedingsbouillon en van den groei en de filtratie gezamenlijk. Hieruit kan tot slot de beteekenis der filtratie worden opgemaakt.

De opzet van de proef was als volgt:

Van 4 kolfjes normale bouillon werden er twee gebruikt voor filtratieproeven, de overige twee voor centrifugatieproeven. Van elke categorie werd één kolfje geënt met staphylococcus aureus, terwijl het andere ongeënt bleef en als contrôle diende.

Na zes dagen bebroeden bij 37° C. volgde filtratie, eventueel centrifugatie, zoowel van den cultuurbouillon als van den

FILTRATEN.

Aantal filtraties	Niet geënte bouillon.				Geënte bouillon.			
	Kolonieaantal na				Kolonieaantal na			
	24 u.	48 u.	72 u.	concl.	24 u.	48 u.	72 u.	concl.
1	∞	∞	∞	++	∞	∞	∞	++
2	„	„	„	++	„	„	„	++
3	„	„	„	++	„	„	„	++
4	„	„	„	++	89	„	„	+
5	„	„	„	++	56	81	63	±
6	103	„	„	+	0	0	0	—
7	60	72	54	±	—	—	—	—
8	0	1	0	—	—	—	—	—
9	—	0	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—	—	—

CENTRIFUGATEN.

Aantal centri-fugaties.	Niet geënte bouillon.				Geënte bouillon.			
	Kolonieaantal na				Kolonieaantal na			
	24 u.	48 u.	72 u.	concl.	24 u.	48 u.	72 u.	concl.
1	∞	∞	∞	++	∞	∞	∞	++
2	„	„	„	++	„	„	„	++
3	„	„	„	++	„	„	„	++
4	„	„	„	++	„	„	„	++
5	„	„	„	++	90	„	„	+
6	„	„	„	++	29	„	„	+
7	„	„	„	++	53	„	„	+
8	„	„	„	++	0	0	0	—
9	„	„	„	++	—	—	—	—
10	„	„	„	++	—	—	—	—

contrôlebouillon. Er werden dan tegelijk enkele reageerbuizen gevuld met filtraat, eventueel centrifugaat, om hierin de groeiremming te controleeren. Herenting der kolfjes geschiedde telkens met denzelfden staphylococcusstam als 24 uur oude bouilloncultuur. De filtratie werd verricht met Chamberland L 3 kaarsen, die reeds meermalen waren gebruikt, maar vooraf gereinigd werden. Voor de filtratie van den contrôlebouillon en de bouillonculturen werden telkens twee verschillende kaarsen gebruikt. Voor de centrifugatie werden steriele centrifugebuizen gebruikt, welke door een dekseltje konden worden afgesloten, zoodat seriel centrifugeeren mogelijk was.

Het meten van de groeiremming geschiedde als volgt:

Enkele reageerbuizen werden na elke filtratie en centrifugatie met ± 5 cc. filtraat, eventueel centrifugaat, gevuld en geënt met staphylococcus aureus. Deze filtraat- en centrifugaatculturen werden na 24, 48 en 72 uur gecontroleerd door één öse cultuur uit te strijken over ½ agarplaat. Het aantal kolonies, dat op de plaat geteld kon worden, gaf een beeld van den al of niet verhinderden groei (zie tabel).

Om zooveel mogelijk vergelijkbare resultaten te verkrijgen, werd voor filtratie van bouillon en bouillonculturen steeds gebruik gemaakt van Chamberland L 3 kaarsen. Deze kaarsen werden geplaatst in speciaal daarvoor geconstrueerde kolven, terwijl op de opening der kaars een trechter werd geplaatst, waarin de te filtreeren vloeistoffen konden worden gebracht. De zuigkracht werd verkregen door middel van een waterstraalluchtpomp, waarvan de voor de zuiging dienende leiding was voorzien van een terugslagflesch, die geregeld toezicht overbodig maakte gedurende de filtratie, welke, doordat zij van binnen naar buiten geschiedde en dikwijls vrij groote hoeveelheden betrof, veel tijd eischte.

Uit de bovenstaande tabel blijkt, dat er na de 4e filtratie en na de 5e centrifugatie een remmende werking waarneembaar wordt. Bij de centrifugaten is de groeiremming niet direct verhindering van den groei, zooals bij de filtraten valt waar te nemen. Nadat na 24 uur bebroeden een remming van het centrifugaat aantoonbaar is, zien we dat het volgende etmaal toch vermeerdering der bacteriën optreedt; de remming is dus geen absolute verhindering, doch meer een tijde-

lijke belemmering. Dit verschijnsel geeft den indruk, dat de bacteriën eerst aan het milieu moeten gewennen om zich te vermeerderen. Tenslotte blijft ook in de centrifugaten bacteriëngroei geheel uit.

Hoewel de remmende werking in bouillonfiltraten en staphylococcencultuurfiltraten voor staphylococcen duidelijk was, voor colibacillen was dit minder overtuigend. Ook in staphylococcencultuurcentrifugaten was de groei der colibacillen beter dan die der staphylococcen en ook beter dan de groei der colibacillen in staphylococcencultuur- en bouillonfiltraat.

Tijdens de uitvoering der proef werd steeds de P_H gecontroleerd. Van den uitgangsbouillon bedroeg deze 7.4; schommelingen boven en onder de voor groei van staphylococcen maximale en minimale grenzen kwamen niet voor. Rectificatie der P_H was dus overbodig.

Het was niet onmogelijk, dat de groeiremming in de centrifugaten bij deze proef uitsluitend het gevolg was van een algeheele uitputting van het voedingsmedium *). Immers, werden slechts enkele druppels normalen verschen bouillon toegevoegd aan enkele kubieke centimeters centrifugaat, dan trad groei op. Dit pleit er niet voor, dat in de centrifugaten een stof voorkomt, van welken aard die ook moge zijn, die voor de remming aansprakelijk is, daar dan een zeer geringe toevoeging van voedende bestanddeelen toch zeker geen volkomen regeneratie zou teweegbrengen.

Beschouwen we eerst even alleen de filtratieproeven, dan zien we, dat de remming in het cultuurfiltraat eerder optreedt dan in het bouillonfiltraat. Dit mag echter nog geen aanleiding zijn om aan te nemen, dat dit het gevolg is van antivirus door bacteriegroei in cultuurfiltraten, daar voor de verschillende filtratieprocessen gebruik is gemaakt van verschillende L 3 kaarsen. Dit kan, waarop reeds is gewezen, de oorzaak zijn, dat de remming in de geënte en niet geënte filtraten niet parallel loopt. Vergelijken we echter de cultuurfiltraten met de cultuurcentrifugaten, dan zien we, dat de cultuurfiltraten eerder remmen dan cultuurcentrifugaten.

*) Dit was een toevallige omstandigheid welke echter geen afbreuk deed aan de waarde der proef daar het hier de bepaling van den invloed van filtratie betrof.

We kunnen dus hier de conclusie trekken, dat de filtratie door porseleinen filters wel invloed uitoefent op het optreden van den groeiremmenden factor, in dien zin, dat zij dit optreden versterkt. De filtratie uitsluitend aansprakelijk te stellen voor de groeiremming, zooals *Aldershof* dat doet, gaat m.i. echter te ver. Menige bouilloncultuur toch vertoont duidelijk groeiremming na 1 of 2 × filtreeren en het is zelfs mogelijk groeiremming aan te toonen, zonder dat bij de antivirusbereiding filtratie wordt verricht.

D. Waaraan is de groeiremmende factor, welke door filtratie ontstaat toe te schrijven?

Bij de inleidende proefnemingen was het reeds opgevallen, hoe in sterkte wisselend de invloeden der filtratie op de remming zijn. Dit wekte het vermoeden, dat de kaars zelf hierbij een groote beteekenis had.

Om dit na te gaan, werden de volgende proeven verricht:

a. Versche voedingsbouillon werd 1, 2, 3 enz. tot 9 maal toe door eenzelfde Chamberland L 3 kaars gefiltreerd. Na elke filtratie werden enkele reageerbuizen gevuld om hierin het resultaat der filtratie op den bacteriëngroei te kunnen nagaan. Verschillende bacteriestammen werden in deze bouillonfiltraten geënt, te weten: staphylococcen, streptococcen, coli en paratyphus. Deze Chamberlandkaars L 3 was geen nieuwe kaars, maar een, die reeds meerdere malen voor andere filtratieproeven gebruikt was. Zij was op de gebruikelijke wijze schoongemaakt.

Bij deze proef bleek, dat de filtraties alleen eenigen invloed hadden tegenover den gebruikten streptococcenstam A, welke was geïsoleerd uit een submaxillair abces bij een paard. De overige bacteriënstammen ondervonden geen merkbaren invloed.

Mogen we den streptococcenstam „A" als een voor filtratie „gevoeligen" stam beschouwen, dan zouden we de conclusie kunnen trekken, dat een aantal filtraties door éénzelfde kaars, een voor gevoelige microben merkbare remming geeft.

b. Eenzelfde proef als de voorgaande (*a*) werd ingesteld,

echter werd thans voor elke filtratie een andere gereinigde kaars gebruikt. Ten opzichte van ovale bacillen, staphylococcen, streptococcen, coli- en paratyphusbacillen werd in de filtraten de groei nagegaan. Ovalebacillen en streptococcus pyogenes equi (stam A) vertoonden reeds na de 5e filtratie duidelijk belemmering van den groei. Staphylococcen en Bacillus coli groeiden na de 8e filtratie nog goed. Pas na 10 filtraties werd voor de Bacillus coli remming waargenomen.

Verhitting der filtraten tot 80° à 90° C. gaf bij afkoeling een neerslag. Dit neerslag werd zwaarder naar gelang de filtraties in aantal toenamen.

c. Nogmaals werd de vorige proef herhaald. De filtraties geschiedden thans door geheel nieuwe L 3 kaarsen, waarmede tevoren geen filtratieproeven waren verricht. Bij verwarming trad in deze filtraten geen neerslag op.

Groeiremming werd nagegaan tegenover coli- en paratyphusbacillen, staphylococcen en bacillus pyocyaneus. Hierbij trad geen enkele groeiremming op. Ook wanneer slechts kleine hoeveelheden gefiltreerd werden, bleef elke groeiremming uit. Dit laatste werd om de volgende reden nagegaan.

Als men zich op het standpunt stelt, dat door de kaars een groeiremmende stof wordt afgescheiden, dan is de mogelijkheid niet uit te sluiten, dat een groote hoeveelheid bouillon geen remming geeft, terwijl een kleine het wel doet omdat in het eerste geval de remminggevende stof in veel geringere concentratie aanwezig zal zijn. Dit bleek niet het geval, zoodat uit de proef afgeleid kan worden, dat normale bouillon onder invloed van filtraties door nieuwe L 3 kaarsen als voedingsbodem niet verandert.

d. Van de in de voorgaande proeven ter sprake gebrachte bouillonfiltraten, welke waren verkregen bij verschillende methoden, werden volgens de colorimetrische methode van *Walpole,* de waterstofionenconcentraties bepaald. Deze uitkomsten zijn ondergebracht in de hieronderstaande tabel, waarin ook correspondeerende resultaten der groeibepaling zijn opgenomen.

Uit deze tabellen volgt, dat het filtratieproces, zoowel bij

gebruik van porseleinen filters als van E.K. filters, de P_H slechts gering beïnvloedt. Het P_H cijfer der verschillende filtraten verschilt slechts enkele tienden van den uitgangsbouillon. Men kan dan ook niet de verandering in de P_H verantwoordelijk stellen voor den ontbrekenden groei in de

	Filtratie door dezelfde tevoren gebruikte L 3 kaars.		Filtratie door verschillende, gebruikte L 3 kaarsen.		Filtratie telkens door nieuwe kaars.		Filtratie door dezelfde E.K. filter.		Filtratie steeds door nieuwe E.K. filter.		Opmerkingen.
Filtr.	P^h	Groei.	P^h	Groei.	P^h	Groei.	P^h	Groei.	P^h	Groei.	
1	7.6	+	7.7	+	6.9	+	7.1	+	7.3	+	De enting der filtraten geschiedde steeds met öse van vaste voedingsbodem.
2	7.4	+	7.6	+	6.8	+	7.3	+	7.2	+	
3	7.4	+	7.6	+	6.9	+	7.3	+	7.2	+	
4	7.5	+	7.6	+	7.3	+	7.3	+	7.2	+	
5	7.4	+	7.5	±	7.3	+	7.4	+	7.0	+	
6	7.4	+	7.5	—	7.3	+	7.3	+	7.0	+	
7	7.4	+	7.6	—	7.2	+	7.4	+	7.0	+	
8	7.4	+	7.6	—	7.2	+	7.3	+	7.0	+	
9	7.4	+	7.5	—	7.3	+	7.3	+	6.9	+	
10	7.4	+	7.5	—	7.3	+	7.3	+	6.9	+	

filtraten, waarbij voor filtratie gebruikt waren te voren gebruikte gereinigde filters, daar de P_H hierbij niet valt buiten de minimale en maximale grenzen, waarbij kiemen als coli, staphylococcen e.d. groeien.

Conclusies.

1. Meerdere filtraties van normalen bouillon door E.K. Seitzfilters of door steeds denzelfden E.K. Seitzfilter, hebben geen remmenden invloed op den bacteriegroei in dezen bouillon tengevolge. Dit is in strijd met de onderzoekingen van *Aldershof*, welke onderzoeker, volgens zijn publicatie, in staat was in op deze wijze ver-

kregen filtraten een duidelijke groeiremming aan te toonen.

2. Filtratie van normalen bouillon door een aantal porseleinen bacteriefilters kan remming van den groei in deze filtraten tengevolge hebben. De optredende groeiremmende factor is niet constant, daar hij bij gebruik van verschillende reeksen kaarsen in graad kan verschillen.
3. De beteekenis van het filtratieproces voor de groeiremming van door porseleinen bacteriefilters gefiltreerde bouilloncultuuren is niet van dien aard, dat men hieraan de groeiremming in het z.g. antivirus van *Besredka* kan toeschrijven. Wel is waar is er eenige invloed ten opzichte der groeiremming merkbaar, maar dit wordt pas na meerdere filtraties (4 à 6) aantoonbaar.
4. De groeiremmende factor, die bij filtreeren door porseleinen kaarsen ontstaat, blijkt in zijn optreden gebonden te zijn aan het al of niet van te voren voor bacteriefiltratie reeds gebruikt zijn der kaarsen.
5. De veranderingen der waterstofionenconcentratie, die bij filtratie door verschillende filters optreden, blijken te gering te zijn om hieraan de eventueel optredende groeiremming te kunnen toeschrijven.

5. Is locale immuniteit door remmende normale bouillonfiltraten mogelijk?

Het interesseerde mij verder of met door filtratie verkregen groeibelemmerenden bouillon bij laboratoriumdieren eveneens immuniteit kon worden verkregen evenals *Besredka* dat kon met bouilloncultuurfiltraten (antivirus) van staphylococcen, die hij hiervoor op de onthaarde huid bracht door middel van met dit antivirus gedrenkte tampons. De verkregen immuniteit was in staat het dier tegen een latere staphylococceninfectie te beschutten. Mocht het blijken dat deze bouillonfiltraten eveneens immuniseerend konden werken, dan zou dit ongetwijfeld een wapen in de hand beteekenen van diegenen, die de immuniseerende werking van het antivirus willen terugbrengen tot die der aspecifieke

proteinetherapie. Voor de proef werd gebruik gemaakt van:

1e. 9 maal door een nieuwe kaars gefiltreerden bouillon, welke geen groeiremming gaf.
2e. 9 maal door een reeks gereinigde, reeds meermalen gebruikte kaarsen gefiltreerden bouillon, welke staphylococcengroei verhinderde.
3e. staphylococcen cultuurcentrifugaat.
4e. staphylococcen-antivirus van de „Laboratoires Probios" te Parijs.
5e. staphylococcen-antivirus van staphylococcen, geïsoleerd uit een schoftfistel van een paard.

De staphylococcenstam, die voor het verwekken van abcessen in de huid bij konijnen werd gebruikt, was afkomstig uit een abces aan de voorborst van een paard. Deze staphylococcen waren pathogeen, in twee dagen gaf een geringe dosis staphylococcen bij intracutane applicatie een duidelijk floride abcesje.

De konijnen, die voor de proef moesten dienen, werden op de rughuid geschoren. Nadat de huid was gescarificeerd werd een tampon op de huid gebracht, die gedrenkt was in antivirus of een andere op haar immuniseerende werking te onderzoeken vloeistof. Fixatie van den tampon werd verkregen door leucoplast pleister.

Deze tamponbehandeling had plaats op twee achtereenvolgende dagen; den 4en dag werd het dier ingespoten met staphylococcenemulsie intracutaan. Hier volgen nadere bijzonderheden omtrent het verloop der infecties.

Konijn 362.

Volwassen konijn, behandeld met *9 maal gefiltreerden niet-remmenden normalen bouillon.*

13/9. Ingespoten met 1/4 cc. staphylococcenemulsie intracutaan.

15/9. Zwelling op injectieplaats ter grootte van een kleinen knikker, rood, warm, geen pusvorming.

16/9. Als 15/9. Ettervorming. Staat op punt van doorbreken.

17/9. Niet gecontroleerd.

18/9. Zwelling toegenomen. Abces doorgebroken. Opnieuw ettervorming onder de korst.

19/9. Etter ontlast. Rustiger aspect.

Konijn 363.

Volwassen dier. Behandeld met *9 maal gefiltreerden remmenden bouillon.*

13/9. Ingespoten met 1/4 cc. staphylococcenemulsie intracutaan.

15/9. Zwelling over oppervlakte van een halven cent. Weinig rigide.

16/9. Zwelling iets grooter. Ettervorming.

17/9. Niet gecontroleerd.

18/9. Abces doorgebroken. Etter ontlast. Infiltratie van de omgeving.

19/9. Ettervorming onder de korst. Omschreven infiltratie.

Konijn 364.

Volwassen dier. Behandeld met *staphylococcencultuurcentrifugaat.*

13/9. Ingespoten met 1/4 cc. staphyloccocenemulsie, intracutaan.

15/9. Klein knobbeltje op plaats van injectie. Geen ettervorming, niet rood, niet warm.

16/9. Geringe niet pijnlijke zwelling ter grootte van een kleine erwt.

17/9. Niet gecontroleerd.

18/9. Zwelling teruggegaan.

19/9. Zwelling zoo goed als verdwenen. Huid normaal.

Konijn 367.

Jong konijn. Halfwas. Behandeld met *„antivirus antipyogene canin"* van de „Laboratoires Probios".

13/9. Ingespoten 1/4 cc. staphylococcenemulsie, intracutaan.

15/9. Op de injectieplaats klein knobbeltje te voelen.

16/9. Als 15/9.

17/9. Niet gecontroleerd.

18/9. Zwelling is teruggegaan tot geringe huidverdikking.

Konijn 368.

Jong konijn. Halfwas. Behandeld met *staphylococcenantivirus* (paard).

