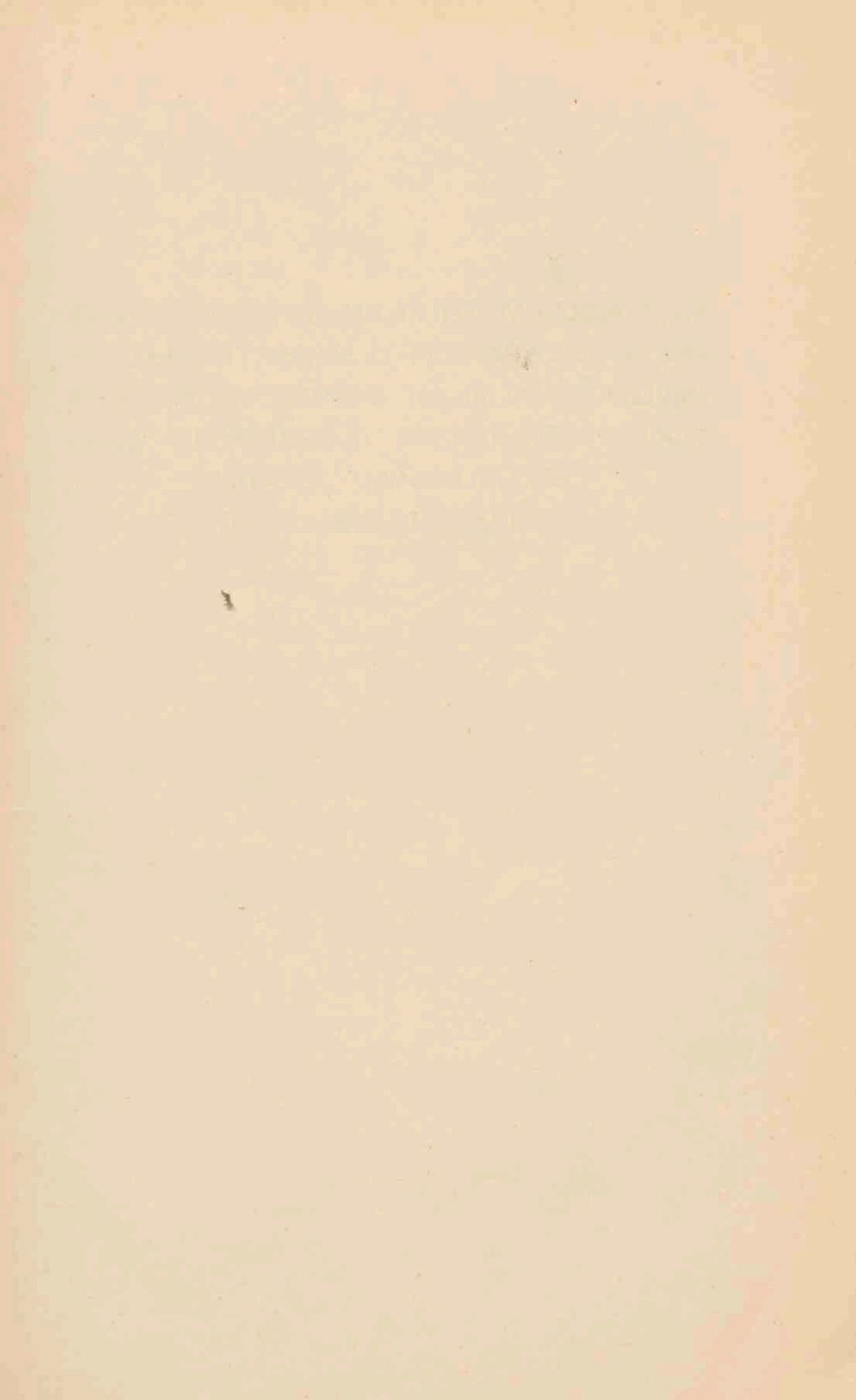




Een onderzoek naar de waarde van enkele vitamine-D preparaten voor kuikens en tevens naar de mogelijkheid vitamine-D preparaten door middel van kuikens te standaardiseeren

<https://hdl.handle.net/1874/319857>

EEN ONDERZOEK NAAR DE WAARDE
VAN ENKELE VITAMINE-D PREPARATEN
VOOR KUIKENS EN TEVENS NAAR DE
MOGELIJKHEID VITAMINE-D PREPARATEN
DOOR MIDDEL VAN KUIKENS
TE STANDAARDISEEREN



EEN ONDERZOEK NAAR DE WAARDE VAN
ENKELE VITAMINE-D PREPARATEN VOOR
KUIKENS EN TEVENS NAAR DE MOGELIJK-
HEID VITAMINE-D PREPARATEN DOOR
MIDDEL VAN KUIKENS
TE STANDAARDISEEREN

Diss Utrecht 1934

EEN ONDERZOEK NAAR DE WAARDE VAN ENKELE
VITAMINE-D PREPARATEN VOOR KUIKENS EN
TEVENS NAAR DE MOGELIJKHEID VITAMINE-D
PREPARATEN DOOR MIDDEL VAN
KUIKENS TE STANDAARDISEEREN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR
IN DE VEEARTSENIJKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVER-
SITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR
MAGNIFICUS, DR. C. W. STAR BUSMANN, HOOG-
LEERAAR IN DE FACULTEIT DER RECHTSGELEERD-
HEID, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER
UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE
FACULTEIT DER VEEARTSENIJKUNDE TE VER-
DEDIGEN OP VRIJDAG 29 JUNI 1934
DES NAMIDDAGS 4 UUR

DOOR

JEANNETTE VOET

GEBOREN TE OVERVEEN.

RIJKSUNIVERSITEIT UTRECHT



1291 5561

DRUKKERIJ VIJLBRIEF — NEUDE 37 — UTRECHT

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

Aan de nagedachtenis van mijn ouders.

Bij het beëindigen van mijn academische studie zij het mij vergund mijn hartelijken dank te betuigen aan allen, die tot mijn wetenschappelijke vorming hebben bijgedragen.

Voorals U, Hooggeleerde Klarenbeek, Hooggeachte Promotor, betuig ik in het bijzonder mijn dank. Uw steun bij mijn werk en Uw praktische raadgevingen bij het bewerken van dit proefschrift zijn voor mij van zeer veel waarde geweest. De belangstelling en het enthousiasme, welke Gij weet op te wekken voor de verschillende wetenschappelijke problemen, zullen mij steeds een aansporing zijn tot verdere studie. De jaren als assistent aan Uw Kliniek en onder Uw leiding doorgebracht, blijven mij steeds onvergetelijk.

Hooggeleerde Sjollemma, U dank ik ten eerste voor het verrichten der chemische analyses, van de, in dit proefschrift gebruikte, voedingsmiddelen.

Hooggeleerde Krediet, het was mij een bijzonder voorrecht in Uw Instituut gastvrijheid te mogen genieten bij het bewerken van het histologische gedeelte van dit proefschrift. Hiervoor wil ik U op dezen plaats hartelijk dank zeggen.

Zeergeleerde Veendaal, U dank ik voor de prettige samenwerking gedurende de jaren, die ik in de Kliniek voor Kleine Huisdieren als assistent mocht doorbrengen.

Waarde Meyling, voor de steun en de praktische raadgevingen bij mijn histologisch werk, betuig ik U hier mijn hartelijken dank.

Ten slotte betuig ik mijn hartelijken dank aan allen, die op eenigerlei wijze mij behulpzaam zijn geweest bij het bewerken van dit proefschrift, in het bijzonder den Heer van der Horst voor zijn hulp bij het maken der röntgenfoto's en den Heer Van der Zweep voor het vervaardigen der teekeningen.

INHOUD.

INLEIDING.

LITERATUUROVERZICHT.

Rachitis (algemeen gedeelte).

Aetiologie.

De betrekking tusschen rachitis en de minerale bestanddeelen van het dieet.

De invloed van het licht op rachitis.

Eigenschappen en bereiding van het vitamine D.

De gevaren van hypervitaminose.

Rachitis bij het kuiken.

De differentieel-diagnose van rachitis.

De hoeveelheid Ca en P in het voedsel, die noodig is voor een normale beenontwikkeling bij het kuiken.