13/9. Ingespoten met 1/4 cc. staphylococcenemulsie, intracutaan.

15/9. Geringe zwelling op plaats van injectie, geringe roodheid, geen pusvorming.

16/9. Roodheid verdwenen, zwelling als 15/9.

17/9. Niet gecontroleerd.

18/9. Zwelling zoo goed als verdwenen.

19/9. Infiltratie in de omgeving. Geen pusvorming. Bij onderzoek wordt hierin Gram + staafje gevonden (secundaire infectie).

Uit deze dierexperimenten laat zich afleiden dat meermalen gefiltreerde bouillon, hetzij deze al of niet groeibelemmerende eigenschappen bezit, niet in staat is een zoodanige huidimmunisatie te geven dat hierdoor konijnen voor een intracutane staphylococcenbesmetting refractair zijn. Alleszins bestond er verschil in het verloop van het ontstekingsproces met de contrôledieren, maar hierbij moet er op worden gewezen dat de beide contrôlekonijnen jonge dieren waren, waardoor dit verschil verklaard kon worden.

Het „antivirus antipyogene" van de „Laboratoires Probios" en het, aan het Instituut voor Parasitaire en Infectieziekten bereide antivirus, bleken beide in staat abcesvormingen tegen te gaan. Er was een opvallend onderscheid met de contrôlekonijnen, waarbij zich direct een floride abcesje ontwikkelde. Dat konijn 368 hierop een uitzondering maakte, kon buiten beschouwing blijven. Aanvankelijk was de zwelling ook bij 368 afnemende; later trad hierbij toenemende circumsscripte zwelling op. Bij microscopisch onderzoek bleek dan ook een Gram positief staafje aanwezig te zijn.

Tegelijkertijd met de hier genoemde dierexperimenten werd een konijn behandeld met bouilloncultuurfiltraat van een willekeurigen staphylococcenstam, welke na 2 maal enten en filtreeren een onduidelijke groeiremming vertoonde.

Het dier werd met denzelfden staphylococcenstam als voor de andere konijnen gebruikt was geïnfecteerd na de gebruikelijke behandeling met tampons gedurende twee achtereenvolgende dagen.

Hier volgen de nadere gegevens omtrent het verloop:

Konijn 365.

Halfwas. Behandeld met *onduidelijk remmend staphylococcencultuurfiltraat.*

13/9. Ingespoten 1/4 cc. staphylococcenemulsie, intracutaan

15/9. Geringe diffuse zwelling, geringe roodheid.

16/9. Zwelling minder hard, roodheid zoo goed als weg.

17/9. Niet gecontroleerd.

18/9. Zwelling nauwelijks te voelen, geen roodkleuring.

19/9. Idem.

Uit bovenstaand geval, vergeleken bij de voorgaande, kan worden afgeleid dat het verschil in immuniseerend vermogen tusschen remmende en onduidelijk remmendestaphylococcenfiltraten gering is, en dat een betrekkelijk gering remmend vermogen nog niet een voldoende immuniseerende werking behoeft uit te sluiten.

HOOFDSTUK III.

WERKING VAN HET ANTIVIRUS BIJ ENKELE DIERZIEKTEN.

1. Antivirus bij pullorum-infectie der kuikens.

De tegenwoordig algemeen gevolgde bestrijdingswijze van de zoo van groot economisch belang zijnde pullorumziekte van het pluimvee is er op gebaseerd den kringloop der besmetting te onderbreken. Men is bij de bestrijding hierop aangewezen, omdat andere methoden ontbreken.

Noch met sera's, noch met vaccins zijn bevredigende resultaten bereikt. Eenigszins anders staat het met den bacteriophaag. *Douglas* vermeldt n.l. dat hij met bacteriophaag enkele verrassend goede resultaten bereikte, maar tot een algemeene practische toepassing van de bacteriophaag is het toch niet gekomen.

Ook tegenover de door *Beller* aangegeven methode, waarbij de volwassen ouderdieren werden gevaccineerd, mag men, zooals uit de onderzoekingen van *De Blieck* bleek, niet optimistisch staan.

Het onderbreken van den kringloop der besmetting is in zijn uitvoering zeer omslachtig en kostbaar, te meer daar dit meerdere jaren achtereen moet worden doorgevoerd om succes te bereiken.

Het zou daarom zijn toe te juichen, indien er een methode gevonden werd, waarmede de ziekte goedkooper en minder omslachtig kan worden bestreden.

Met dit doel zijn de hierna volgende experimenten genomen.

Besredka bericht, dat door middel van vaccins en antivirus, dat onder bepaalde voorzorgsmaatregelen per os wordt toegediend, menschen en laboratoriumdieren tegen Shigadysenterie en cholera zijn te immuniseeren. Beide ziekten zijn speciaal in het darmkanaal gelocaliseerd. *Besredka* neemt

aan, dat door de vaccinatie per os een ongevoeligheid van het darmepithelium tot stand komt, waardoor de porte d'entrée geblokkeerd geraakt, hetgeen algeheele immuniteit ten gevolge heeft. Later is gebleken, dat ook parenterale toediening van het vaccin bij deze ziekte immuniteit kon geven. Ook dit beschouwt *Besredka* als een gevolg van locale ongevoeligheid van het darmkanaal, doordat het toegediende vaccin de grootste affiniteit heeft voor de digestie tractus.

Van deze gegevens is uitgegaan bij de hier navolgende pullorumproeven en is getracht door middel van het antivirus, al of niet gemengd met de bacterielichamen, dat op verschillende wijzen werd toegediend, kuikens in een besmette omgeving tegen de infectie te beschutten. Men neemt aan, dat de infectie ook bij deze ziekte per os gaat en dat, althans in de eerste stadia speciaal het darmkanaal is aangetast, waarop de sterke diarrhee der zieke diertjes ook wel wijst.

Het verloop van pullorumziekte bij kuikens is meestal acuut, waarbij de mortaliteit niet zelden 80 %—90 %, ja zelfs 100 % bedraagt. Hoe ouder de dieren worden, des te chronischer is het verloop en specifieke ziekteverschijnselen neemt men bij volwassen dieren gewoonlijk dan ook niet waar.

De directe oorzaak der pullorumziekte is de Bacillus pullorum, een staafje van middelmatige grootte, dat onbewegelijk en gram negatief is en geen sporen vormt.

Bij de pullorumziekte gaat de besmetting in een circulus viciosus, hen — ei — kuiken — hen. Door de besmette hen, die gewoonlijk „smetstofdraagster" wordt genoemd, wordt een aantal besmette eieren gelegd. Bij de bebroeding komen uit deze eieren, vooropgesteld dat ze bevrucht zijn, een aantal besmette kuikens, terwijl ook een aantal reeds vóór het uitkomen in het ei is gestorven. De geïnfecteerde kuikens besmetten de omgeving met de faeces; hierin schuilt een groot besmettingsgevaar, daar kuikens de gewoonte hebben versche faeces op te pikken.

In peracute gevallen zijn de ziekteverschijnselen zeer gering of niet aanwezig; zij vallen plotseling in coma neer en sterven kort daarna. Is het verloop minder snel, dan behooren tot het typische ziektebeeld: lusteloosheid, diarrhee, opgezet veerenkleed, hangende vleugeltjes, en wanneer ook de longen

in het ziekteproces zijn betrokken, wat niet zelden het geval is, een abnormale ademhaling.

Vooral de eerste dagen is de sterfte het grootst, op een leeftijd van 14 dagen begint dit af te nemen, terwijl na 4 weken de sterfte voorbij is. Kuikens die niet sterven, worden grootendeels smetstofdragers. Oogenschijnlijk zijn deze hennen gezond, maar toch komen in een besmetten toom meer sterfgevallen voor dan onder normale omstandigheden.

Bij de kuikens, die gedurende de eerste levensdagen sterven, treft men gewoonlijk geen duidelijke orgaanafwijkingen aan. Bij kuikens, ouder dan 1 week, zijn de veranderingen duidelijker. Talrijk zijn dan de necrotische, geelwit getinte haardjes, die in lever, hart en nieren, maar vooral ook in de longen voor kunnen komen. Deze haardjes kunnen in sommige organen, b.v. het hart, conflueeren, zoodat aan het hart zoo goed als geen normaal spierweefsel meer te onderkennen is. Veelal bestaat dan tevens pericarditis. Bij volwassen hennen zijn de afwijkingen meestal gelocaliseerd in de geslachtsorganen, (eierstok, eileider), maar ook kan men necrotische processen in het hart en de lever aantreffen. De longen zijn bij volwassen hennen hoogst zelden aangetast. De pathologische processen in ovariën en eileider zijn dikwijls oorzaak van peritonitis, wat dan tenslotte dikwijls de doodsoorzaak is. Het bacteriologisch onderzoek levert geen moeilijkheden op. Bijna steeds is de pullorumbacil op eenvoudige voedingsbodems te kweeken en dit is van groote waarde voor het stellen der diagnose als het sectiebeeld ons in den steek laat.

Bijzonderheden over het gebruikte antivirus.

Het antivirus, dat aanvankelijk bij deze proeven werd gebruikt, was bereid met 15 verschillende pullorumstammen, die geïsoleerd waren uit ingezonden kuikenmateriaal. Deze stammen waren alle min of meer oude culturen, de meeste hadden reeds meer dan 5 cultuurpassages ondergaan. Met dit antivirus van oude stammen is weinig succes bereikt, hetgeen hieruit moge blijken, dat met dit antivirus behandelde kuikens geen enkelen voorsprong hadden boven de contrôlekuikens. Naar aanleiding van een persoonlijke mededeeling van Mej. *Regorowitz*, die aan het Instituut voor Parasitaire

en Infectieziekten werkzaam was, werd daarom een nieuw antivirus gemaakt, eveneens polyvalent, echter van versche pullorumstammen, die alle in reinculturen in bouillon uit kuikencadavers waren geïsoleerd.

Zij werden voor de bereiding van het antivirus in gewonen bouillon P_H 7.4 gekweekt gedurende 6 dagen bij 37° C., daarna had filtratie door Chamberland L 3 kaarsen plaats en herenting met denzelfden stam, waarop opnieuw cultiveering gedurende 6 dagen bij 37° C. volgde. Tenslotte werden de kiemen uitgefiltreerd en het filtraat gedurende ½ uur bij 70° C. verhit. Op deze wijze werd een vloeistof verkregen, die uiterlijk van verschen bouillon niet verschilde.

Proeven:

Voor de proeven werd gebruik gemaakt van 1 à 2 daags kuikens, die van ouders afkomstig waren, waaronder geen pullorumbesmetting voorkwam. De infectie had bij de eerste proef plaats door middel van versche culturen, die uit kuikencadavers waren geïsoleerd. Het verloop van deze proef met kunstmatige infectie deed echter vermoeden, dat de besmetting te licht was, om welke reden bij de volgende proeven gebruik werd gemaakt van natuurlijke besmetting door aan pullorum lijdende kuikens bij de proefkuikens te plaatsen. Het antivirus werd per os, intramusculair en subcutaan toegediend. Het antivirus, dat per os werd ingegeven, was met een geringe hoeveelheid rundergal gemengd (1 : 10) om het contact tusschen antivirus en cellen van den darmtractus mogelijk te maken.

Hieronder volgen de nadere bijzonderheden.

Proef A. Antivirus per os of subcutaan. Infectie met cultuur per os.

Zestig ééndags kuikens werden in groepen van 20 stuks over drie kunstmoeders verdeeld. Groep 1 kreeg antivirus per os, groep 2 subcutaan en groep 3 diende als contrôlegroep.

Door het drinkwater van elke groep werd tweemaal daags 2 cc. van een cultuur van pullorumbacillen gemengd gedurende de eerste 5 dagen. De groep, welke antivirus gemengd met gal per os kreeg, werd op 2 achtereenvolgende

dagen telkens 1 cc. mengsel ingegeven, de subcutane inspuiting van ½ cc. antivirus had slechts eenmaal plaats.

Gedurende het verloop der proef trad noch in de contrôlegroep, noch in de behandelde groepen sterfte van eenige beteekenis op. Slechts 2 kuikens der met antivirus voorbehandelde en 2 contrôlediertjes stierven gedurende de eerste week. Ook ziekteverschijnselen bleven uit. Op een leeftijd van ongeveer 5 weken trad sterfte in tengevolge van coccidiosis, waarbij ruim 50 % der overgebleven kuikens stierf. De overige werden op een leeftijd van 3 maanden op pullorum onderzocht. Er waren geen reageerende dieren. Uit de geringe verliezen, die bij deze proeven, zoowel bij de voorbehandelde als bij de contrôlekuikens optraden en ook op grond van het negatief uitvallen van het bloedonderzoek op antistoffen tegenover den pullorumbacil, moet worden afgeleid, dat de besmetting te zwak is geweest.

Proef B. Antivirus per os of subcutaan. Contactinfectie.

Deze proef werd op dezelfde wijze opgezet als de vorige. Voor de infectie dienden hier echter aan pullorum lijdende kuikens. Deze laatste waren uit een toom, waaronder massasterfte heerschte. Zij waren 5 dagen oud. Bij elke groep proefkuikens werden 5 van deze besmette diertjes geplaatst. Stierf één der voor besmetting dienende kuikens, dan werd dit door een nieuw vervangen. Het resultaat volgt uit de tabellen.

We zien dan, dat de toediening van het antivirus per os de kuikens niet beschut tegen pulloruminfectie.

Bij subcutane injectie van het antivirus werd beter resultaat bereikt. Van de twintig kuikens, welke op deze wijze waren behandeld, bleken 4 kuikens geïnfecteerd. De graad van besmetting was oogenschijnlijk niet minder zwaar dan bij de per os behandelde en bij de contrôlegroep, waarbij respectievelijk 19 en 17 kuikens geïnfecteerd bleken. Hieruit kan worden afgeleid, dat bij deze proef subcutane injectie van antivirus den kuikens een zekere resistentie geeft tegenover pullorumbesmetting, in dien zin, dat het sterftecijfer er door wordt verlaagd.

TABEL B.

Groep 1.						Groep 2.						Groep 3.					
Antivirus per os.						Antivirus subcutaan.						Contrôle.					
No.	Bereikte leeftijd in dagen.	Diarrhee-verschijnselen.	Sectie of cultuur.	Agglutinatie.	Geinfecteerd.	No.	Bereikte leeftijd in dagen.	Diarrhee-verschijnselen.	Sectie of cultuur.	Agglutinatie.	Geinfecteerd.	No.	Bereikte leeftijd in dagen.	Diarrhee-verschijnselen.	Sectie of cultuur.	Agglutinatie.	Geinfecteerd.
1	6	+	+		+	21	2	—	—		—	41	8	+	+		+
2	7	+	+		+	22				—	—	42	15	+	+		+
3	4	+	+		+	23	21	—	—		—	43	10	+	+		+
4	11	—	+		+	24	17	—	+		+	44	5	+	+		+
5	8	+	+		+	25				—	—	45	34	—	+		+
6	7	+	+		+	26	8	+	—		—	46	3	+	+		+
7	3	—	+		+	27				+	+	47	8	+	+		+
8	6	+	+		+	28				—	—	48	6	+	+		+
9	18	+	+		+	29				—	—	49	10	+	+		+
10	21	+	+		+	30				—	—	50	21	+	—		—
11	7	—	+		+	31				—	—	51	6	+	+		+
12	11	+	+		+	32	32	—	—		—	52	—	—		—	—
13	8	+	+		+	33	22	—	—		—	53	12	+	+		+
14	6	+	+		+	34				—	—	54	5	+	+		+
15	28	+	+		+	35	19	—	+		+	55	10	+	+		+
16	23	—	+		+	36		+		—	—	56	22	—	—		—
17	22	+	+		+	37				+*)	+	57	—	—	—	+	+
18	7	+	+		+	38	11	+	—		—	58	10	+	+		+
19	22	+	+		+	39				—	—	59	13	+	+		+
20	—	—		—	—	40				—	—	60	5	+	+		+

*) No. 37 reageerde op leeftijd van 5 weken negatief, op leeftijd van 7 maanden positief.

Proef C. **Antivirus intramusculair. Contactinfectie.**

In een broedmachine werden ingelegd 80 eieren van positief reageerende hennen en 40 eieren van negatief reageerende hennen. Uit de besmette eieren werden 14 kuikens geboren, deze werden met evenveel kuikens uit de niet-besmette eieren in twee groepen verdeeld, zoodat groep *a* en *b* ieder bestonden uit 7 kuikens uit eieren van besmette ouders en 7 kuikens uit eieren van niet-besmette ouders.

TABEL C.

Antivirus intramusculair.						Contrôle.					
Kuikens van		Spontaan gestorven na .... dagen.	Sectie of Cultuur.	Agglutinatie proef.	Geinfecteerd.	Kuikens van		Spontaan gestorven na .... dagen.	Sectie of Cultuur.	Agglutinatie proef.	Geinfecteerd.
gezonde ouders.	besmette ouders.					gezonde ouders.	besmette ouders.				
1				+	+	15		15	+		+
2				+	+	16		12	+		+
3			+	+	+	17		17	+		+
4			+	+	+	18			+	+	+
5				+	+	19		15	+		+
6			+	+	+	20		20	+		+
7				+	+	21			+	+	+
	8	8	+		+		22	8	+		+
	9	5	+		+		23	2	+		+
	10		+	+	+		24	6	+		+
	11	17	+		+		25	2	+		+
	12	7	+		+		26	10	+		+
	13		+	+	+		27	10	+		+
	14	7	+		+		28	4	+		+

Groep *a* werd behandeld met antivirus, dat intramusculair werd ingespoten in een hoeveelheid van ½ cc., groep *b* diende als contrôlegroep. De behandeling had plaats op een leeftijd van 2 dagen. Deze proef onderscheidt zich van de voorgaande,

doordat hierbij het antivirus intramusculair aan de borstspier wordt ingebracht en dat zoowel de gezonde kuikens, als die, welke afkomstig zijn van besmette ouders, worden behandeld.

Gedurende het verloop der proef maakten de kuikens der behandelde groep een beteren indruk dan de niet behandelde. Verschijnselen van diarrhee, die bij de contrôlegroep zoo veelvuldig voorkwamen, werden zoo goed als niet er bij waargenomen.

Uit de tabel blijkt, dat de sterfte bij de niet voorbehandelde groep grooter was. Op een leeftijd van 5 weken werden alle dieren afgemaakt. Alvorens hiertoe werd overgegaan, werd eerst de agglutinatieproef verricht. Hierbij bleek, dat alle behandelde kuikens positief reageerden. Bij sectie werden onder de uit niet besmette ouders geboren kuikens aangetroffen: 1 met pericarditis, 2 met pullorumafwijkingen in de lever. Bij de beide uit besmette ouders geboren kuikens, welke beide positief reageerden, werden hartafwijkingen waargenomen. Bij het bacteriologisch onderzoek van de kuikens, welke orgaanafwijkingen vertoonden, konden pullorumbacillen worden gekweekt.