De meest gunstige Ca en P verhouding voor het kuiken.

Het standaardiseeren van vitamine D preparaten.

Chemische methoden.

Physische methoden.

Biologische methoden.

EIGEN PROEVEN.

Inleiding tot eigen onderzoek.

Keuze proefdier.

Beoordeelingsmethode.

Waarde-bepaling der resultaten.

De keuze der preparaten.

Het aantal dieren per groep.

Grootte en aard van de proeffout.

Techniek.

Het fokken en huisvesten.

De voeding.

Het maken der röntgenfoto's.

Proeven.

Bespreking.

Davitamon D.

Dohyfral.

Vigantol.

Levertraan.

Een vergelijking tusschen de preparaten.

De invloed van de hoeveelheid en de verhouding van Ca en P in het voedsel.

De invloed der gebruikte vitamine D preparaten op de groei.

De invloed der zonbestraling.

De mogelijkheid van het standaardiseeren van vitamine D preparaten met behulp van kuikens.

Conclusie's.

HISTOLOGISCHE GEDEELTE.

Literatuur.

Techniek voor het maken der histologische preparaten.

De normale ontwikkeling van het kuikengebenaam.

Afwijkingen bij rachitis van het kuiken.

LITERATUURLIJST.

INLEIDING.

De laatste 15 jaar heeft de pluimveehouderij zich zeer sterk ontwikkeld, waardoor men aan de dieren steeds hooger eischen is gaan stellen. Door de veranderde levenswijze der kuikens: het broeden in de machine, het zeer vroeg in het voorjaar geboren worden en de opfok binnenshuis, alsmede door de steeds voortgaande selectie, die mogelijk werd door een nauwkeurige productie-contrôle, worden geheel andere eischen aan de voeding gesteld dan vroeger het geval was.

Het wekt geen verwondering, dat de voeding lang niet altijd in staat is geweest met deze ontwikkeling gelijke tred te houden en een normale groei en beenontwikkeling van het kuiken te waarborgen. De verstrekte voedsels hadden vaak belangrijke tekorten aan vitaminen. Ter voorkoming van aandoeningen door een gebrek aan deze stoffen veroorzaakt, werden de laatste jaren een groot aantal vitamine-bevattende preparaten in de handel gebracht. Daar de resultaten, die met deze middelen verkregen worden, zeer wisselend waren, leek het mij gewenscht een onderzoek in te stellen naar de werkelijke waarde van deze preparaten bij de opfok van kuikens en vooral van die preparaten, die als geneesmiddel of prophylacticum voor rachitis, de belangrijkste der avitaminosen, aanbevolen worden.

In dit proefschrift zullen allereerst de resultaten beschreven worden, die met enkele der meest gebruikte preparaten verkregen werden. Hiervoor was het noodig na te gaan, hetgeen bekend is omtrent de factoren, die bij het ontstaan en de genezing van rachitis een rol spelen.

Door het ontbreken van een goede chemische of physische methode voor het standaardiseeren van antirachitische preparaten, heeft men noodgedwongen zijn toevlucht moeten nemen tot biologische methoden. Tot nu toe werden voor deze proeven altijd ratten gebruikt, maar daar het vaak moeilijkheden oplevert om steeds over voldoende proefdieren te beschikken, werd door mij tevens onderzocht of ook kuikens voor dergelijke proeven bruikbaar zijn en zoo ja, welke voor- en nadeelen daaraan verbonden zijn.

Tenslotte werd een onderzoek ingesteld naar de histologische bouw van het been van het kuiken, daar in de literatuur hierover vrijwel geen gegevens bekend zijn, nòch over de histologische bouw van het normale been, nòch over de afwijkingen, die in de beenstructuur bij rachitis van het kuiken voorkomen.

LITERATUUROVERZICHT.

RACHITIS (algemeen gedeelte).

Aetiologie.

Hoewel het klinische beeld van rachitis reeds sedert eeuwen bij de mensch bekend was, gelukte het pas in 1919 aan Mellaby (70) door proeven met jonge honden te bewijzen, dat rachitis een deficientieziekte is. Het bleek hem, dat hij rachitis bij deze dieren experimenteel kon verwekken, wanneer hij de dieren hield op een dieet, dat weinig Ca en P bevatte en waaraan geen levertraan was toegevoegd. Het bleek toen, dat bij een ondoelmatige verhouding van Ca en P of bij een absoluut tekort hieraan, bij aanwezigheid van het antirachitische vitamine toch een normale verkalking van het been optrad. Echter bewezen de proeven van Sherman en Pappenheimer (108) en van Marek en Wellmann (65), dat bij een doelmatige Ca en P verhouding en een totaal afwezig zijn van het antirachitische vitamine evenmin rachitis ontstond en dat bij een zeer ongunstige Ca en P verhouding het vitamine niet onder alle omstandigheden in staat was de rachitogene werking van een dieet op te heffen. De proeven van Mellaby werden door andere onderzoekers met ratten herhaald. Aanvankelijk hadden zij geen succes; eerst toen zij zeer jonge ratten gebruikten en het hun gelukte een dieet samen te stellen, waarbij de dieren snel groeiden en waarin het vitamine D ontbrak, konden zij de resultaten van Mellaby bevestigen. De dieeten, die op het oogenblik algemeen voor rattenproeven gebruikt worden, zijn Mc Collum 3143 (19) en Steenbock 2965 (115). Beide dieeten zijn vitamine D-vrij en hebben een ondoelmatige Ca en P verhouding.

Uit het bovenstaande volgt wel, dat bij het ontstaan van rachitis niet alleen het ontbreken van het antirachitische vitamine een rol speelt, maar dat zeker ook de verhouding van Ca en P in het dieet van groot belang is.

Naast deze twee theorieën, waarin respectievelijk een gebrek aan het antirachitische vitamine of een foutieve Ca en P verhouding in het dieet als hoofdoorzaak voor het ontstaan van rachitis aangenomen wordt, zijn er tal van andere.

Een storing in de endocrine secretie zal slechts in enkele op zich zelf staande gevallen in aanmerking komen, want hoewel er ongetwijfeld door de endocrine klieren invloed op de kalkstofwisseling en de beenvorming wordt uitgeoefend, is het tot nu toe nooit gelukt bij rachitis kenmerkende veranderingen in deze klieren vast te stellen.

Ook infectie is vaak als oorzaak aangegeven. Uit het groot aantal bacterien, dat successievelijk gevonden werd, volgt reeds, dat deze meer een secundaire rol spelen en hun aanwezigheid meer te wijten is aan ongunstige hygienische omstandigheden.

Een intoxicatie als aetiologisch moment voor rachitis is ook nooit bevestigd kunnen worden.

Er zijn echter voor het ontstaan van rachitis wel begunstigende invloeden bekend, vooral in die gevallen, waar de hoeveelheid of verhouding van Ca en P of de hoeveelheid vitamine D zich juist op de grens van voldoende en onvoldoende bevinden.

In de eerste plaats komt daarbij in aanmerking gebrek aan beweging. Beweging zal een gunstige invloed op de beenvorming hebben, terwijl bovendien bij beweging in de buitenlucht door de ultraviolette stralen der zon een antirachitische werking wordt uitgeoefend. Mellaby (71) bewees echter reeds, dat gebrek aan beweging niet de oorzaak der rachitis kan zijn; bij volle vrijheid kregen zijn proefdieren op een onvolwaardig dieet toch rachitis, terwijl dieren op een volwaardig dieet met weinig beweging vrij bleven.

Ook de groeisnelheid is van belang, daar de Ca en P behoefte bij langzaam groeiende dieren nog voldoende kan zijn, terwijl ze voor snel groeiende dieren onvoldoende is.

Eveneens de voedingstoestand is van gewicht, daar men onder gelijke omstandigheden de best gevoede dieren het ernstigste rachitisch ziet worden.

Ziekten kunnen ook een rol spelen, daar ze de lichaamsbeweging verminderen en de stofwisseling vaak ongunstig beïnvloeden.

Er zijn ook steeds individueele verschillen op te merken, terwijl verder inteelt van invloed kan zijn, door het verwekken van minder krachtige nakomelingen.