De beide overgebleven kuikens der contrôlegroep waren van gezonde ouderdieren afkomstig. Bij sectie bleken zij beide pullorumafwijkingen aan de organen te vertoonen (hart en lever). Bij het bacteriologisch onderzoek werden uit een der cadavers pullorumbacillen gekweekt.

Bij het andere viel het bacteriologisch onderzoek negatief uit. Met het oog op de duidelijke pullorumafwijkingen en de positieve agglutinatieproef werd ook dit kuiken als positief besmet beschouwd.

De resultaten van deze proef resumeerend, zien we, dat bij de behandelde groep geen enkele der uit eieren van niet besmette ouders geboren kuikens is gestorven. Vergelijken we de contrôlegroep hiermee, dan zouden we hieruit kunnen afleiden, dat de intramusculaire behandeling wel een gunstigen invloed heeft gehad op de sterfte dezer kuikens. Het antivirus geeft echter geen absolute beschutting, men kan hoogstens zeggen, dat de mortaliteit wordt verlaagd. Voor de kuikens van besmette ouders heeft de intramusculaire inspuiting van het antivirus geen beteekenis gehad.

Proef D. Niet gefiltreerde, gedoode bouilloncultuur per os. Contactinfectie.

Naar aanleiding van literatuur over gedoode bouillonculturen als vaccin tegen pulloruminfectie, werd nogmaals een proef ingezet, waarbij de kuikens per os werden behandeld. Als vaccin werd gebruikt een 12 dagen oude bouilloncultuur, waarin de microben door verhitting waren gedood.

Evenals bij de vorige proef werden 2 groepen kuikens geformeerd, groep *a* en *b* bestonden ieder uit 14 tweedaags kuikens, geboren uit pullorumvrije ouderdieren en 16 vierdaags kuikens, geboren uit besmette ouders. Elke groep werd afzonderlijk in een kunstmoeder geplaatst. De kuikens van groep *a* kregen op 2 achtereenvolgende dagen telkens ieder 1 cc. van de bouilloncultuuren per os.

Nadat de kuikens 4 weken in de besmette omgeving hadden doorgebracht, werden die van gezonde ouders gescheiden van die van besmette ouders en geplaatst in een schoone kunstmoeder. Op dat moment werd de agglutinatieproef verricht, welke werd herhaald, nadat de dieren 4 weken in een nieuwe omgeving hadden doorgebracht. Dit werd gedaan, omdat het mogelijk moet worden geacht, dat kuikens, die in een besmette omgeving leven, reageeren, zonder dat zij geïnfecteerd zijn.

Uit de tabel D volgt, dat de behandelde kuikens, afkomstig van gezonde ouders, iets beter weerstand hebben geboden dan de niet behandelde; ook bij de uit besmette ouders geboren kuikens bestaat gering verschil bij de behandelde en de niet behandelde.

Komen we aan het eind van deze proeven tot een resumé, dan kunnen we zeggen, dat het antivirus bij intramusculaire en subcutane toediening den kuikens een grooteren weerstand geeft tegenover een latere pullorumbesmetting, hetgeen valt af te leiden uit de lagere mortaliteit. Hetzelfde kan gezegd worden van gedoode bouilloncultuuren, die per os worden toegediend.

De practische beteekenis van deze methode is waarschijnlijk zeer gering, daar bij de proeven het aantal geïnfecteerde kuikens geen essentieele verlaging tengevolge der behandeling had ondergaan.

TABEL D.

Pullorumbouilloncultuur per os.							Contrôle groep.						
Kuikens van		Spontaan gestorven na . . dagen.	Sectie of cultuur.	1e agglutinatie.	2e agglutinatie.	Geïnfecteerd.	Kuikens van		Spontaan gestorven na . . dagen.	Sectie of cultuur.	1e agglutinatie.	2e agglutinatie.	Geïnfecteerd.
gezonde ouders.	besmette ouders.						gezonde ouders.	besmette ouders.					
1			—	—	—	—	31			+	—	—	+
2			—	—	—	—	32			+	—	—	+
3			—	—	—	—	33			+	—	—	+
4		6	—			—	34			—	—	—	—
5			—	—	—	—	35			+	—	—	+
6			—	—	—	—	36		6	—			—
7			+	—	—	+	37			+	—	—	+
8			—	—	—	—	38		13	—			—
9			—	—	—	—	39			+	—	—	+
10			—	—	—	—	40			—	—	—	—
11			+	—	—	+	41			—	—	—	—
12			+	—	—	+	42			—	—	—	—
13			—	—	—	—	43			+	—	—	+
14			—	—	—	—	44			+	—	—	+
	15	7	+			+		45		—	—	—	—
	16		—	—	—	—		46	9	+			+
	17	26	+	—		+		47	6	+			+
	18	6	+			+		48	9	+			+
	19		+	+	+	+		49	11	+			+
	20	17	+			+		50	10	+			+
	21		—	—	—	—		51		+	—	—	+
	22	6	+			+		52	14	+			+
	23		—	—	—	—		53		+	—	—	+
	24		+	+	+	+		54		—	—	—	—
	25	19	+			+		55	12	+			+
	26	6	+			+		56		+	+	+	+
	27		—	—	—	—		57		—	—	—	—
	28		+	+	+	+		58	13	+			+
	29		+	+	+	+		59	7	+			+
	30		—	—	—	—		60	12	+			+

Vergelijken we de resultaten, welke *Douglas* met de bacteriophaag bij de pullorumziekte verkreeg, met de hier beschreven uitkomsten bij gebruik van antivirus, dan dient te worden opgemerkt, dat de werking der bacteriophaag blijkbaar verschilde van die van het antivirus. *Douglas* meent n.l. uit zijn proeven te moeten concludeeren, dat de bacteriophaag de ziekte meer acuut doet verloopen, waardoor grootere en op jongeren leeftijd sterfte optreedt dan bij niet voorbehandelde dieren. Vaak blijven, zoo zegt hij, daarna alleen gezonde kuikens over, wat ten deele valt te verklaren uit het feit, dat door de acute sterfte een groote bron van besmetting verloren gaat. Door toediening der bacteriophaag zag hij dus de sterfte toenemen. Alleen in geval de ziekte werd veroorzaakt door voor de bacteriophaag weinig resistente bacteriën, zag hij een verlaging van het sterftecijfer. Deze resultaten, die ongetwijfeld hoopvol zijn, werden door *Douglas* verkregen bij zijn proefnemingen gedurende het vroege voorjaar. Later in het broedseizoen werden de resultaten minder bevredigend, tenslotte had de bacteriophaag geen invloed meer op het verloop der ziekte. Hij meent dit te moeten toeschrijven aan de resistentie der pullorumbacillen tegenover de bacteriophaag, welke naar mate het broedseizoen verloopt, grooter wordt.

De resultaten, welke met antivirus werden bereikt, waren van eenigszins anderen aard dan de voorgaande. Het meest frappante bij deze onderzoekingen was, dat het sterftecijfer steeds een duidelijke verlaging aangaf. Desondanks bleek het, dat de overlevende kuikens voor een groot percentage besmet waren. Hierin schuilt een groot gevaar, daar deze besmette dieren vroeg of laat weer als smetstofverspreiders kunnen optreden. Er kan dus bij een behandeling met antivirus feitelijk niet van een bestrijding der pullorumziekte gesproken worden.

2. Antivirus bij Klein'sche ziekte.

Enkele curatieve-prophylactische toepassingen.

Onder *Klein*'sche ziekte hebben we te verstaan een besmettelijke ziekte met hooge mortaliteit, welke zich aanvankelijk als een darmlijden voordoet. Na een tamelijk acuut verloop sterven de dieren gewoonlijk onder verschijnselen van septicaemie. Deze ziekte is, nadat zij omstreeks 1890 door *Klein* in Engeland was onderkend, in 1906 voor het eerst in Holland gediagnostiseerd en door *Van Straaten* en *Te Hennepe* in 1917 uitvoerig beschreven.

De oorzaak der *Klein*'sche ziekte is een korte, plompe bacil, welke meerdere benamingen draagt, o.a. Bacillus gallinarum Klein, Bacillus sanguinarum, Bacillus typhigallinarum alcalifaciens.

Deze bacil vertoont groote overeenkomst met de Bacillus pullorum. Noch langs cultureelen, noch langs agglutinatorischen weg is het gelukt de Bacillus gallinarum van de Bacillus pullorum te onderscheiden. De pathogeniteit van de Bacillus gallinarum is wisselend. Niet steeds kan men door infectie per os of subcutaan proefkippen doodelijk besmetten.

De natuurlijke infectie heeft met groote waarschijnlijkheid plaats door middel van excreta. Voor de verspreiding der smetstof hebben, zooals gemakkelijk valt te verklaren, slooten en plassen groote beteekenis. Het water wordt besmet wanneer zieke kippen zich in de nabijheid hiervan ophouden. De ziekte komt vooral in het voorjaar en in het begin van den zomer voor. Na een incubatietijd van 3—5 dagen, komen de eerste verschijnselen voor den dag. Zieke kippen zijn lusteloos, traag en suf. Waarschijnlijk tengevolge van de hooge koorts hebben de dieren geweldigen dorst. Zeer spoedig treedt een groengele diarrhee op en de eetlust verdwijnt geheel. Na ½ à 5 dagen sterft het dier. Wanneer de ziekte eenigen tijd op een bedrijf heerscht, krijgt men ook subacute en chronische gevallen. Bij sectie der acuut gestorven kippen behooren tot de meest typische afwijkingen een bronskleurige lever, welke echter ook kan ontbreken, en verder een min of meer duidelijke enteritis.

De bestrijding der ziekte geschiedt door het treffen van

hygiënische maatregelen en door behandeling met vaccin, serum of bacteriophaag.

In de praktijk wordt alleen behandeling gevraagd voor koppels, waarin reeds de ziekte heerscht. Voor zoover het de serumbehandeling betreft, staat het zoo goed als vast, dat hierdoor passieve immuniteit valt te bereiken. Daar een serumbehandeling slechts tijdelijke verbetering geeft, heeft men de seruminjectie wel gecombineerd met de vaccinbehandeling. De resultaten, hiermede bereikt, zijn niet onverdeeld gunstig en zelfs herhaalde vaccinaties en autovaccinaties schijnen geen bevredigende resultaten te hebben opgeleverd.

Wat van de serumbehandeling gezegd kan worden, kan men ook van de werking van de bacteriophaag zeggen. Dikwijls ziet men de ziekte na toediening van bacteriophaag plotseling ophouden (*d'Hérelle, Kramer*), maar niet zelden treedt na 2 à 3 weken recidive op. Zoover ik heb kunnen nagaan, werd antivirus nog nimmer bij *Klein*'sche ziekte toegepast. Uit de weinige wetenschappelijke gegevens, welke gewagen van goede resultaten, blijkt wel, dat op het oogenblik nog geen goede methode om de ziekte te bestrijden, is gevonden.

In navolging van de hiervoor beschreven pullorumproeven, werd getracht spontane uitbraken van *Klein*'sche ziekte door middel van inspuiting van antivirus te beperken. Om deze proeven ten uitvoer te brengen werd met dierenartsen in de praktijk contact gezocht. Langs dezen weg was het mogelijk een 4-tal koppels te behandelen, waarin *Klein*'sche ziekte was uitgebroken. Het dient gezegd te worden, dat over het geheel de resultaten van de antivirusbehandeling, waarbij per dier 1 cc. antivirus subcutaan werd ingespoten, weinig bemoedigend waren, zoodat nadere bijzonderheden hierover gevoegelijk achterwege kunnen blijven. Voor één der gevallen wil ik echter een uitzondering maken, omdat hierbij de plotselinge ommekeer in het verloop der enzootie na de antivirusbehandeling zeer frappant was. Ongetwijfeld wettigt deze waarneming nadere en uitgebreide onderzoekingen, welke helaas door mij, doordat mij geen verdere gevallen in de praktijk ter oore kwamen, niet ten uitvoer konden worden gebracht.

Hier volgt het verslag:

Geval III F. te B.

Koppel van ± 100 dieren. Reeds 25 à 30 dieren in 10 dagen aan *Klein*'sche ziekte gestorven. De dieren zijn gehuisvest in een bouwvallige schuur en hebben overdag vrijen uitloop op drassig weiland. Nadat de ziekte 10 dagen heeft geheerscht, worden de overgebleven kippen, waarvan reeds enkele ziekteverschijnselen vertoonen, ingespoten met 1 cc. antivirus subcutaan aan de voorborst. Het gebruikte antivirus was bereid met een *Klein*'schen ziektestam, welke versch uit een cadaver was geïsoleerd. Na bebroeding gedurende 30 dagen werden de bouillonculturen gefiltreerd door Chamberland L 3 kaarsen, waarna verhitting tot 70° C. gedurende een half uur volgde.

Het totale aantal ingespoten dieren bedroeg 70 stuks, hiervan werden er 50 met het antivirus behandeld, de overige 20 met normale bouillon op dezelfde wijze. Deze laatste werden gemerkt, hierbij waren 2 stuks duidelijk ziek. Bij de 50 met antivirus behandelde dieren waren 3 stuks kennelijk lijdende aan *Klein*'sche ziekte. Gedurende de eerste drie dagen na de inspuiting, stierven drie der contrôlekippen, welke met normale bouillon waren ingespoten. Van de dieren, welke met antivirus behandeld waren, genazen de drie zieke dieren, terwijl hierbij geen verdere sterfgevallen waren voorgekomen. Gedurende het verdere verloop stierven nog 4 kippen welke met normale bouillon waren behandeld, daarentegen hielden de overige zich goed en hierbij werden ook geen verliezen meer geleden.

Bij een persoonlijk bezoek aan het bedrijf, deelde de eigenaar mij mede, dat reeds enkele dagen na de inspuiting de kippen er beter uitzagen.

Het moet dus niet onmogelijk worden geacht, dat het verloop eener *Klein*'sche ziekte epizootie door antivirus gunstig kan worden beïnvloed.

Kramer heeft er reeds op gewezen, dat bacteriophaag sterfte onder kippen tengevolge van *Klein*'sche ziekte, spoedig doet ophouden. In de praktijk is echter gebleken dat bacteriophaag niet altijd goede resultaten geeft.

In de antivirusbehandeling en de bacteriophaagtherapie

bezitten we methoden, welke ieder op haar beurt aanleiding kunnen geven tot een échec.

Onwillekeurig komt de vraag naar voren of het niet mogelijk is door een combinatie der beide methoden, door toediening van antivirus en bacteriophaag de ziekte met meer succes te bestrijden. Volgens *Rosenthal* en *Dumas* zijn de resultaten met deze gecombineerde methode bij infecties met pyogene bacteriën beter dan wanneer zij òf met antivirus òf met bacteriophaag werden behandeld.

3. Antivirus bij Goedaardige droes der paarden.

Onder de epizootisch verloopende infectieziekten van het paard neemt de goedaardige droes een belangrijke plaats in door de groote schade die zij teweeg brengt aan de paardenfokkerij.

Vooral in instellingen waar veel jonge paarden worden gehouden, als stoeterijen, remonte depots en handelsstallen, is de ziekte mede vanwege haar infectieus karakter en haar jaarlijkschen terugkeer zeer gevreesd.

Niet zoo zeer schuilt haar groot economisch belang in de verliezen welke zijn toe te schrijven aan acute gevallen met doodelijken afloop, dan wel in de gevolgen der ziekte, in den vorm van naziekten en complicaties.

Hiertoe behooren bijvoorbeeld in de eerste plaats die gevallen waarbij de paarden, die, na den acuten aanval te hebben doorstaan, niet meer willen groeien en wegens de langdurige en voortschrijdende vermagering tenslotte waardeloos zijn geworden (z.g. verslagen droes).

Andere paarden hebben een zeer lang reconvalescentiestadium gedurende welken tijd zij een uitstekende verzorging en krachtige voeding noodig hebben om weer op krachten te komen. Dat dit groote kosten meebrengt behoeft niet te worden gezegd.

Andere naziekten en complicaties zijn nog petechiaaltyphus, dampigheid en cornage, waarvan de beide laatsten nog al eens voorkomen, wat steeds oorzaak is van een niet geringe vermindering in gebruik- en geldwaarde.

Een doelmatige bestrijding der goedaardige droes zou, zooals uit het bovenstaande valt af te leiden, groote economische beteekenis hebben.

Door den aard der ziekte en de groote resistentie der droesstreptococcen tegenover chemische, physische en thermische invloeden leveren de hygiënische en afzonderingsmaatregelen onvoldoende resultaat op.

Ook de methoden om de dieren passief of actief te beschutten zijn grootendeels, zooals uit aangehaalde literatuur zal blijken, zoo wisselvallig in hun werking, dat het niet te verwonderen valt dat men er toe gekomen is de dieren maar aan besmetting bloot te stellen, in de hoop dat zij eerder zouden

worden aangetast om op deze manier het z.g. „doorzieken" van een koppel vlugger te doen verloopen.

Een dergelijk systeem bevredigt echter allerminst ons medisch gevoel, en het kan wenschelijk worden geacht dat men in de naaste toekomst zal trachten een methode te vinden die goedaardige droes bij jonge paarden voorkomt.

Mijn eigen onderzoekingen betreffen een curatieve en preventieve behandeling der goedaardige droes met antivirus. Het lijkt mij daarom gewenscht in aansluiting op de beschrijving der ziekte een overzicht te geven van de resultaten die reeds bekend zijn bij de pogingen paarden passief of actief te beschutten en van de curatieve waarde van sera's, vaccins en andere bacterieproducten.

Beschrijving der ziekte.

Goedaardige droes is een infectieziekte met een acuut verloop, die door een streptococcus (Streptococcus equi) veroorzaakt wordt en zich voordoet als een diffuse ontsteking van de slijmvliezen der voorste luchtwegen, speciaal die van neus en keel, gepaard met etterige secretie en secundaire zwelling en abcedeering der regionaire lymphklieren.

Nadat *Rivolta* reeds in 1873 gewezen had op het voorkomen van streptococcenlichaampjes in goedaardigen droesetter werd door *Sand* en *Jensen*, *Schütz* en *Poels* bijna gelijktijdig en onafhankelijk van elkaar deze streptococcus als verwekker aangewezen. De bovengenoemde onderzoekers konden met reinculturen van deze streptococcus karakteristieke droesverschijnselen bij paarden opwekken.

Algemeen is men van meening dat de droesstreptococcus buiten het lichaam spoedig afsterft en avirulent wordt, wat doet vermoeden dat overbrenging en verspreiding dus in hoofdzaak zal gaan van dier op dier.

Richter echter toonde aan dat de resistentie der droesstreptococcen tegenover physische, thermische en chemische invloeden zeer groot is en dat men bij de verspreiding met indirect contact rekening zal moeten houden.

De ziekte treedt sporadisch, enzootisch, epizootisch op en komt meest voor bij veulens en jonge paarden tot 5-jarigen leeftijd.

In stoeterijen en remonte-depôts komt de ziekte jaarlijks voor, waarbij dan alle veulens en jonge paarden worden aangetast die de ziekte nog niet hebben gehad. Hoewel met het toenemen van den leeftijd de gevoeligheid afneemt kunnen ook oudere paarden van elken leeftijd, die in hun jeugd geen droes hebben gehad, ziek worden. (*Sand* en *Jensen*).