Vele van deze, de rachitis begunstigende, factoren staan in verband met de onnatuurlijke levensverhoudingen van onze huisdieren en gelden zeker ook voor het kuiken, dat geboren wordt en opgroeien moet onder zeer ongunstige omstandigheden.

De betrekking tusschen rachitis en de minerale bestanddeelen van het dieet.

Bij het herhalen van de proeven van Mellaby met jonge ratten, bleek het, dat rachitis bij deze dieren slechts was op te wekken, wan-

neer dieeten gebruikt werden met onvoldoende Ca en P of met Ca en P in een abnormale verhouding. De ziekte kon genezen worden door het evenwicht in de Ca en P balans te herstellen, zonder toevoeging van vitaminen. In 1922 gelukte het *Korenchovsky* (58) ratten rachitisch te maken op een dieet, dat alleen wat vitamine D betreft, onvoldoende was, wanneer hij zéér jonge dieren gebruikte. Hij vond ook, dat wanneer hij jonge ratten op een dieet hield met weinig Ca, in de meeste gevallen osteoporosis ontstond en slechts in enkele gevallen een lichte vorm van rachitis. Gaf hij een dieet, dat zoowel wat Ca betreft, als wat vit. D betreft, onvoldoende was, dan zag hij een duidelijker optreden der rachitis, dan bij het ontbreken van één van deze twee factoren afzonderlijk.

Op de waarde van een P gebrek werd het eerst gewezen door de Amerikaansche onderzoekers *Sherman* en *Pappenheimer* (108). Zij zagen rachitis optreden bij ratten, die op een dieet gehouden werden, dat onvoldoende P en vit. D bevatte. Lange tijd geloofden zij, dat het P gebrek van meer beteekenis was voor het ontstaan van rachitis, dan het vitamine D gebrek. Uit proeven van *Mellaby* blijkt echter, dat zoowel bij honden als bij ratten, een ernstige vorm van rachitis kan optreden met een dieet, dat voldoende P bevat.

McCollum c. s. (19, 111) veronderstelden reeds, dat de relatieve verhouding van Ca en P in het dieet van meer belang is, dan de absolute hoeveelheid. Bij afwezigheid van vit. D kon rachitis opgewekt worden bij de rat met een dieet, dat of een abnormaal hooge of een abnormaal lage verhouding van Ca en P had.

Uit de onderzoekingen van *Kramer* c. s. (59) bleek, dat wanneer de Ca en P stofwisseling in evenwicht was, het product van Ca en anorganische P in het bloedserum een bepaalde waarde heeft, terwijl bij een storing in de stofwisseling zooals bij rachitis, deze waarde duidelijk gedaald is. Gaven zij vit. D bij een rachitogeen dieet, dan zagen zij het product stijgen. Bereikte dit product een zekere waarde, dan trad tevens genezing der rachitis op. Bij het dieet van *Steenbock* 2965, dat een hoog Ca gehalte heeft en een laag P gehalte, zagen zij na toedienen van vit. D eerst een daling van het Ca gehalte van het bloedserum en een stijging van het anorganisch P gehalte, terwijl later ook het Ca gehalte weer steeg. Bij een dieet met een laag Ca gehalte en een hoog P gehalte zagen zij juist het omgekeerde. Het vit. D oefent dus een regelende werking uit ten opzichte van het product Ca en anorg. P van het bloedserum.

Dezelfde schrijvers stelden ook vast (59), dat bij ratten, die rachitisch gemaakt waren op het dieet van *Steenbock* 2965, het toevoegen van phosphaten een daling van het Ca gehalte en een stijging van het P gehalte ten gevolge had, terwijl ook het product steeg. Dit resultaat werd reeds in één dag verkregen, terwijl toen ook reeds beginnende genezing was te constateeren. Gaven zij phosphaat en levertraan gedurende één dag, daarna alleen levertraan, dan begon

het herstel terstond, onder stijging van de P waarde, terwijl vervolgens de P waarde weer daalde, stilstand in de verkalking optrad, tot na 5 dagen de levertraan het product voldoende hoog had gemaakt om genezing te verkrijgen.

Ook bij vasten kreeg men dezelfde resultaten; er trad een stijging van het product op, waarbij binnen 24 uur genezing was vast te stellen.

Deze uitkomsten zijn niet in overeenstemming met de proeven van Hess c. s. (42), die vonden, dat na toevoegen van kleine hoeveelheden bestraalde ergosterine, de anorg. P waarde steeg tot normaal, zonder dat genezing optrad. Door Kramer c. s. (60) werd dit verklaard door te wijzen op het feit, dat Hess c. s. de genezing hebben trachten te constateeren met behulp van röntgenfoto's; deze methode zou niet zoo nauwkeurig zijn als de door Kramer c. s. gevolgde line-test methode, waardoor het mogelijk is geweest, dat beginnende genezing over het hoofd gezien werd.

Ook Hamilton c. s. (34) vonden bij proeven met konijnen, die op het dieet van Mc Collum gehouden werden, dat toevoegen van levertraan of bestraalde ergosterine een afname gaf van het Ca gehalte, bij een stijging van het anorganisch P gehalte en van het product $\text{Ca} \times \text{anorg. P}$ in het bloedserum.

Bij bestraling der dieren met ultraviolet licht treedt ook een stijging op van het anorg. P gehalte van het bloed, wanneer de dieren op het dieet van Mc Collum gehouden worden.

Door Russell c. s. (90) werden proeven genomen met kuikens om de invloed van bestraling op het Ca en anorg. P gehalte van het bloedserum na te gaan. Zij vonden een direct verband tusschen de duur der bestraling en het gehalte van deze beide stoffen in het serum. Ook vonden zij een wisseling van de waarde van het Ca en anorg. P gehalte van het bloed, die overeen kwam met het percentage beenasch, dat bij deze dieren gevonden werd. Hieruit trokken zij de conclusie, dat er een verband moet bestaan tusschen de waarde in het bloed en de minerale neerslagen in de beenderen.

De vraag, die zich nu voordoet is deze, of de samenstelling van het been ook afhankelijk is van de wijze waarop het product $\text{Ca} \times \text{anorg. P}$ is samengesteld. Uit proeven van Holmes c. s. (44) bij kuikens volgt, dat de verhouding van Ca en P in het nieuw gevormde been steeds om dezelfde waarde schommelt en dat er geen verband bestaat met volledige en onvolledige beenontwikkeling, noch met de Ca en P verhouding in het voedsel, noch met het aschgehalte van het voedsel, de groei van het dier of het aschgehalte der beenderen. Chick c. s. (18) toonden aan, dat bij rachitis de totale hoeveelheid Ca en P, die in het verbeende weefsel was vastgelegd zeer variabel was, soms een zeer lage waarde bereikte; wanneer zij deze echter van het vetvrije been berekenden, dan naderde de waarde veel meer de normale, doch bleef daar echter altijd onder.

Zowel bestraling (Schultzer 101, 104), als toevoegen van vitamine D (Sherman en Stiebeling 109, 110), waren in staat het Ca en P gehalte der beenderen te doen stijgen en wel binnen zekere grenzen afhankelijk van de duur der bestraling en de hoeveelheid vitamine D, die werd toegevoegd.

Uit deze onderzoeken volgt, dat de verhouding van Ca en P in het been onafhankelijk is van de mate waarin de verbeening optreedt. De mate van verbeening zou bepaald worden door het product van het Ca en anorg. P van het bloedserum.

Over de vraag op welke wijze de verbeening van het groeiende beenweefsel tot stand komt, loopen de onderzoeken in twee richtingen. De aanhangers van de eene richting gaan uit van de chemische analyse van het been en die van de andere richting doen onderzoeken in weefselculturen. Bij deze laatste wijze van werken werd vastgesteld, dat in het verbeende kraakbeen een enzym, phosphatase genaamd, aanwezig is, dat bij het verbeeningproces een voorname rol speelt. Door Demuth (21, 22) werd vastgesteld, dat bij rachitis de phosphatase-werking sterk verhoogd is. Ook Schlechter (93) vond bij aan beenzwakte lijdende kippen een duidelijke verhooging der phosphatase-werking in het kraakbeen.