Het doorstaan van een droesinfectie laat voor korteren of langeren tijd immuniteit achter, soms voor het geheele leven. Uitzonderingen komen hier echter op voor; gevallen zijn bekend waarbij paarden in korten tijd meermalen goedaardige droes kregen, al is het dan meestal in den z.g. atypischen vorm.

De mortaliteit van de ziekte is niet hoog, 3 á 4 %.

Differentieel diagnostisch is de borstziekte der paarden van belang. Meermalen heeft men erover gediscussieerd of de borstziekte streptococcus van *Schütz* identisch was met de droesstreptococcen.

Een aantal onderzoekers meenen dat zij identisch zijn (*Hell, Foth* en *Lignières*) op grond van morphologische en cultureele overeenkomst.

Tegenover deze z.g. unisten staan de dualisten (*Bongert, van Straaten, Marmorek*) die op grond van differente uitkomsten bij serologische reacties deze identiteit ontkennen.

Ook *Holth, Adsersen* zien tusschen beide verwekkers verschil in biologische eigenschappen. Na een incubatietijd van 3 á 4 dagen, soms reeds na 24 uur (bij praedisponeerende momenten als neuscatarrh e.a.) breekt de ziekte uit.

Deze begint met hooge koorts en diffuse zwelling met roodheid van neus- en keelslijmvlies. Spoedig treden neusuitvloeiingen op, aanvankelijk sereus, later mucopurulent van aard.

Slikbezwaren, frequente pols en geen eetlust zijn de meest op den voorgrond tredende verschijnselen. Gelijktijdig met de ontwikkeling der neus- en keelcatarrh treedt een warme pijnlijke zwelling van de submaxillaire klieren op, welke na eenigen tijd kunnen abcedeeren.

In gematigden vorm kan de droes ook zonder abcedeering der lymphklieren verloopen. In dezen vorm komt de droes nog al eens voor in de remonte-depôts.

Abcedeeringen der subparotideale en retropharyngeale klieren behooren tot de gewone complicaties.

Complicaties van ernstiger aard zijn o.a. abcedeeringen van het lymphvatensysteem van kop en hals en metastasevorming in verschillende organen en lymphklieren. Ook verschillende naziekten kent men bij droes als cornage, petechiaaltyphus, empyeem der sinus van het hoofd als gevolg van een chronische catarrh der voorste luchtwegen, e.a.

Doodelijke gevallen zijn meestal het gevolg van pyaemie en septicaemie.

Literatuuroverzicht van bereikte resultaten bij curatieve en preventieve behandeling van Goedaardige droes.

a. Met Sera's en Vaccins.

De eerste gegevens betreffende de behandeling van goedaardige droes met serum of vaccin dateeren ongeveer van 1900.

Delvos (1898) was de eerste die bloed van doorgeziekte paarden bij gezonde en aan droes lijdende paarden inspoot. Het ziekteproces werd bij zieke paarden gunstig beïnvloed, terwijl van de preventief behandelde paarden geen enkele ziek werd.

Pflanz (1901) verkreeg met antistreptococcenserum volgens *Pasteur* prachtige genezingen, terwijl *Cappeletti* en *Vivaldi* (1899) een twijfelachtige werking aan het serum toeschrijven.

Maier (1902) bericht dat antistreptococcenserum in zware gevallen niet voldoende helpt.

Angerstein (1902) zag geen noemenswaardige verbetering bij gebruik van serum uit curatief oogpunt.

Lacrois (1903) paste bij een chronisch droesgeval meerdere malen serumbehandeling toe zonder dat er verbetering optrad.

Jelkman (1903) bericht over gunstige resultaten met serum „Gourmin" bij droes in vergevorderde gevallen. Tevens meende hij dat „Gourmin" bij gezonde paarden een zekere immuniteit gaf.

Nocard (1903) beveelt speciaal een hoog polyvalent serum aan omdat hiervan goede resultaten zijn te verwachten.

Piorkowsky en *Jess* (1903) konden met serum immuniteit opwekken, terwijl een grootere dosis genezend werkte.

Simmat (1903) die hetzelfde serum als *Piorkowsky* gebruikte zag, in tegenstelling met diens mededeeling, geen curatieve werking, een immuniseerende werking wil hij niet geheel ontkennen.

Stramnitzer (1904) behandelde 50 gevallen met serum. Hij komt tot de conclusie dat serum goed helpt in het begin van de ziekte. Is het reeds tot zwelling der klieren gekomen dan houdt zelfs een grootere dosis serum de verettering niet meer tegen. Een zekere resistentie tegenover natuurlijke infectie was met droesserum te bereiken.

Wagenhauser (1904) bericht over „Gourmin" dat het wel eenige werking heeft maar dat de verwachtingen niet te hoog gespannen mogen zijn.

Feuerhack (1905) behandelde 264 paarden met droesserum. Dertig tot veertig cc. gaf geen beschutting tegen latere infecties. Doses van 75 cc. gaven bij zieke paarden een merkbare verbetering.

Reimers (1905) zag bij zijn proeven die over 112 paarden liepen zoowel curatief als preventief geen gunstige resultaten van seruminjecties.

Jess (1905) deelt mede dat hij met polyvalent streptococcenserum immuniteit bij 6 paarden kon opwekken.

Voor langere immuniteit moet men simultaan enten met serum en droesstreptococcen.

Pflanz (1905) verkreeg met serum zoowel goede als slechte resultaten.

Dassonville en *Wissocq* (1905) trachtten zoowel passief als actief te immuniseeren. Van de serumpaarden werd 28.5 % ziek (van de contrôledieren 78.5 %) terwijl van de gevaccineerden 29.7 % droes kreeg tegen de contrôledieren 70.2 %.

Kitt (1906) wil een zekere immuniteit na enting met gedoode droesstreptococcen niet uitsluiten.

Kostanjanz (1907) behandelde in het Dongebied 2099 veulens preventief tegen droes; 512 werden er ziek en 67 dieren stierven bij een droesepizootie.

Bij niet voorbehandelde dieren was de sterfte hooger.

Zoowel *Willerding* als *Argoud* (1908) meenen dat serum bij droes zoowel curatief als preventief werkzaam is.

Baldrey (1908) doodde droesculturen met toluol en kon hiermede immuniteit opwekken.

Bardelli (1910) kon met seruminspuiting uitbreiding van een enzootie tegengaan. Behandeling van een transport remontepaarden die in drie groepen werd verdeeld, waarvan een groep met serum werd ingespoten, een tweede groep met vaccin en waarbij de derde groep als contrôle diende, had het volgende resultaat:

groep a, behandeld met vaccin: 7.6 % ziek; groep b, behandeld met serum: 19.4 % ziek; groep c, contrôle: 33.4 % ziek.

Zörner (1908) meent volgens zijn ervaringen dat de z.g. „droeslymphe" samengesteld volgens het voorschrift van *Schreiber* een waardevol middel is ter genezing. Immunisatieproeven verliepen niet gunstig.

Desoubry (1910) komt tot de conclusie dat droesserum een bijzondere prophylactische waarde heeft en dat dient te worden toegepast in fokgebieden met endemische droes.

In de „Mededeelingen der Pruisische Dierenartsen in ambtelijk verband" (1910) bestaat er tegenspraak over de serumwerking. Over het algemeen zijn de resultaten slecht.

Kurtzwig (1914) zegt dat de z.g. „droeslymphe" van *Schreiber* een wisselvallige werking heeft. Hierbij sluit zich *Speiser* aan die zelfs geneigd is de „droeslymphe" alle waarde te ontzeggen.

Thienel (1912) kreeg bij remontepaarden met prophylactische seruminjecties geen bemoedigende resultaten. Curatief werden met serum goede resultaten bereikt.

Stickdam (1918) ziet in *Schreiber*'s „droeslymphe" een middel dat de ziekte verkort en complicaties voorkomt en dat tevens prophylactisch werkzaam is. Hierbij sluit zich ook *Becker* aan.

Schiphorst (1918) verkreeg goede resultaten met serum dat gewonnen was met volvirulente streptococcenstammen.

Lange (1919) kon gezonde dieren beschutten door serum en vaccin dat tegelijk werd ingespoten.

Deckart en *Neumann* (1919) waarschuwen voor *Schreiber*'s „droeslymphe" daar zij na de inspuitingen ziekteverschijnselen waarnamen.

Liebnitz (1924) verkreeg met droes-yatren-vaccinbehande-

ling goede resultaten zoowel therapeutische als prophylactische.

Neubert (1927) bericht over een licht verloop der droesepizootie na yatren-vaccinbehandeling bij jonge remonten.

Timcenko (1928) is echter van meening dat aan droesyatren-vaccin, volgens de opgedane ervaringen in de remontedepôts, geen preventieve werking is toe te schrijven.

Volgens het „Kriegs-Veterinär Bericht" werd in 1916 meegedeeld dat een gunstige invloed van serum op het ziekteverloop niet was te ontkennen, al is geheel herstel na een enkele inspuiting zeldzaam.

In 1917 wordt bericht dat met het serum volgens *Müller-Pfeiffer* geen gunstige resultaten zijn bereikt.

Van de laatste jaren dienen de mededeelingen van *Richter, Herter, Moszdorf* en *Hancke* genoemd te worden.

Richter (1929) kreeg met een gecombineerde enting van een polyvalent kleurstof-vaccin en serum (simultaanenting) goede curatieve resultaten. Veulens die kunstmatig waren geinfecteerd bleken slechts korten tijd immuniteit te hebben.

Herter (1929) behandelde in 1928—'29, 400 remonte-paarden volgens de methode door *Richter* aangegeven, d. w. z. een simultaanenting van polyvalent serum en kleurstof-vaccin gecombineerd met zorgvuldige hygiënische maatregelen. De epizootie verliep onder invloed dier behandeling licht. De verliezen bij de niet behandelde paarden waren driemaal grooter.

Moszdorf (1930) paste polyvalent droesserum en methyleenblauw-vaccin toe. De inspuiting bedroeg 200 cc. serum intraveneus en 20 cc. methyleenblauw-vaccin aan de voorborst op twee verschillende plaatsen. Bij een paard dat ernstig aan droes leed was een herhaling der seruminjectie noodzakelijk, terwijl bij een ander dier de vaccininjectie achterwege kon blijven door de gunstige werking van het serum.

Hancke deelt mede dat het door hem gebruikte „Jodipin" en droes-yatren-vaccin geen bevredigende resultaten hebben gegeven. Ook seruminspuitingen voldeden niet. In 1928—'29 werd droesserum gebruikt gecombineerd met methyleenblauw-vaccin. De dosis bedroeg telkens 100 cc. serum intraveneus en 20 cc. methyleenblauw-vaccin subcutaan.

De seruminjectie werd zoo noodig herhaald. De serum-

behandeling had, speciaal wanneer groote doses werden ingespoten, een milder verloop tengevolge, terwijl het herstelstadium werd bekort.

b. met antivirus.

1. curatieve toepassing.

Chaillot schrijft behalve over de waarde van het antivirus ter completeering der antisepsis in de chirurgie, over het succes dat werd behaald bij de behandeling van paarden met goedaardigen droes.

Svetkoff en *Veller* bereidden een antivirus van een streptococcenstam welke was geïsoleerd van een zwaar droesgeval. Zij behandelden hiermede paarden welke aan droes leden en complicaties van den kant der organen hadden gekregen. De geïnjiceerde doses varieerden van 50 tot 100 cc.; deze werden gewoonlijk subcutaan in de onderkaakstreek of pharynxstreek verricht. Doorgebroken abcessen en ontstekingen der boezems werden behandeld met antivirus.

De epizootie waarbij *Svetkoff* en *Veller* hun eerste proeven verrichtten verliep kwaadaardig en ging gepaard met hooge sterfte. Zestien paarden werden behandeld, waarvan er zich vijf in het initiaal stadium bevonden; zij hadden koorts en retropharyngeale klierzwelling.

In aansluiting aan de behandeling trad een tijdelijke temperatuursverhooging in, die spoedig gevolgd werd door een snelle daling en vermindering der ziekteverschijnselen. De overige paarden verkeerden reeds in een vergevorderd ziektestadium op het moment der behandeling; zij vertoonden abcesvorming van de submaxillairklieren, longverschijnselen en phlegmoneuze ontstekingen aan den kop. Met uitzondering van twee paarden had het antivirus in alle gevallen een uitgesproken gunstige werking.

Twee paarden, wien bij wijze van contrôle 100 cc. gewone bouillon was ingespoten, vertoonden geen enkele verbetering. Zij komen tot de conclusie dat het antivirus tegen goedaardigen droes, langs subcutanen weg toegediend, een duidelijke curatieve werking heeft, die kenbaar wordt door het afnemen der koorts en resolutie der ziekteprocessen.

Sadovsky's onderzoekingen betreffen 120 gevallen van

droes, gedeeltelijk sporadische, gedeeltelijk epizootische gevallen.

Sadovsky diende het antivirus, dat was bereid met streptococcen uitsluitend afkomstig van droesgevallen, intraveneus toe. Suppuraties werden behandeld door ze met antivirus uit te wasschen. Behandelde paarden vertoonden voor een deel het normale ziekteverloop, bij een gedeelte verliep het goedaardig en bij een deel trad een atypisch abortief verloop in; soms trad op een of andere plaats een omschreven abces op.

Complicaties als laryngites, pharyngitis, tracheitis of catarrhale pneumonie weken gemakkelijk met antivirus. Septicaemische en metastatische complicaties lieten zich niet beïnvloeden. Chronische vormen, gepaard gaande met multiple abcesvormingen, namen door toediening van de antivirusinjectie een acuut karakter aan en gingen spoedig den genezenden weg op.

In sommige gevallen geeft injectie van 100 cc. antivirus aanleiding tot ernstige chocverschijnselen, die 2 à 4 uur na de injectie het hoogtepunt hebben bereikt, daarna treedt de normale toestand weder in onder daling der temperatuur.

Suppuratieve ontstekingen, die zoo dikwijls tijdens het verloop van droes optreden, verdwijnen in 95 % van de gevallen bij antivirustoepassing.

Locale toepassing heeft een snelle vermindering der pussecretie en intrede van snelle genezingen tot resultaat.

Volgens den schrijver werden de beste resultaten bereikt in die gevallen, waarbij gebruik werd gemaakt van autoantivirus.

Een tweede publicatie van *Sadovsky* maakt melding van een ernstige epizootie, waarbij hij zich ter bestrijding van antivirus bediende. Tijdens deze epizootie traden veel gevallen op van laryngo-tracheitis en pleuro-pneumonie, terwijl ook meerdere metastasen dan gewoonlijk in de longen voorkwamen.

Bij aankomst werden de dieren ingespoten met 100 cc. antivirus intraveneus. Meestal bleek een enkele injectie voldoende. In den beginne werd een polyvalent antivirus gebruikt, later werd dit vervangen door een auto-antivirus, gemaakt van streptococcen bij deze epizootie geïsoleerd.

Gewoonlijk gaf de injectie een reactie van korten duur, bestaande uit tremor, zweeten, verhoogde pols en ademhaling, verhoogde speekselafscheiding, geringe eetlust en stijging der temperatuur. Spoedig trad plotseling weer de normale toestand in.

Van de 100 paarden die met antivirus waren behandeld, genazen er 94; de andere 6 vertoonden later ernstige symptomen van metastatischen droes.

Ter vergelijking werden gedurende deze epizootie drie paarden zonder een enkele behandeling gelaten, terwijl elf paarden alleen symptomatisch werden behandeld. Hoewel, zoo bericht de schrijver, dit contrôle-experiment werd verricht op een moment dat de epizootie reeds aan het afnemen was, kregen twee der drie niet behandelde paarden typische droes. Van de elf symptomatisch behandelde paarden kreeg één paard atypische droes van korten duur, terwijl er drie wegens processen in de pharynxstreek 6 weken in den ziekenstal moesten worden opgenomen; bij de overige 7 paarden had de droes het typische verloop.

Gourvitch en *Block* gelukte het door intraveneuze inspuiting van antivirus van Streptococcus equi verscheidene paarden, die aan verschillende vormen van droes lijdende waren, in een tijdsverloop van 4—6 dagen te genezen.

Bobroff behandelde eveneens gedurende een kwaadaardige epizootie menig geval met antivirus. Het antivirus werd subcutaan toegediend, direct op de etterhaarden.

Volgens den schrijver waren de resultaten verrassend. De plaatselijke ontstekingen verdwenen, de koorts nam af en in den algemeenen toestand trad van dag tot dag verbetering in. Bij toepassing van het antivirus in het beginstadium trad een ongekend licht verloop in.

Spachovsky gebruikte met succes antivirus bij droes in den vorm van compressen, tamponades of als intraveneuze injecties.

Ook van Fransche zijde zijn er mededeelingen over de gunstige werking van het antivirus bij goedaardigen droes verschenen.

Roger en *Ricaud* behandelden bij een enzootie een paard, dat ernstig lijdende was aan droes (temperatuur 39,6° C., regurgiteeren, pijnlijk oedeem in de keelgang).

Een intraveneuze injectie van 60 cc. antivirus, dat een lichten choc tengevolge had, bewerkstelligde in 24 uur een duidelijk merkbare verbetering en 8 dagen na de antivirus-injectie verrichtte het dier weer zijn gewonen arbeid, „comme s'il n'avait pas été malade".

Een stalgenoot van den vorigen patient werd eveneens door *Roger* en *Ricaud* behandeld. Het dier verkeerde in het beginstadium, waarbij slijmige neusuitvloeiing, pijnlijke zwelling in de pharynxstreek en een lichaamstemperatuur van 39,6° C. was waar te nemen.

Na een injectie van 60 cc. antivirus intraveneus waren in twee dagen de symptomen verdwenen.

Een derde paard, eveneens lijdende aan droes, leverde na de behandeling met antivirus eveneens het bewijs, zoo zeggen *Roger* en *Ricaud,* dat de werking van antivirus bij goedaardigen droes beter is dan die van de gebruikelijke middelen, zelfs beter dan antistreptococcenserum.

Sprekende resultaten werden eveneens verkregen door *Urbain* en *Chaillot,* die, elk afzonderlijk van elkaar, door toediening van antivirus langs intraveneuzen weg een geval van ernstigen droes een abortief einde zagen nemen.

Sterk spreken *Bouchet* en zijn zoon zich uit over de goede werking van het antivirus. Deze practici verklaren dat de behandeling van goedaardigen droes met sera's en vaccins in de stallen van *Chantilly* waardeloos was gebleken; zij hadden den indruk gekregen, dat deze middelen het verloop in het geheel niet beïnvloedden. De behandeling met antivirus, die bij 50 paarden werd toegepast, gaf betere resultaten. Zij komen hierbij tot de volgende conclusies: De temperatuur, die in aansluiting op de injectie stijgt, daalt spoedig regelmatig en vrij snel, de teekenen van catarrh der voorste luchtwegen worden van dag tot dag minder en men voorkomt bijna altijd abcedeering der submaxillaire en retropharyngeale klieren. Ze zien in het antivirus een machtig wapen tegen deze ziekte, die zich zoo moeilijk door andere middelen laat beïnvloeden.

2. preventieve toepassingen.

Naast deze gegevens over de curatieve toepassing van anti-

virus, vindt men in de literatuur ook opgaven over preventieve behandeling.

Bobroff verrichtte een preventieve behandeling met antivirus bij 63 paarden en 4 veulens.

Deze dieren werden ingespoten met een dosis van 10 cc., voor een deel subcutaan, voor een deel intracutaan.

Geen enkele der op deze wijze voorbehandelde dieren werd ziek, ondanks dat in de nabijheid de ziekte uitbrak; zelfs de veulens, die blootgesteld werden door contact met een aan droes lijdend paard, bleven gezond.

Ook *Alavi-Moghadam* verkreeg bevredigende resultaten bij de preventieve behandeling.

Hij nam 8 paarden van 3 à 4 jaar, die nooit droes hadden gehad, en verdeelde deze in 4 groepen. Een groep werd preventief behandeld met subcutane injectie van 100 cc. antivirus, een groep met 100 cc. intraveneus, een groep met 100 cc. intracutaan, terwijl een vierde groep als contrôle diende. Deze paarden kwamen in contact met andere, waardoor zij dus aan besmetting werden blootgesteld.

De intraveneus ingespoten paarden vertoonden neusuitvloeiingen en ontstoken submaxillaire klieren, één der subcutaan behandelde paarden vertoonde neusuitvloeiingen zonder verdere ziekteverschijnselen, het andere bleef gezond; de twee paarden, welke intracutaan waren behandeld, boden absoluut weerstand aan de infectie, terwijl de contrôledieren typischen droes met pharyngitis en zwelling der keelgangsklieren kregen.

Tegenover deze gunstige berichten over de preventieve en curatieve werking van antivirus zijn er ook onderzoekers geweest, die dit niet konden bevestigen. Zoo bericht *Richter* het volgende:

Bij gezonde veulens werd getracht een locale immuniteit op te wekken, waartoe antivirus in de buurt van het strottenhoofd, aan de oorbasis en aan beide zijden van den kop subcutaan in hoeveelheden van 50 cc. per dier werd ingespoten. Van deze preventieve behandeling werd geen resultaat opgemerkt, daar de veulens later droes kregen. Bij een der preventief behandelde veulens werd tevens kunstmatige infectie opgewekt en bij de eerste klinische verschijnselen 100 c.c. antivirus intraveneus ingespoten. Deze inspuitingen

hadden echter geen gunstigen invloed op het ziekteverloop.

Behandeling van de keelslijmvliezen door middel van een spree waardoor antivirus op de aangedane keelslijmvliezen werd gebracht, beantwoordde eveneens niet aan de verwachtingen. *Richter* komt, in tegenstelling met *Svetkoff* en *Veller* e.a., tot de conclusie, dat het antivirus volgens *Besredka* bij droes noch een beschuttende, noch een genezende werking heeft; ja, zelfs valt er geen enkele werking in den zin van de aspecifieke eiwittherapie vast te stellen, hetgeen door toedoen van in de bacteriënfiltraten aanwezige stofwisselingsproducten der bacteriën theoretisch zeker denkbaar is.

Doorgebroken pharyngeaal abcessen werden dagelijks met antivirus doorgespoten en met in antivirus gedrenkt verbandgaas getamponeerd. Ter contrôle werd ook serumbouillon en physiologische keukenzoutoplossing gebruikt.

Waarmede men ook behandelde, steeds traden een snelle vermindering der secretie en goed uitziende wondgranulaties op, zoodat de vraag of antivirus een specifieke bactericide werking op de bacteriën en een stimuleerende werking op de weefselregeneratie heeft, niet beantwoord kon worden.

In een tweede publicatie wijst *Richter* er nogmaals op, dat geen resultaat werd bereikt met antivirus bij curatieve en preventieve behandeling langs parenteralen weg.

Op grond van ervaringen van enkele onderzoekers acht hij het niet uitgesloten, dat het antivirus voor het doorspoelen en tamponeeren met in antivirus gedrenkte tampons van abcesholten beteekenis heeft.

Hancke maakte gebruik van antivirus bij zieke dieren. Het was echter niet mogelijk door middel van *Besredka's* antivirus abcesvormingen te voorkomen, alhoewel het hem voorkwam dat de abcessen meer tot den kop beperkt bleven.

Samenvattende zegt hij echter, dat de resultaten met antivirus gedurende de epizootie gunstiger waren uitgevallen dan men aanvankelijk kon vermoeden.

Resumé.

a. De genoemde literatuur stelt ons in staat de conclusie te trekken dat seruminjecties, zoowel preventief als curatief, tegenover droes geen middel is dat 100 % zekerheid geeft.

Wel zijn de mededeelingen dat met serum, zoowel uit preventief als curatief oogpunt, goede resultaten bereikt werden niet zeldzaam, maar aan de andere zijde zijn er even zoovele, waarbij aan het serum geen waarde wordt toegekend.

Bij enzootieën, zooals gewoonlijk goedaardige droes in paardenstreken optreedt, is bovendien de immuniteit die serum geeft te kort van duur (ongeveer 4 weken), zoodat aan het einde der epizootie de beschuttende werking reeds weer verdwenen is.

Voeg hierbij de omstandigheid, dat dikwijls minderwaardige droessera in den handel worden gebracht, daar de methode ontbreekt de waarde van het immuunserum te bepalen en het feit dat, misschien om economische redenen, de quantiteiten welke werden ingespoten te laag zijn, dan wekt het geen verwondering dat over het algemeen de serumtherapie zulke uiteenloopende resultaten geeft.

Toch schijnen met polyvalent hoogwaardig droesserum, zooals *Adsersen* en *Schiphorst* hebben aangetoond, goede resultaten bereikt te kunnen worden. De voorwaarde hierbij is, dat het serum gewonnen wordt met volvirulente droesstreptococcen, daar gedoode streptococcen een serum leveren dat minder goede werking bezit.

Voor zoover het betreft de simultaanentingen met serum en kleurstoffen-vaccins zijn de mededeelingen te gering in aantal om een conclusie te rechtvaardigen.

Vanwege het gevaar voor infectie heeft men bij de actieve droesimmunisatie zelden of nooit gebruik gemaakt van levende droesstreptococcen. Vaccins daarentegen zijn herhaaldelijk gebruikt. De wijze van vaccinbereiding liep sterk uiteen. Terwijl *Kitt* en *Jensen* vaccin bereidden door verhitting van bouillonculturen, doodden *Marxer* en *Baruchello* de streptococcen door ureum, galatose, toluol of aether.

Het vaccin van *Baruchello* bestond uit streptococcen gemengd met steriel borstholte-exsudaat van een konijn, hond of ezel, die intrathoracaal met droesstreptococcen waren ingespoten. Deze methode stond onder invloed van de aggressintheorie van *Bail*.

„*Schreiber's* lymphe" wordt gemaakt van streptococcen gemengd met maceratievloestof, waaraan voor sterilisatie diaphtherin is toegevoegd.

Müller en *Pfeiffer* trachten locale immuniteit op te wekken door het door hen op een bepaalde wijze bereide vaccin bij de porte d'entrée der ziekte in te brengen.

Over het resultaat met deze op verschillende wijze bereide en toegepaste vaccins valt op te merken dat ook hier de resultaten niet eensluidend zijn. Tegenover de gunstige mededeelingen uit curatief en preventief oogpunt staan evenveel negatieve.

b. Als we de literatuurgegevens omtrent de werkzaamheid van *Besredka's* antivirus bij goedaardige droes van paarden samenvatten, dan valt ons op dat bijna zonder uitzondering de mededeelingen van Russische, Poolsche, Oostenrijksche en Fransche zijde zoowel uit preventief, prophylactisch als uit curatief oogpunt, gunstig luiden.

De Duitsche literatuur echter acht de waarde van het antivirus voor de bestrijding van droes van geringe beteekenis en sommige schrijvers ontzeggen deze methode elke waarde.

Wat hiervan de oorzaak is valt moeilijk te zeggen. Het is niet onmogelijk dat ook hier de virulentie van den streptococcenstam, evenals voor de bereiding van antidroesserum, van groote beteekenis is. Volgens mondelinge mededeelingen van Mej. *Regorowitz,* worden in Polen voor de bereiding van antivirus tegenover bacterieele infecties uitsluitend volvirulente stammen, die versch uit ziektemateriaal zijn geïsoleerd, gebruikt. Wil men dus een antivirus bereiden tegen droes, dan dient men er voor te zorgen, dat de droesstreptococcen hun volle natuurlijke virulentie hebben, daar op kunstmatige wijze hoog gehouden virulentie, zooals men dat bijvoorbeeld voor droesstreptococcen door muizenpassages kan bereiken, niet voldoende is voor een goede werking in het paardenlichaam.

Ook *Besredka* wijst er op, dat voor de bereiding van antivirus geen laboratoriumstammen mogen worden gebruikt.

Preventieve toepassing van antivirus bij jonge remonte-paarden.

Daar het mij bekend was dat in het Remonte Depôt te Milligen onder de jaarlijks aangekochte remontepaarden droesenzootiën uitbreken, werd aan den Chef van den Militaire Veterinairen Dienst toestemming gevraagd om een

aantal paarden van een transport uit Ierland preventief met antivirus tegen goedaardigen droes te mogen behandelen.

De tegenwoordige enzootieën van goedaardigen droes in het Remonte Depôt verloopen over het algemeen veel goedaardiger dan dit vroeger het geval was.

De verklaring hiervoor wordt algemeen gezocht, eendeels, in de regelmatig doorgevoerde seruminspuitingen, anderdeels, in het feit dat de tegenwoordige remontepaarden alle 4 à 5 jaar oud zijn en over grooter weerstand beschikken dan de 3-jarige remonten, die vroeger werden aangekocht.

Bij elke droesenzootie, hoe verschillend ook in graad, zijn steeds individueele verschillen waar te nemen. Sommige dieren worden ernstig ziek terwijl andere geringe, of in het geheel geen algemeene ziekteverschijnselen vertoonen, maar waarbij het slechts tot geringe neusuitvloeiingen of z.g. atypischen droes komt. De oorzaken voor een licht of kwaadaardig verloop der enzootie en ook voor de groote individueele verschillen kunnen in vele omstandigheden worden gezocht. We hebben hierbij rekening te houden met verschillen in individueele gevoeligheid, constitutioneele verschillen, virulentie der smetstof, terwijl ook plaatselijke en klimatologische invloeden niet mogen worden verwaarloosd.

In het najaar van 1931 werden 39 paarden, behoorende tot een transport van circa 100 Ieren, voor een behandeling beschikbaar gesteld. De overige paarden van dit transport werden op de gebruikelijke manier met serum behandeld, dat wil zeggen, bij aankoop in Ierland kregen deze paarden een 1e seruminjectie, gevolgd door een 2e injectie bij aankomst aan het Remonte Depôt.

In de hier beschreven proeven hebben deze serumpaarden als vergelijkbaar materiaal gediend.

Het is aan het Remonte Depôt te Milligen gewoonte om alle met neusuitvloeiingen gepaard gaande catarrhen der voorste luchtwegen als goedaardige droes te beschouwen.

Theoretisch is dat niet geheel juist, daar men zich kan indenken dat er een catarrh der voorste luchtwegen optreedt tengevolge van rheuma, zonder dat hierbij droesstreptococcen eenige beteekenis hebben.

Practisch bestaat hiertegen echter weinig bezwaar, daar een systematisch onderzoek van een aantal neuscatarrhen

van de voorste luchtwegen uitwees dat steeds droesstreptococcen aanwezig waren.

Deze wijze van beoordeeling heeft in een inrichting als het Remonte Depôt bovendien het voordeel dat contrôle beter kan worden uitgeoefend en ook steeds aan onbeduidend schijnende slijmvliesaandoeningen de noodige aandacht wordt besteed.

Daar de curatieve werking van serum bij reeds zieke paarden weinig bevredigend is gebleken, bestaat de behandeling van aan droes lijdende paarden in het Remonte Depôt in een goede verzorging en verpleging, eventueel gecompleteerd met een symptomatische behandeling, terwijl de ernstig zieke dieren op den ziekenstal worden geplaatst en daar een bijzondere verzorging en verpleging krijgen.

Materiaal en techniek der antivirusbereiding.

Voor de bereiding van het droesantivirus werd gebruik gemaakt van 7 verschillende droesstammen, welke alle in den loop van enkele maanden van paarden, welke in verschillende stadia van droes verkeerden, werden geïsoleerd.

Het isoleeren der verschillende droesstammen geschiedde gewoonlijk als volgt: Bij fluctueerende, nog niet doorgebroken abcessen werd steriel punctie gedaan en een gedeelte exsudaat direct in serumbouillon geënt. Op deze wijze kon veelal direct een reincultuur van streptococcen worden gekweekt.

Ingeval het abces was doorgebroken waren gewoonlijk reeds secundaire infecties opgetreden. In die gevallen werd dan een hoeveelheid etter in bouillon geëmulgeerd en van deze emulsie een öse op zacht gestold bloedserum uitgestreken.

Het gelukte steeds op deze wijze geïsoleerde kolonies van droesstreptococcen te krijgen die dan in serumbouillon werden verder gekweekt.

Twee der gebruikte droesstreptococcenstammen waren reeds enkele malen (maximaal 3 maal) overgeënt, de overige waren versche streptococcen.

Met elken stam werd een kolf serumbouillon geënt, die

gedurende 2 maal 10 dagen bij 37° C. in de broedstoof werd geplaatst. Na drie dagen werd gecontroleerd of er eventueel verontreiniging was opgetreden.

Nadat de kolven 10 dagen in de broedstoof hadden gestaan volgde filtratie door een Chamberland L 3 bacteriefilter. Daarna had opnieuw enting van de filtraten met denzelfden streptococcenstam plaats.

Weer werden na een oponthoud van 10 dagen bij 37° C. de culturen gefiltreerd, gevolgd door verhitting gedurende ½ uur bij 70° C. en vermenging der verschillende filtraten.

Het door de verhitting opgetreden neerslag werd door bezinking verwijderd.

Hierna volgde contrôle op steriliteit en giftigheid.

Het eerste geschiedde voor vulgaire kiemen op cultureele wijze, voor pathogene anaerobe door middel van intramusculaire caviaenting.

De giftige werking werd gecontroleerd op een paard, dat hiertoe intraveneus, subcutaan en intracutaan werd ingespoten.

Proeven.

Daar het de bedoeling was de preventieve waarde van het droesantivirus te bepalen, werden voor de inspuiting met antivirus alleen paarden gebruikt die geen droesverschijnselen vertoonden. Bij aankoop in Ierland had de injectie met het antivirus plaats. Trad er onder deze paarden droes op, dan werden deze dieren symptomatisch behandeld.

De 39 Antivirus-paarden werden verdeeld in 3 groepen, elk van 13 paarden, die op verschillende wijzen werden ingespoten, n.l.

13 paarden intracutaan met 15 cc. antivirus.

13 paarden subcutaan met { 10 cc. antivirus, 9 paarden. / 15 cc. antivirus, 4 paarden.

13 paarden intraveneus met { 10 cc. antivirus, 6 paarden. / 15 cc. antivirus, 7 paarden.

De geheele sterkte van het aangekochte koppel bedroeg 99 paarden, genummerd van 301 tot en met 400 (waarvan No. 334 vervalt). De overige 60 paarden zijn behandeld zooals de laatste jaren de gewoonte was, n.l. na aankoop in

Ierland werd dadelijk 100 gram goedaardige droesserum subcutaan geïnjiceerd. In Holland is nogmaals op dezelfde wijze 75 cc. serum toegediend.

Alleen 4 paarden (Nos. 391, 393, 398 en 399), die volkomen gezond leken, werden in het Remonte Depôt, als bijzondere proef, inplaats van met serum met 15 cc. antivirus intracutaan ingespoten. Deze dieren laten we voorloopig buiten beschouwing en houden dan over 56 serumpaarden.

De 39 andere paarden zullen we in den vervolge gemakshalve als „Antiviruspaarden" aanduiden.

Naar de wijze van behandeling zijn de paarden dus in 4 groepen te verdeelen, terwijl we naar den aard en het verloop van den goedaardigen droes bij deze dieren ook 4 groepen kunnen onderscheiden:

1e. Paarden, die geen goedaardige droesverschijnselen hebben vertoond.
2e. Paarden, die slechts geringe ziekteverschijnselen hebben vertoond (neusuitvloeiing, enkele dagen geen of weinig eetlust enz.).
3e. Paarden, die ernstig of langdurig ziek zijn geweest, echter zonder abcesvormingen.
4e. Paarden, die ernstig ziek zijn geweest, gepaard met abcesvormingen.

In den volgenden staat zien we dus $4 \times 4 = 16$ vakken, waarin alle nummers der paarden zijn gerangschikt.

De cijfers tusschen () bij de Antiviruspaarden geven de hoeveelheden ingespoten antivirus aan.

Uit de volgende staat blijkt nu het volgende:

1e. Van de 56 Serumpaarden hebben geen droes gehad 10 paarden = 17.8 %.
Van de 39 Antiviruspaarden hebben geen droes gehad 15 paarden = 38.4 %.
2e. Geringe droesverschijnselen hebben vertoond:
20 Serumpaarden = 35.7 %.
9 Antiviruspaarden = 23 %.
3e. Langdurige of ernstige verschijnselen, doch zonder abcesvormingen:
11 Serumpaarden = 19.6 %.
7 Antiviruspaarden = 17.9 %.

ANTIVIRUS PAARDEN.			SERUM PAARDEN.	
INTRACUTAAN.	SUBCUTAAN.	INTRAVENEUS.		
322(15)—325(15) 329(15)—336(15) 351(15)—353(15) 391(15) 393(15) 398(15) 399(15) In Ierland 100 gr. serum in R.D. 15 cc. antivirus intracutaan.	320(10)—333(10) 345(10) 348(15)—354(15)	356(15)—359(15) 376(15)—377(15)	328—337—342—343 344—360—363—372 374—400	Geen goedaardige droesverschijnselen.
303(15)—307(15) 327(15)	304(10)—305(10) 321(10)—341(10)	314(10)—317(10)	301—308—310—311 324—326—338—346 361—362—365—366 368—373—375—379 381—382—395—396	Geringe ziekteverschijnselen.
331(15)—332(15) 339(15)	306(10)—352(15)	357(15)—358(15)	302—323—335—364 367—378—380—383 384—385—389	Ernstige ziekteverschijnselen of langdurige ziekte zonder abcesvormingen.
349(15)	340(10)—350(15)	313(10)—315(10) 316(10)—318(10) 355(15)	309—312—319—330 347—369—370—371 386—387—388—390 394—397—392	Ernstig ziek gepaard met abcesvormingen.

4e. Echte goedaardige droes met abcesvormingen:
15 Serumpaarden = 26.7 %.
8 Antiviruspaarden = 20.5 %.

Beschouwen we alleen de Antiviruspaarden en gaan dan na, welke behandelingsmethode de beste resultaten heeft opgeleverd, dan komen we tot het volgende overzicht.

A. Geen droes gehad 15 paarden.	intracutaan	6	van 15 c.c.
	subtucaan	5	3 van 10 c.c. 2 van 15 c.c.
	intravensus	4	van 15 c.c.
B. Geringe droesverschijnselen zonder abcessen. 9 paarden.	intracutaan	3	van 15 c.c.
	subcutaan	4	van 10 c.c.
	intraveneus	2	van 10 c.c.
C. Langdurige of ernstige droesverschijnselen zonder abcessen. 7 paarden.	intracutaan	3	van 15 c.c.
	subcutaan	2	1 van 10 c.c. 1 van 15 c.c.
	intraveneus	2	van 15 c.c.
D. Echte goedaardige droes met abcesvormingen. 8 paarden.	intracutaan	1	van 15 c.c.
	subcutaan	2	1 van 10 c.c. 1 van 15 c.c.
	intraveneus	5	4 van 10 c.c. 1 van 15 c.c.

Uit dit overzicht blijkt, dat de intracutane methode boven de beide andere is te verkiezen. Mochten de subcutane en intraveneuze toch eenige waarde bezitten, dan zal het wenschelijk zijn in den vervolge geen 10 cc. antivirus, doch 15 cc. of meer in te spuiten.

Vergelijking naar de groepen van aankomst in het Remonte Depôt.

30 September '31.

Aangekomen 10 paarden, n.l. No. 301 t/m 310. Vrij van droesverschijnselen. Deze paarden zijn alle meer of minder ziek geworden, dat wil zeggen:

7 gering (3 serum + 4 antivirus).
2 langdurig of ernstig (1 serum + 1 antivirus).
1 met abcessen (1 serum).

	Geen droes.	Gering.	Ernstig.	Abcessen.	Behandeling.	
Verloop.	— —	301 308 310	302	309	Serum.	
	— —	303 307			Intracutaan.	Antivirus.
		304 305	306		Subcutaan.	
					Intraveneus.	

5 October '31.

Aangekomen 9 paarden, n.l. No. 311 t/m 319, vrij van droesverschijnselen.

	Geen droes.	Gering.	Ernstig.	Abcessen.	Behandeling.	
Verloop.		311		312—319	Serum.	
					Intracutaan.	Antivirus.
					Subcutaan.	
		314 317		313—315 316—318	Intraveneus.	

dus: 3 met geringe ziekteverschijnselen (1 serum + 2 antivirus).
6 met abcesvorming (2 serum + 4 antivirus).

9 October '31.

Aangekomen 4 paarden, n.l. No. 344 t/m 347, vrij van droesverschijnselen.

	Geen droes.	Gering.	Ernstig.	Abcessen.	Behandeling.	
Verloop.	344	346		347	Serum.	
					Intracutaan.	Antivirus.
	345				Subcutaan.	
					Intraveneus.	

dus: 2 geen droes (1 serum + 1 antivirus).
1 geringe droes (serum).
1 abcesvorming (serum).

14 October '31.

Aangekomen 44 paarden, n.l. No. 320 t/m 343 en 348 t/m 368, dus eigenlijk 2 koppels.

Van de eerste koppel (alle paarden zijn gekocht bij Miss K. Maguire te Lisnaskea, waar de stallen sterk geïnfecteerd waren) waren in Ierland al ziek 7 paarden, n.l. Nos. 323, 324, 326, 330, 335, 342 en 343 en van het tweede koppel (alle paarden gekocht bij Parkhill te Clones) was er geen ziek, alleen No. 361 hoestte (gekocht 5 October).

Bij aankomst waren 9 paarden ziek, n.l. Nos. 323, 326 (gering), 327, 330, 332, 338, 339, 357 en 361.

Eigenaardig is dat in het tijdsverloop van 9 à 12 dagen, gedurende het transport van Ierland naar hier, enkele paarden beter zijn geworden, want slechts 4 paarden van de reeds in Ierland gesignaleerde waren hier nog ziek. Verder waren er 5 bijgekomen.

	Geen droes.	Gering.	Ernstig.	Abcessen.	Behandeling.	
Verloop.	328—337 342—343 360—363	324—326 338—361 362—365 366—368	323—335 364—367	330	Serum.	
	322—325 329—336 351—353	327	331—332 339	349	Intracutaan.	Antivirus.
	320—333 348—354	321—341	352	340—350	Subcutaan.	
	356—359		357—358	355	Intraveneus.	

dus: geen droesverschijnselen 18 paarden, waarvan 6 Serum- en 12 Antiviruspaarden.
geringe droes 11 paarden, waarvan 8 Serum- en 3 Antiviruspaarden.
ernstige droes 10 paarden, waarvan 4 Serum en 6 Antiviruspaarden.
abcesvorming 5 paarden, waarvan 1 Serum- en 4 Antiviruspaarden.

15 October '31.

Aangekomen 21 paarden, n.l. No. 369 t/m 389 behalve No. 389 alle paarden gekocht bij J. White te Dublin, waar de stallen geïnfecteerd waren. Bij aankomst waren ziek Nos. 369, 371, 373, 375, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 387 en 388, dus 14 paarden. Op 2 na (Nos. 376, 377) zijn alle paarden met serum behandeld (8 October in Ierland.

	Geen droes.	Gering.	Ernstig.	Abcessen.	Behandeling.	
Verloop.	372—374	373—375 379—381 382	378—380 383—384 385—389	369—370 371—386 387—388	Serum.	
					Intracutaan.	Antivirus.
					Subcutaan.	
	376—377				Intraveneus.	

Van 19 met serum behandelde paarden zijn er
niet ziek geworden 2,
gering ziek geworden 5,
ernstig ziek geworden 6,
id. met abcessen 6, terwijl ook de 2 intraveneus behandelde Antiviruspaarden zijn vrij gebleven.

21 October '31.

Aangekomen 11 paarden, n.l. No. 390 t/m 400; afkomstig van de stallen van Miss K. Maguire te Lisnaskea, die geïnfecteerd waren; alle paarden met serum behandeld.

Bij aankomst waren ziek Nos. 390, 392, 394, 395, 396 en 397, dus 6 paarden. Deze paarden + No. 400 (een van de 5 gezonde) zijn niet weer met serum ingespoten.

De andere 4 gezonde, Nos. 391, 393, 398 en 399, hebben hier intracutaan 15 cc. antivirus gehad.

Het resultaat is duidelijk in het volgende staatje:

	Geen droes.	Gering.	Ernstig.	Abcessen.	Behandeling.
Verloop.	400	395—396		390—392 394—397	Serum.
	391—393 398—399				Serum + intrucaan antivirus.

dus: Geen droes 5 paarden, waaronder de 4 genoemde Antiviruspaarden, maar ook No. 400 is vrijgebleven; van de andere 6 zijn er 4 ernstig ziek geweest met abcesvormingen en 2 gering.

Is de leeftijd van invloed?

Dit moge eveneens blijken uit den staat op bladzijde 98, waarin de paarden geboren:

in 1926 niet zijn onderstreept,
in 1927 met — zijn onderstreept,
in 1928 met ⌒ zijn aangegeven.

De meeste paarden zijn van 1927, slechts 3 van 1928 en de rest van 1926. Deze laatste en dus de oudste zijn echter over alle groepen verdeeld en wat de met serum behandelde aangaat hebben

geen droes gehad 4, geringe droes 6, ernstige droes 2, en droes met abcessen 7,

zoodat de leeftijd geen factor van eenige beteekenis mag worden genoemd.

Een andere vraag is de hoeveelheid antivirus, welke moet worden ingespoten.

De oorspronkelijke bedoeling was op alle 3 manieren 15 cc. toe te dienen. De hoeveelheid antivirus was daartoe echter niet toereikend, zoodat:

intracutaan steeds 15 cc. is ingespoten;
subcutaan zijn 9 paarden met 10 cc. en 4 paarden met 15 cc.
intraveneus zijn 6 paarden met 10 cc. en 7 paarden met 15 cc. antivirus ingespoten.

Volgens den overzichtsstaat op bladzijde 98 zijn in dit opzicht geen duidelijke verschillen waar te nemen.

Toch is m.i. de wenschelijkheid gebleken om voor elk paard nooit minder dan 15 cc. antivirus in te spuiten.

Heeft de wijze van behandeling ook veranderingen in het verloop der ziekte gegeven?

Van elk paard is tijdens de proef een ziektegeschiedenis aangelegd, waarin alle bijzonderheden werden vermeld. Het

is echter vrijwel onmogelijk al die verslagen aan een vergelijkend overzicht te onderwerpen. We hebben daarom alleen die paarden vergeleken, waarbij het ziekteproces tot abcessen aanleiding heeft gegeven en gaan uit van de veronderstelling, dat de ettervorming vroeger of later te voorschijn treedt, naarmate de geheel of gedeeltelijke onvatbaarheid kleiner of grooter is geweest.

Zooals we zien zijn die patienten in alle 4 groepen aanwezig. Het tijdstip der abcesvorming was vrijwel nauwkeurig aan te geven, doch de eerste droesverschijnselen zijn niet bij alle paarden waargenomen.

De 8 Antiviruspaarden waren bij aankomst in het Remonte Depôt niet ziek en we mogen aannemen dat ze naar alle waarschijnlijkheid daarna zijn geïnfecteerd. Van de Serumpaarden echter waren er al 9 ziek bij aankomst en naar we weten ook 1 reeds in Ierland. Het ziekteverloop dezer paarden is dus zeker langer dan dat der andere, maar hoeveel?

Om eenige vergelijking mogelijk te maken bepalen we dat maar op gemiddeld 8 dagen, welke tijd dan moet worden opgeteld bij het tijdsverloop vanaf de aankomst in het Remonte Depôt tot de eerste abcesvormingen.

De volgende staat (pag. 106) geeft van de bedoelde 23 paarden de verschillende tijden weer.

De berekening der gemiddelden voor elke behandelingswijze geeft de volgende getallen:

Antivirus intracutaan	23 dagen.
Antivirus subcutaan	48 dagen.
Antivirus intraveneus	51 dagen.
Serum	29 dagen.

Behalve het eene intracutaan behandelde Antiviruspaard, welk geval misschien ook geheel op zichzelf staat, hebben alle andere met antivirus voorbehandelde dieren een trager verloop der ziekte vertoond dan de serumpaarden.

Een belangrijk criterium voor den toestand der paarden in verband met het verloop van den goedaardigen droes vormt steeds het *lichaamsgewicht*. Het is dan ook gewoonte alle paarden elke maand te wegen.

Voor deze proeven was het van belang, dat de dieren in overeenkomstige perioden na hun aankomst in het Remonte

Hoef-nummers.	Aankomst R.D.	Optreden van het abces.	Tijdsverloop.	Gemiddeld.	Behandeling.	
349 (15)	15 Oct.	7 Nov.	23 dgn.	23	intracutaan	Antivirus.
340 (10)	15 Oct.	3 Dec.	49 dgn.	48½	subcutaan	
350 (15)	15 „	2 „	48 „			
313 (10)	6 Oct.	8 Dec.	63 dgn.	51	intraveneus	
315 (10)	6 „	27 Nov.	52 „			
316 (10)	6 „	7 Dec.	62 „			
318 (10)	6 „	10 Nov.	35 „			
355 (15)	15 „	27 „	43 „			
309	6 Oct.	21 Nov.	46 dgn.	29	serum	
312	6 „	7 „	32 „			
319	6 „	9 „	34 „			
330 ×	15 „	19 „	35 „ (+8=43)			
347	10 „	12 „	33 „			
369 +	16 „	21 Oct.	5 „ (+8=13)			
370	16 „	27 „	11 „			
371 +	16 „	10 Nov.	25 „ (+8=33)			
386	16 „	29 Oct.	13 „			
387 +	16 „	22 „	6 „ (+8=14)			
388 +	16 „	19 „	3 „ (+8=11)			
390 +	22 „	23 Nov.	32 „ (+8=40)			
392 +	22 „	19 „	28 „ (+8=36)			
394 +	22 „	11 „	20 „ (+8=28)			
397 +	22 „	1 Dec.	40 „ (+8=43			

\+ ziek bij aankomst in R.D.
× reeds ziek in Ierland.

Depôt gewogen werden en dan het liefst om de 14 dagen. Dit gaf echter practische moeilijkheden, waarom de wegingen om de 3 weken zijn geschied.

We laten hier de afzonderlijke gewichtsstaten volgen. Alleen wanneer de dieren heel erg ziek waren, werden zij die keeren niet gewogen. Voor een duidelijk overzicht zijn alle gewichtsafnamen onderstreept.

Lijst der gewichten in K.G.

Behandeling met Antivirus.					Intraveneus.	
Hoefno.	Bij aank.	na 3 weken.	na 6 weken.	na 9 weken.	na 12 weken.	na 15 weken.
313	490	500	490	480	500	510
314	495	485	ziek	460	470	475
315 *)	525	530	525	505	ziek	gedood
316	480	475	480	440	465	460
317	470	485	455	450	465	465
318	455	465	440	455	470	470
355	510	520	500	505	510	495
356	480	525	510	515	520	505
357	515	545	515	520	530	530
358	430	440	435	440	450	450
359	460	490	510	495	510	505
376	515	540	545	555	560	570
377	460	490	475	480	490	495
Gemiddelde toe- of afname.	485	499	490	485	495	494
		+ 14	— 9	— 5	+ 10	— 1

*) Het paard No. 315 vertoonde na een verblijf van 3 weken in het Remonte Depôt de eerste goedaardige droesverschijnselen, voorloopig zeer gering, doch langzamerhand steeds erger wordend. Na 52 dagen vormde zich een keelabces, later nog een en toen deze genezen waren, een subparotideaal abces. Die metastatische abcesvormingen schreden voort en op 19 Januari '32 moest het dier worden afgemaakt wegens een abces der achterste mesenteriale klieren van 6½ K.G.

Behandeling met Antivirus.						Intracutaan.
Hoef no.	Bij aank.	na 3 weken.	na 6 weken.	na 9 weken.	na 12 weken.	na 15 weken.
303	455	470	465	455	460	465
307	430	445	435	435	440	435
322	475	500	495	500	505	505
325	470	ziek	490	495	510	500
327	430	460	445	450	460	460
329	445	465	480	475	480	470
331	470	470	480	485	495	485
332	460	490	480	495	490	490
336	550	570	575	570	580	580
339	490	475	465	460	465	455
349	495	500	485	475	490	495
351	400	410	405	420	425	430
353	440	450	445	460	470	465
Gemiddelde toe- of afname.	462	475 (+13)	473 (−2)	475 (+2)	482 (+7)	480 (−2)
Subcutaan.						
304	505	530	505	510	515	505
305	370	410	415	420	420	425
306	555	555	575	545	565	560
320	485	510	500	495	500	495
321	450	410	450	455	455	465
333	480	505	500	505	510	485
340	485	500	500	490	505	485
341	440	455	465	470	475	475
345	485	500	530	515	505	515
348	480	490	485	490	500	495
350	515	530	485	510	525	530
352	530	540	525	535	555	565
354	470	485	480	485	490	490
Gemiddelde toe- of afname.	481	494 (+13)	493 (−1)	494 (+1)	501 (+7)	499 (−2)

Behandeling met Serum.						
Hoefno.	Bij aank.	na 3 weken.	na 6 weken.	na 9 weken.	na 12 weken.	na 15 weken.
301	495	500	505	500	500	515
302	420	435	435	435	445	445
308	490	505	515	480	500	505
309	470	490	ziek	440	460	465
310	510	530	505	510	540	530
311 +	440	455	ziek	ziek	gedood	—
312	530	570	565	565	575	570
319	475	495	460	465	475	495
323	450	475	450	460	475	455
324	495	525	505	520	525	510
326	430	435	440	450	450	430
328	495	520	520	525	525	520
330	455	455	460	475	480	485
335	490	505	505	520	525	510
337	460	490	475	495	495	495
338	490	505	510	515	515	520
342	520	550	550	545	445	535
343	445	475	465	470	490	470
344	525	540	550	540	530	535
346	480	490	490	470	475	485
347	470	480	460	475	480	485
360	510	525	530	535	540	525
361	470	480	475	475	490	495
362	425	435	425	435	450	435
363	425	430	435	440	460	440
364 +	445	460	435	435	455	435
365	470	500	485	495	515	510
366	510	535	530	520	530	525
367 +	485	515	500	495	ziek	ziek
368	470	470	445	475	490	485
369	520	555	565	560	565	570
370	450	ziek	430	455	460	465
371	505	ziek	505	510	510	510
372	475	495	445	495	495	500
373	405	440	520	455	455	460

Behandeling met Serum.						
Hoefno.	Bij aank.	na 3 weken.	na 6 weken.	na 9 weken.	na 12 weken.	na 15 weken.
374	495	525	520	520	520	515
375	505	530	510	505	505	510
378	500	510	510	555	540	545
379	490	510	505	510	515	500
380	560	550	545	530	540	530
381	455	490	485	490	500	500
382	440	455	460	465	470	475
383	455	485	480	490	510	505
384	495	510	510	530	530	535
385	490	525	520	515	515	515
386	450	445	455	465	470	470
387 +	490	495	490	ziek	485	500
388	490	505	525	530	535	540
389	460	450	465	ziek	480	490
390	480	480	475	475	475	480
392	465	455	475	475	480	480
394 +	465	440	435	440	450	465
395	485	490	500	495	500	505
396	475	490	500	500	500	505
397	460	475	475	485	495	495
400	395	ziek	415	435	420	420
Gemiddelde toe- of afname.	475	492 (+17)	488 (−4)	491 (+3)	497 (+6)	498 (+1)

*) Het paard No. 311 is afgemaakt moeten worden voor een verlamming van de achterhand door kneuzing van het halsmerg.

De paarden Nos. 364, 367, 387 en 394 waren bij het afsluiten der proef nog in behandeling en wachten op het voorjaar om door weidegang geheel op krachten te kunnen komen. Het paard No. 367 is ernstig ziek geweest (longontsteking en daarna dampig geworden).

Nog blijven alleen te vermelden de 4 paarden, die in Ierland

met serum zijn behandeld en bij aankomst in Holland intracutaan met 15 cc. antivirus zijn ingespoten. Deze dieren hebben tot heden (Januari 1932) geen verschijnselen van goedaardigen droes vertoond.

De gewichten zijn de volgende:

Hoefno.	Bij aank.	na 3 weken.	na 6 weken.	na 9 weken.	na 12 weken.	na 15 weken.
391	515	540	540	530	535	540
393	505	510	520	520	520	520
398	485	495	495	495	495	495
399	500	515	525	535	520	510
Gemiddelde toe- of afname.	501	515 (+14)	520 (+5)	520 (0)	518 (−2)	517 (−1)

GEMIDDELDE GEWICHTSTOENAME IN K.G.

	Antivirus.			serum.
	intracutaan.	subcutaan.	intraveneus.	
na 3 weken.	+13	+13	+14	+17
„ 6 „	+11	+12	+ 5	+13
„ 9 „	+13	+13	0	+16
„ 12 „	+20	+20	+10	+22
„ 15 „	+18	+18	+ 9	+23

We zien dus, dat in alle gevallen gedurende de eerste 3 weken van hun verblijf in het Remonte Depôt een belangrijke gewichtstoename is waar te nemen, daarna nemen de gewichten steeds meer of minder af, wegens het grooter aantal en ernstiger worden der ziektegevallen. Na 12 weken is de toe-

stand op enkele uitzonderingen na meestal weer stationnair geworden, zoodat het ruim 3 maanden duurt, voordat een nieuw koppel de goedaardige droesinfectie heeft overwonnen.

Vergelijken wij de resultaten der verschillende behandelingsmethoden, dan geven de serumpaarden de beste gewichten, terwijl de intraveneus behandelde Besredkapaarden het slechtste beeld geven. De paarden, die intracutaan en subcutaan met antivirus zijn ingespoten, geven ook goede en opvallend gelijke gewichtsstaten.

Verdere proefnemingen met antivirus bij goedaardigen droes zijn aan het Remonte Depôt verricht. Uit de driemaandelijksche rapporten van den Eerstaanwezend Paardenarts dezer Inrichting is omtrent de bij de latere toepassingen opgedane ervaring, het volgende ontleend:

De paarden van het transport Ieren, dat in September-October 1931 in het Remonte Depôt arriveerde en die met antivirus waren behandeld, hebben zich ook na afsluiting der hierboven omschreven proeven over het algemeen uitstekend gehouden. Het gemiddeld lichaamsgewicht bedroeg op 10 Juli 1932 ruim 500 K.G. en was vrijwel stationnair.

De vrees dat de met antivirus behandelde paarden later toch goedaardigen droes zouden krijgen is ongegrond gebleken.

In het voorjaar 1932 werden voor het leger 68 Iersche paarden aangekocht uit drie verschillende stallen. Een gedeelte der paarden werd met antivirus behandeld, een gedeelte met serum. Hier volgen de nadere gegevens stalsgewijze:

Stal White te Dublin.

Aangekocht 23 paarden, waarvan reeds 2 ziek. Deze laatsten zijn ook in het Remonte Depôt langen tijd ernstig ziek geweest. Bij aankoop werden de zieken met serum ingespoten.

10 paarden werden behandeld met antivirus,
resultaat: 8 gezond gebleven en 2 gering ziek.

13 paarden behandeld met serum,
resultaat: 7 goed tot vrij goed en 6 ernstig ziek.

Stal Maguire te Lisnaskea.

Aangekocht 21 paarden, waarvan bij aankoop reeds 1 dier

ziek was. Dit paard is ook in het Remonte Depôt langen tijd ziek geweest.

15 paarden behandeld met antivirus,
resultaat: 13 paarden gezond gebleven, 2 dieren ziek geworden (1 gering en 1 ernstig).

6 paarden behandeld met serum,
resultaat: 2 gezond gebleven en 1 vrij goed en 3 ziek (2 ernstig en 1 gering).

Stal Parkhill te Clones.

Aangekocht 24 paarden, uit sterk geïnfecteerden stal.

5 paarden behandeld met antivirus,
resultaat: 1 gezond gebleven, 1 gering en 3 ernstig ziek.

19 paarden met serum behandeld,
resultaat: 3 gezond gebleven, 2 vrij goed en 14 ernstig ziek.

Uit het bovenstaande kan worden afgeleid dat de gezondheidstoestand van de paarden in Ierland van beteekenis is voor de verdere gedragingen in het Remonte Depôt.

Voor het trekken van juiste conclusies omtrent de beste behandelingsmethode van de jonge paarden is het dus noodig dat men over gegevens beschikt betreffende den gezondheidstoestand der paarden en de omstandigheden waaronder zij verkeeren tijdens den aankoop.

Tot zoover het rapport van 10 Juli 1932.

Aan het rapport van 10 October 1932 is het volgende ontleend:

Van een groep van 61 Iersche paarden, welke reeds 3 maanden in het Remonte Depôt zijn, waren 40 paarden met antivirus behandeld. Van de 40 behandelde paarden zijn 21 dieren niet ziek geworden, 10 stuks hebben geringe ziekteverschijnselen vertoond en 9 dieren zijn ernstiger ziek geweest. Van deze 9 paarden hebben 7 stuks abcessen der submaxillaire of subparotideale klieren gekregen.

Van de 21 met serum behandelde paarden zijn 10 dieren niet ziek geworden, 6 hebben geringe ziekteverschijnselen vertoond en 5 zijn ernstig ziek geweest (4 kregen abcessen).

In het geheel genomen kan gezegd worden dat het verloop bij deze groep zeer gunstig is geweest. Een opvallend onder-

scheid bij de met antivirus of serum behandelde paarden bestaat er niet.

In begin September arriveerden wederom 61 jonge Iersche paarden in het Remonte Depôt te Milligen. Deze groep is gedurende een maand geobserveerd, gedurende welke periode het volgende valt te releveeren.

Van deze groep waren nauwkeurige gegevens bekend omtrent den gezondheidstoestand bij aankoop.

In totaal zijn 33 paarden met antivirus behandeld volgens de intracutane methode; verdachte en zichtbaar zieke paarden werden met serum (100 cc.) behandeld, 5-jarige paarden kwamen alleen voor serumbehandeling in aanmerking.

De groep was nummer 701 tot en met 761, de laatste 28 paarden hebben na aankomst een 2e seruminjectie van 75 cc. ondergaan.

Bij de beoordeeling over de preventieve waarde der behandeling is het gewenscht 12 paarden, die met antivirus waren behandeld en die afkomstig waren uit Stal „Parkhill" in Clones buiten beschouwing te laten, daar moet worden aangenomen dat deze dieren grootendeels bij aankoop reeds in het incubatiestadium verkeerden. Ook de met serum behandelde paarden uit dezen stal blijven buiten beschouwing.

Na verblijf gedurende 1 maand in het Remonte Depôt bleken van de 21 met antivirus behandelde paarden 16 paarden geen droesverschijnselen te hebben vertoond.

Drie paarden zijn in lichten graad ziek geworden en bij 1 dier is het tot abcessen gekomen.

Van de 21 serumpaarden hebben 12 nog geen droesverschijnselen vertoond, terwijl 3 paarden lichten en 4 paarden ernstigen droes hebben gehad, bovendien is het bij 2 dezer paarden tot abcedeering der klieren gekomen.

Conclusies:

Resumeerende komen we tot de volgende conclusies:

1. De antivirus- en serumbehandeling hebben tot geen frappante verschillen aanleiding gegeven.
2. Over het algemeen zijn de resultaten, bereikt met antivirus, gunstiger te noemen.
3. De intracutane applicatie van het antivirus verdient de voorkeur.

Curatieve werking van het antivirus bij Goedaardige droes.

De toepassingen van het antivirus uit curatief oogpunt bij goedaardigen droes hadden plaats zoowel bij paarden die in het initiaal stadium verkeerden of dit reeds achter den rug hadden, als wel bij paarden die reeds het hoogtepunt in het ziekteverloop hadden bereikt en waar reeds genezing was ingetreden.

Voor zoover het de injectie van antivirus betrof, werd deze verricht in het subcutane bindweefsel hoog aan den hals in de parotisstreek, gewoonlijk aan twee zijden; eenmaal werd de injectie tusschen de beide kaaktakken toegepast.

De meeste der behandelde paarden waren van 5 à 6-jarigen leeftijd; enkele waren ouder, 10 à 12 jaar.

Het gebruikte antivirus was bereid met enkele streptococcus equi stammen.

Geval 1. Status praesens. 29/4.

Lichtbruine ruin, 4½ jaar, gekruist inlandsch ras. Het dier lijdt kennelijk aan droes, stille blik, neusuitvloeiingen en zwelling tusschen de kaaktakken die de geheele ruimte opvult en buiten de kaakranden uitsteekt. Het dier hoest bij druk op de larynx.

Lichaamstemperatuur 39.7° C. Pols 40. Ademhaling 10.

Regurgiteeren wordt niet waargenomen. Bij de lgl. submaxillaris dexter een duidelijke fluctuatie op te merken; de huid is er reeds vochtig, zoodat doorbraak spoedig kan worden verwacht.

Behandeling.

Rechts en links in de jugulairgroeve ter hoogte van de parotis wordt aan iederen kant 20 cc. antivirus ingespoten. Het paard wordt opgestald.

30/4. Fluctueerende plek bij lgl. submaxillaris dexter is doorgebroken, dikke lichtgele etter ontlast.

Op injectieplaats van het antivirus bestaat eenige zwelling; deze zwelling is niet warm en niet pijnlijk.

Twee centimeter beneden doorbraak dreigt nieuwe doorbraak (bij omslag Arteria maxillaris).

1/5. Zwelling in de keelstreek zachter en minder gevoelig.

Op de injectieplaats is de zwelling verdwenen en ook waar

de tweede doorbraak dreigde teruggegaan. Het dier wordt nogmaals met antivirus behandeld (20 cc. aan elke halszijde); in de wond wordt een drain met antivirus gebracht.

2/5. Geen noemenswaardige verandering van de keelzwelling. Neusuitvloeiing bestaat nog steeds. Eetlust middelmatig.

3/5. Minder neusuitvloeiingen. Eetlust beter. Zwelling duidelijk minder.

4/5, 5/5, 6/5. Weinig verandering in toestand. Pols en ademhaling blijven steeds normaal.

7/5. Eetlust minder, meer neusuitvloeiing. Minder levendig. Zwelling in kaakstreek zoo goed als weg.

8/5. Eenige verbetering, beter eetlust. Temperatuur lager. Algemeene voedingstoestand niet minder dan bij aankomst.

9/5. Eetlust goed. Weinig neusuitvloeiing.

11/5. Neusuitvloeiing weg. Klierzwelling weg. Paard weer gezond.

Het dier blijft in observatie tot 19/5. Gedurende dien tijd houdt het dier zich goed.

Geval 2. 23/5.

Uit denzelfden stal als het voorgaande paard vertoonde een 10-jarige gekruiste merrie op 23/5 zwelling tusschen de kaaktakken. Het dier maakte geen zieken indruk en verrichtte ten tijde dat men de zwelling opmerkte arbeid. Alleen de submaxillaire klieren waren gezwollen met rechts geringe fluctuatie. De retropharyngeale klieren waren normaal, slikbezwaren of ademhalingsbezwaren bestonden niet. De lichaamstemperatuur bedroeg bij aankomst in den ziekenstal 39.1° C., pols en ademhaling waren iets verhoogd.

Den zelfden dag werd rechts en links boven aan den hals in de jugulairgroeve 20 cc. antivirus geïnjiceerd.

25/5. Kleine doorbraak rechter submaxillaire klier, zwelling minder. Algemeene toestand goed. Ter hoogte van de injectieplaats geringe niet pijnlijke zwelling.

28/5. Zwelling der klieren tusschen kaakstreek is gering. Temperatuur, pols en ademhaling normaal. Neusuitvloeiing zoo goed als opgehouden.

2/6. Dier is genezen. Wond scheidt geen etter meer af.

Geval 3. Vosmerrie 5 jaar.

Eigenaar heeft sedert eenige dagen opgemerkt dat het dier moeilijk slikt.

Temperatuur 40° C. Pols 68. Ademhaling 16.

Submaxillaire klieren sterk gezwollen, iets warm en pijnlijk bij palpatie.

Retropharyngeale klieren eveneens gezwollen en pijnlijk.

Aan de neusopeningen groen ingedroogd plantenmateriaal. Larynx gevoelig bij druk. Dier snurkt alleen bij inspiratie.

Bij drinken regurgiteeren en voedseldeelen komen terug bij eten van groenvoer. Soms sterk speekselen.

Defaecatie normaal. Urine normaal.

Leucocytenaantal reeds sterk verhoogd, n.l. 17.500.

Diagnose: Laryngitis, pharyngitis, goedaardige droes.

Antivirus werd ingespoten aan weerszijden hoog aan den hals telkens 20 cc.

27/5. Zwelling der retropharyngeale klieren toegenomen en regurgiteeren sterker.

Pols 72. Temperatuur 40.2° C. Ademhaling 18. Eten vrij goed.

28/5. Pols 58. Temperatuur 39.6° C. Ademhaling 18. Eten vrij goed.

29/5. Pols 58. Temperatuur 39.4° C. Ademhaling 12. Het paard eet goed. Snurken minder, soms zelfs verdwenen. Tusschen de beide onderkaaktakken komt geelbruine oedeemvloeistof te voorschijn. De rechtersubmaxillaire klier is zachter en minder groot dan links.

30/5. Uit de submaxillaire klier komt etter.

31/5. Doorbraakopening chirurgisch vergroot, etter vloeit af.

1/6. Pols 48. Temperatuur 38.5° C. Ademhaling 12. Dier eet goed. Omvang submaxillaire en retropharyngeale klier afgenomen. Af en toe sterk regurgiteeren. De doorbraakopening wordt behandeld met zinkzalf.

8/6. Temperatuur blijft boven 38° C. Omgeving submaxillaire klieren weer gezwollen. Zwelling geopend, weinig etter.

11/6. Plotseling sterke zwelling der retropharyngeale klieren, speciaal rechts. Dier eet langzaam.

Bij laryngoscopisch onderzoek blijken beide stembanden paretisch te zijn, links meer dan rechts. Tevens sterke zwelling in de keelstreek van het slijmvlies.

19/6. Klieren met vet ingesmeerd. Rechts duidelijke zwelling. Temperatuur 39° C.

22/6. Klieren rijp om te openen. Twee maal daags uitdrukken — verder grootendeels wond aan zich zelf overlaten.

23/6. Dier eet goed. Twee maal daags behandeld.

24/6. Dier eet heel rantsoen.

25/6. Wond ziet er goed uit, weinig afscheiding. Eet goed.

30/6. Paard vertrokken.

Geval 4.

Paard heeft sedert enkele dagen dikke keel. Snurkt en is benauwd.

Pols 64. Temperatuur 39.6° C. Ademhaling 16.

De linker retropharyngeale klier is sterk gezwollen, de rechter minder.

De rechter submaxillaire klier is doorgebroken.

Diagnose: goedaardige droes.

Rechts en links van den hals telkens 20 cc. antivirus ingespoten.

28/6. Paard heeft niet gegeten en gedronken.

29/6. Dier snurkt veel minder dan eerst. Eetlust nog slecht. Temperatuur iets lager.

30/5. Paard eet goed gras. Snurkt meer dan 29/5. Temperatuur 38.5° C.

1/6. Paard maakt slechten indruk. Pols, temperatuur en ademhaling weer gestegen.

2/6. Paard is heftig benauwd. Klier waarschijnlijk naar binnen doorgebroken, veel etterige neusuitvloeiing. Tracheotomie gedaan. Temperatuur 's avonds veel lager.

3/6. Paard is erg onrustig en perst geweldig. Retropharyngeale klier links veel dunner geworden. Uit neus veel etter kwijtgeraakt. Eet noch drinkt. Dier krijgt 2 maal daags melk.

4/6. Paard eet een beetje gras. Geen persen meer.

8/6. Tubus uit trachea genomen. Jodoformpoeder op wond gedaan. Keelstreek met „Feu-français" ingewreven.

12/6. Nog steeds laat het dier licht snurkend geluid hooren. Laryngoscopisch onderzoek wijst uit dat het dier corneur is.

Geval 5.

Schimmel 9 jaar. Sinds 14 dagen lusteloos. Matige voedings-

toestand. Pols 52. Ademhaling 14. Temperatuur 40.5° C. Slijmvliezen vuil rood en geïnjiceerd. Rechter submaxillaire klier iets gezwollen.

Weinig uitvloeiing uit neus. Geregurgiteerd en ingedroogd voedsel aan de neusopeningen.

Bij knijpen in larynx en trachea niet tot hoesten te brengen.

Bij drinken regurgiteeren en drinken met kleine teugen.

Diagnose: goedaardige droes.

Ingespoten met 40 cc. antivirus (2 maal 20 cc.) in het weefsel bij de gezwollen submaxillaire klieren.

30/5. Zwelling der submaxillaire klieren veel grooter. Oedeem aan den kop (gevolg van inspuiting, mechanische circulatiebelemmering?)

1/6. Submaxillaire klieren geopend. Getamponeerd met tampons gedrenkt in antivirus.

2/6. Tampon uitgehaald. Vrij veel etterige afscheiding. Wond goed opgesloten. Nieuwe tampon ingebracht.

2/6. Tamponbehandeling.

6/6. Geen beter wondreiniging met de tamponbehandeling met antivirus dan met gewone behandeling.

16/6. Hit volkomen genezen vertrokken.

Geval 6.

14/6. 6-jarige bruine ruin. Paard in ongeveer 3 dagen ziek. Eet en drinkt slecht.

Matige voedingstoestand. Dier staat met gestrekten hals.

Slijmvliezen iets geel.

Submaxillaire en retropharyngeale klieren vergroot, pijnlijk en warm. Pols 52. Temperatuur 39.8° C. Ademhaling 16.

Uit de neusopeningen vloeit af en toe etterig secretum.

Larynx gevoelig bij knijpen. Hoest pijnlijk en onderdrukt. Trachea niet gevoelig. Longen bij auscultatie geen afwijkingen.

Longpercussieveld naar beneden enkele vingerbreedten vergroot.

Regurgiteeren bij drinken. Faeces normaal. Iets slijm om de faecesballen. Enkele stronggyluseieren, geen schimmeldraden bij microscopisch onderzoek.

Diagnose: goedaardige droes.

15/6. Temperatuur gedaald tot 38° C.

16/6. Ingespoten met antivirus 40 cc.

17/6. Eetlust behoorlijk. Paard eet langzaam. Regurgiteeren nog aanwezig. Etterig secretum uit neus. Temperatuur blijft normaal.

20/6. Eetlust goed. Nog slechts weinig etter uit den neus. Temperatuur normaal.

22/6. Vertrokken met advies paard gedurende een week rust te gunnen.

Geval 7.

Bruine Belg, 7 jaar. Voor 14 dagen paard gekocht. Bij aankoop was het dier verkouden en snurkte. Pols 60. Ademhaling 24. Temperatuur 40° C.

Beide neusgaten vuil. Retropharyngeale klieren gezwollen.

Ingespoten met antivirus 40 cc., subcutaan aan den hals.

16/6. Bij eten en loopen snurkend geluid te hooren. Zeer pijnlijk bij druk in de halsstreek. Pols 52. Ademhaling 24. Temperatuur 38.8°. C

Retropharyngeale klieren gezwollen en zeer pijnlijk. Pijn misschien door inspuiting antivirus verhoogd. Neusgaten vuil. Bij auscultatie geen afwijkingen. Longpercussieveld normaal, geen gevoelige trachea. Gevoeligheid bij druk op larynx was door pijnlijke omgeving niet uit te maken.

Dier regurgiteert bij drinken. Faeces hard en stijf, stopverfachtig.

18/6. Eet matig. Pols 44. Ademhaling 16. Temperatuur 38.5° C.

19/6. Eet in hoofdzaak haver. Temperatuur 38.8° C.

20/6. Dier wordt steeds beter. Snurkt weinig meer, regurgiteert iets.

22/6. Paard laryngoscopisch onderzocht. Linker stemband geheel verlamd. Rechter gedeeltelijk.

Bij geforceerde inspiratie hoog geluid te hooren; bij expiratie dof geluid. Algemeene toestand is beter. Eet hoofdzakelijk haver. Weinig snurken te hooren.

23/6. Dier eet nog hoofdzakelijk haver. Snurkt nog.

24/6. Eet langzaam heel rantsoen.

25/6. Temperatuur wat hooger 38.8° C. Eet slecht gras. Haver goed.

26/6. Temperatuur normaal, dier eet goed, wat langzaam, snurkt niet bij eten.
27/6. Paard vertrokken.

Conclusie:

Bij de curatieve behandeling die bij paarden, welke aan goedaardigen droes leden door middel van subcutane inspuitingen of tamponade van de doorgebroken abcessen met in antivirus gedrenkten bouillon, heeft plaats gehad, is het niet gebleken dat deze behandeling voordeelen heeft boven de gewoonlijk toegepaste symptomatische behandeling.

Samenvatting en Conclusies.

Gaan we aan het eind van dit proefschrift nogmaals de vraag stellen, zooals we dat in den aanvang gedaan hebben: bestaat er werkelijk een antivirus in den zin zooals *Besredka* dat bedoelt, dan moet het antwoord hierop luiden: ja en neen. Wij zijn het met *Besredka* eens, wanneer hij meent dat oude bouillonculturen of hunne filtraten immuniseerend vermogen bezitten. Ontkennend luidt ons antwoord wanneer hij het immuniseerend principe identisch acht met de in oude bouillonculturen dikwijls voorkomende groeiremming. Immers door een der experimenten is ons inziens bewezen, dat een minder duidelijke groeiremming in bouilloncultuurfiltraat de immuniseerende werking niet behoeft uit te sluiten. Er bestond dus geen parallelisme tusschen groeiremming en immuniseerend vermogen, zoodat het mij het meest voor de hand liggend voorkomt dat beide phenomenen ieder op hun eigen principe berusten en er zou gesproken kunnen worden van een immuniseerenden en een groeiremmenden factor, alhoewel het ook mogelijk is dat de verschijnselen in vitro en vivo toch beide aan één enkel principe zijn gebonden, maar dat òf de eene, òf de andere eigenschap van dit principe duidelijker voor den dag treedt.

Een tweede vraag welke naar voren komt betreft het feit of het ontstaan van antivirus een constant verschijnsel is. Zoowel wat betreft de groeiremming als het immuniseerend vermogen moet dit ontkennend worden beantwoord.

Bij de dierexperimenten is voldoende gebleken dat een meer of minder goed resultaat afhangt van de bacteriën welke voor de antivirusbereiding worden gebruikt. Immers een goed werkend antivirus is alleen te verwachten bij gebruik van versche, zoo mogelijk direct uit de pathologische producten geïsoleerde bacteriestammen. Ook de groeiremmende eigenschap is niet altijd constant in haar optreden; groote verschillen hiervan zijn in de literatuur bekend en ook gedurende mijn onderzoek is dit meerdere malen gebleken.

Ook de vraag of alle pathogene bacteriën „antivirus" vormen is nog een open vraag.

Alhoewel reeds bij verschillende pathogene bacteriesoorten door onderscheidene onderzoekers zoowel een remmend vermogen in bouillonculturen als een immuniseerende eigenschap kon worden aangetoond, staat het toch niet vast dat bij alle pathogene bacteriesoorten deze eigenschappen voorkomen. *Besredka* zelf zegt dat miltvuurbouillonculturen geen remmende werking bezitten, terwijl mij persoonlijk is gebleken, dat vlekziektecultuurfiltraten een goede remmende werking kunnen vertoonen, zonder dat eenige beschutting hiervan bij duiven, die hiermede werden behandeld, tegenover vlekziektebacillen kon worden waargenomen.

Dit geconstateerde feit bevestigt nogmaals mijn opvatting dat groeiremmende en immuniseerende eigenschap niet identich zyn en het doet tevens de meening postvatten dat niet alle bacteriesoorten aan bouillon immuniseerende eigenschappen geven.

Betreffende de natuur van het antivirus valt, gezien den huidigen stand der onderzoekingen, weinig concreets te zeggen. Het ligt in den aard der questie, te vermoeden dat de genoemde eigenschappen van oude bouilloncultuurfiltraten gedragen worden door eiwitafbraakproducten. Wil men de natuur van het „antivirus" doorgronden, dan dient men volgens mij in deze richting te zoeken.

Bezien we verder de bereikte resultaten met antivirus bij enkele dierziekten, dan kan over het algemeen gezegd worden dat de opgedane ervaring van dien aard is dat meerdere en uitgebreide toepassingen gerechtvaardigd zijn. Dit moet hand in hand gaan met nadere bestudeering van het „antivirus", speciaal moet getracht worden of het niet mogelijk is de antivirusproductie der bacteriën te verhoogen en te stabiliseeren.

Vooral de bereikte resultaten bij de preventieve behandeling van den goedaardigen droes zijn bemoedigend. Steeds waren de uitkomsten beter dan bij de serumbehandeling en om deze reden zou dus reeds een antivirusbehandeling te verkiezen zijn boven een serumbehandeling, te meer daar het antivirus een veel goedkooper middel is dan serum.

LITERATUUR*).

Alavi-Moghadam. Essais de vaccination contre le streptocoque gourmeux. Thèse Toulouse 1928.

Aldershof. Onderzoekingen in vitro over den aard van het antivirus. Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1929. p. 307.

Angerstein. Antistreptococcenserum. Ref. E. S. 1902.

Argoud. Serotherapie der Drusepferde. Ref. E. S. 1908.

Baldrey. Präventiv Impfung gegen Druse. Ref. E. S. 1910.

Balteanu, I. en *Tudoranu, G.* A propos de la note de Kepinow etc. C. R. Soc. Biol. 92. 119.

Bardelli. Impfungen gegen Druse. Ref. E. S. 1910.

Barg, G. S. Zur Frage der das Microben Wachstum u.s.w. Z. f. Bakt. 102. 1927.

Besredka, A. Vaccination par voie cutanée. Charbon: Cuti-infection, cuti-vaccination, cuti-immunité. Ann. Inst. Pasteur 1921. pg. 428.

—— De l'immunité locale. Bull. Inst. Pasteur. t. 32. 1924.

—— De l'immunité locale. Cuti-vaccination et pansements spécifiques. Presse Médicinale. 1924.

—— Immunisation locale, Pansements spécifiques. Masson. Paris 1925.

—— Rôle de la peau dans l'immunisation naturelle au cours des infections et dans l'immunité aquise. Bull. Inst. Pasteur. t. 33. 1925.

—— L'immunisation locale et ses applications pratiques. Presse Médicinale 1926.

—— Antivirustherapie. Masson. Paris 1930.

Besredka et Urbain. Le pansement antistreptococcique. C. R. Soc. Biol. 1923.

Berzeller, A. De l'immunisation locale du lapin etc. C. R. Soc. Biol. 1928.

Bobroff, D. Essai de vaccination etc. Vétérinairie Pratique. (Ontleend aan Besredka's Antivirustherapie. Masson et Cie. Paris.)

Bongert, J. Bakteriologische Diagnostik. 7e dr.

Bouchet. Note sur l'emploi d'un antivirus streptoccicique dans la gourme. Bull. Acad. vét. France. 1929.

Brumlik, M. Über die Wirksamkeit des Antivirus u.s.w. W. Klin. W. 43. 1927.

Buchner, L. Die Naegelische Theorie der Infectionsk. u.s.w. Leipz. 1877.

Cappeletti en *Vivaldi.* Le streptococcus equi. Ref. E. S. 1899.

Cernaianu, C. Die pathog. des Milzbr. u. die Milzbr.schutzimpfung etc. Berl. T. W. 1928. No. 28.

Chaillot, L. Étude in vitro sur les antivirus. R. C. Soc. Biol. 103. 206-207.

---

*) Enkele in de tekst voorkomende namen van auteurs zijn niet opgenomen in deze literatuurlijst. De met betrekking tot deze personen aangehaalde literatuur is ontleend aan handboeken.

Chaillot, L. Étude in vitro sur l'antivirus staphylococcique. C. R. Soc. Biol. 103. 122.

—— Les antivirus et leur application autrement etc. Diss. Paris 1930.

Chikkanoff, U. Contribution à l'étude de la spécificité des antivirus. C. R. Soc. Biol. 98.

Conradi u. Kurpjuweit. Münchener Med. W. 1905.

Cuiga en *Baltenau.* Vacc. antichol. par voie cutané chez le cobaye. C. R. Soc. Biol. 90. 1924. pg. 315.

Dassonville, u. Wissocq. Erster Versuch der Serumtherapie. Ref. E. S. 1905.

Dauvois, L. Innocuité de la vaccination etc. Rev. génér. médec. vétér. 1928.

Deckart, u. Neumann. Erfahrungen mit Druselymphe. Ref. E. S. 1919.

Delvos. Serumanwendung bei Druse. Ref. E. S. 1898. S. 99.

Demel, Driak u. Moritsch. Behandlung mit einen modifizierten antivirus „Histan". W. Klin. W. 1927. No. 39.

Desoubry. Zur Prophylaxe der Druse. Ref. E. S. 1910.

—— A propos de la serumtherapie antigourmeuse. Ref. E. S. 1911.

Detre. Ladisl. Kritik der Antivirustheorie von Besredka. Ref. Jahresbericht der Vet. Med. 1926.

Douglas, A. Over curatieve en preventieve waarde etc. Diss. Utrecht. 1927.

Dumas, A. Traitement des Infections à germes pyogenes etc. Thèse. Paris. 1932.

Dutot et *Turc.* Guérison d'une fistule etc. Rev. Vét. Mil. T. 14.

Dzerchgovsky, W., Ponomareff, A. en *Fein, S.* Contribution à l'étude biologique du streptocoque. Travaux du Xe Congrès de Bactériol. 1927.

Ebert, u. Saschina. Experimentalstudien zur Frage u.s.w. C. f. Bakt. Orig. 99.

Eisler, M. u. Lehndorf, H. Ein modifiziertes Antivirus. W. Kl. W. 1927. 33.

Epstein, E. u. Lorenz. Zur chemischen Beschaffenheit etc. W. Kl. W. 1927. No. 49.

Epstein, W. Vorlaufige Mitteilungen etc. W. Kl. W. 1927.

Eykmann, C. Über Enzyme bei Bakterien u. Schimmelpilze. C. f. Bakt. 1. Abt. Orig. Bd. 29, 37.

Feuerhack. Bericht über die Erkrankungen etc. Ref. E. S. 1905.

Gay, J. On local and general immunity. Jnl. of Imm. Vol. XIII.

Gerlach u. Kralicek. Über die Anwendung von Kulturfiltraten etc. D. T. W. No. 21. 1927.

Gourvitch, B. & Block, L. Etiologie des angines du cheval et traitement par l'antivirus streptococcique. C. R. Soc. Biol. 96.

Gouzartchik et Glarner. Étude in vitro des antivirus. C. R. Soc. biol. 102.

Grumbach. Experimentelle Studien zur Besredka'schen Lehre. u.s.w. Zeitschr. f. Imm. Bd. 57.

Hajós, K. Beitrage zur Frage der wachstumhemmenden Wirkung von Bouillonkulturen. C. f. Bakt. Bd. 88. orig.

Hancke. Die Druse in Remonte Ambt. Z. f. Veterinairk. Ref. E. S. 1930.
Herter. Ausz. a. d. Stat. Vet. Ber. über d. Rem. Ämter. Z. f. Veterinärk. Ref. E. S. 1930.
Hrĕbacka. Das Besreska'sche Antivirus in der Praxis. Ref. E. Sch. 1929.
Jess. Über Druse-streptococcenserum. Ref. E. S. 1905.
Jelkmann. Über Gourmin. Ref. E. S. 1903.
Kadikow, A. Das antivirus bei Behandlung u.s.w. Ref. E. S. 1929.
Kandiba, L. u. Sadowsky, E. Contribution à l'étude de l'antivirus. Ann. Inst. Past. 43.
Karmann. Die Milzbrand Impfung nach Besredka. Zeitschr. f. Inf. Krankheiten. 1931.
Kaufmann. Zeitschr. f. Hyg. u. Infectionskr. Bd. 106.
Kitt. Ein Versuch einer Druseschutzimpfung. Ref. E. S. 1907.
Kissener u. Bazilevskaïa. Du méchanisme de l'Immunité etc. C. R. Soc. Biol. 99. 1928.
Kittinger. Die Behandlung der eitrigen peritonitis etc. W. Kl. W. 1927. No. 31.
Kollath u. Herfarth. Versuche über das Wesen etc. C. f. B. I. Orig. Bd. 106.
Lacrois. Über ein Fall im Druseanasarka etc. Ref. E. S. 1903.
Kramer, Y. M. Bijdrage tot de kennis etc. Diss. Utrecht. 1925.
Krause, W. Das Antivirus Besredka's etc. Berlin. Diss. 1930.
Kurtzwig. Ueber Druse Schutz- und Heilimpfungen. Ref. E. S. 1914.
Lange. Behandlung der Druse. Ref. E. S. 1919.
Liebnitz. Die Behandlung der Druse. Ref. E. S. 1924.
Löffler. Über ein neues Verfahren u.s.w. D. M. W. 1904.
Maier. Antistreptococcenserum etc. Ref. E. S. 1902.
Mallory and Marble. Local immunization of Rabbits. Jnl. of Exp. Med. 1925.
Miller, P. Untersuchungen über die locale imm. etc. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Kr. 107.
Moritsch u. Oppolzer. Über Behandlung eitriger Inf. mit antivirus. W. Kl. W. 1927.
Neubert. Erfahrungen mit Druse-Yatren-Vakzin. Ref. E. S. 1927.
Moszdorf. Beitrag zur Drusebehandlung. Z. f. Veterinärkunde. 1930.
Nevodoff. De la cuti-vaccitination etc. Ann. Inst. Past. 34. 1925.
—— Des vaccinations anticharbonneuse etc. C. R. Soc. Biol. 94. 1926.
Nocard. Antistreptococcenserum etc. Ref. E. S. 1903.
Oesterlin, E. J. Experimental studies with pyocyaneus filtraties. Jnl. of Immunology. 1929. No. 4.
Ohba en *Tatekawa.* Contribution à l'étude du mode d'action des antivirus. C. R. Soc. Biol. 1930.
Otto, u. Munter. Z. f. Hyg. u. Infectionskrankheiten. Bd. 100.
Pansini. Z. f. Hyg. u. Infectionskr. Bd. 11.
Phlanz. Das Drusestreptococcenserum. B. T. W. 1901.
—— Über Druseserum. B. T. W. 1905.
Piorkowsky u. Jess. Über streptococcensera. Ref. E. S. 1903.
Reimers. Beobachtungen über die Behandlung u.s.w. Ref. E. S. 1905.

Reiter en *Kirrokawa.* Versuche über perorale und percutane Immunisierung. Kl. W. 1926.
Richters. Zeitschrift für Veterinärkunde. 1929.
Rosenthal, P. Bacteriophage ou Antivirus? Masson et Cie.
Rosenthal, W. Tierische Immunität. 1914.
Sadovsky. De la vaccinthérapie des infections etc. Ann. Inst. Past. 1926.
—— Nouvelles observations etc. C. R. Soc. Biol. 1927.
Schiphorst. Die Bekampfung der Druse mittels Serum. Ref. E. S. 1928.
Schweinberg, Fr. Versuche zu Erklärung der Antiviruswirkung. W. Kl. W. 1928. No. 2.
Simmat. Antistreptococcenserum gegen Druse. Ref. E. S. 1903.
Singer, Julius en *Spitzer.* Die Behandlung der Dacryocystitis chronica. W. Kl. W. 1927.
Spachovsky. Ein Versuch der Behandlung der Druse der Pferde mit Antivirus. Ref. E. S.
Stickdam. Versuche mit Druselymphe. Ref. E. S. 1918.
Stramnitzer. Weiteres über Druseserum. Ref. E. S. 1904.
Straus, J. Antivirus nach Besredka. Jugosl. veterin. glasnik. Jhrg. 7.
Thienel. Schütz u. Heilimpfung gegen Druse. Ref. E. S. 1912.
Timcenko. Zur Frage über die Bekämpfung etc. Ref. E. S. 1928.
Tzekknowitzer, Goldenberg en *Tzouverkalow.* Contribution à l'étude des antivirus in vitro. C. R. Soc. Biol. 1928.
Urbain, A. Le rôle de la peau dans l'infection et l'immunité. Rev. Vét. Mil. 13.
Velu. Vaccination contre le charbon etc. Ann. Inst. Pasteur. 41. 1927.
Vinogradow. Ein Versuch der praktischer Anwendung etc. (Russisch). Ref. E. S.
Virchow. Virchow's Archiv. Bd. 97.
Wagenhauser. Zur Bekämpfung der Druse. Ref. E. S. 1904.
Weichardt. Die Mittel der Eiweiszumstimmungstherapie. D. M. W. 1931.
Willerding. Neues Drusepräparat. Ref. E. S. 1908.
Wollmann, E. Sur le rôle de la pau dans l'infection. C. R. Soc. Biol. 104. 1926.
Sobernheim, G. Experimentelle Untersuchungen zur Frage u.s.w. Z. f. Hyg. 1894.
Zörner. Impfversuche zur Bewertung etc. Ref. E. S. 1908.

J 8660.

STELLINGEN.

I.

Er dient in ons land meer aandacht te worden geschonken aan de simultaan enting als bestrijdingsmethode voor varkenspest.

II.

De wijze, waarop de bepalingen uit de Vleeschkeuringswet en de daarbij behoorende uitvoeringsbesluiten omtrent het weren van trichineus vleesch worden toegepast, is onlogisch.

III.

Naar alle waarschijnlijkheid speelt ook de hond, als smetstofdrager een rol bij de verspreiding der Weil'sche ziekte van den mensch.

IV.

De verspreiding der neurolymphomatosis gallinarum (verlammingsziekte) geschiedt hoofdzakelijk via het ei.

V.

Bacterieele vleeschvergiftigingen zijn waarschijnlijk bij uitzondering het gevolg van postmortale besmetting.

VI.

De bewering, dat men vroegtijdig de diagnose uiertuberculose kan stellen door cytologisch onderzoek van het uiersecretum, is niet altijd juist.

VII.

De bloeddruppel-agglutinatie als diagnostische reactie bij chronische pullorumziekte staat niet in betrouwbaarheid ten achter bij de serum-agglutinatie.