Door Heyman (43) werd nagegaan de invloed, die bestraalde ergosterine en bestraling met hoogtezon op de phosphatase-werking in weefselculturen uitoefent. Hij vond geen merkbare invloed der bestraalde ergosterine, maar wel vond hij in een aantal van zijn proeven een remmende invloed op de phosphatase-werking door hoogtezonbestraling.

Men heeft vaak gedacht, dat het mogelijk zou zijn uit de cijfers der Ca en P retentie conclusies te trekken ten aanzien der verkalking van groeiend beenweefsel. Dit blijkt echter niet mogelijk te zijn. Brown en Shohl (6) hielden ratten op een rachitogeen dieet, waaraan ze stijgende doses bestraalde ergosterine toevoegden. Zij vonden, dat het vitamine D de Ca en P retentie van het voedsel niet sterk beïnvloedde. Het vitamine D zou de verkalking van het been regelen door het oplossen en neerslaan van beenzouten. Het aschgehalte is de resultante van deze twee processen.

De retentie wordt bepaald door de hoeveelheid Ca en P in het dieet en hun onderlinge verhouding. Schultzer (101, 102, 103)) ging de invloed na van bestraling en van levertraan op de retentie. Hij vond bij dieeten met een gebrekkige Ca en P verhouding wel een gunstige invloed van de bestraling en van de levertraan, terwijl bij dieeten met een gunstige verhouding geen invloed gevonden werd.

Door Groeneveld (29) werd een onderzoek ingesteld naar de invloed van vitamine D en van bestraling met ultraviolet licht op de absorptie en retentie van Ca en P bij verschillende verhoudingen van deze beide stoffen in het dieet. Hij vond, dat bij alle verhoudingen van Ca en P, die toegepast werden, steeds een reactie verkregen werd door

het toevoegen van vitamine D of door bestraling met ultraviolet licht. Hem bleek echter ook, dat deze stofwisselingsgegevens geen beeld geven van het verbeeningmechanisme, daar de factoren, welke de hoeveelheden Ca en P bepalen, die worden vastgelegd, meer de totale groei van het weefsel beïnvloeden, dan de mate waarin been wordt gevormd.

Uitgebreide onderzoeken van *Berghem* (7) en *Solé* (114) over de vraag hoe de absorptie en secretie van Ca en P in het maag-darmkanaal plaats heeft bij gezonde en bij rachitische dieren en de factoren, die hierop van invloed zijn, hebben hierin nog geen duidelijk inzicht kunnen geven.

Een ander mineraal, dat vooral de laatste jaren de aandacht getrokken heeft, wegens zijn invloed op de beenvorming, is het Magnesium. Zoo wees v. *Euler* c.s. (26) er op, dat Mg-zouten de phosphatase in het been activeeren. Ook *Meyer* zu *Hörste* (72) zag door toevoegen van Mgcarbonaat aan een dieet, dat overeenkwam met het dieet van *McCollum* 3143, maar waarin slechts een tiende deel der gebruikelijke hoeveelheid CaCO_3 voorkwam en dat bij jonge ratten geen rachitis veroorzaakt, het optreden van rachitis. Histologisch en chemisch kwam deze Mg-rachitis overeen met de rattenrachitis; zij was ook door dezelfde middelen te genezen. Door *Kruse* c.s. (62) werd gevonden, dat Mg een noodzakelijk bestanddeel van de voeding is. Gaf hij jonge ratten een voedsel, dat slechts sporen Mg bevatte, dan traden na korte tijd huidhyperaemie en convulsies op.

Ook bij kuikens werd de invloed van Mg nagegaan door *Buckner* c.s. (71). Wanneer zij Mg-zouten toevoegden aan een niet rachitogeen dieet voor kuikens, dan bleken deze zouten in staat de Ca en P balans te verstoren. Hoewel wel verlamingsverschijnselen optraden, zagen zij toch geen typisch beeld van rachitis. Daar het aantal onderzoeken, dat op dit gebied bij kuikens verricht werd, nog zeer beperkt is, is het nog niet mogelijk een duidelijk inzicht te verkrijgen omtrent de rol, die het Mg bij de beenvorming van de kuikens speelt.

De invloed van het licht op rachitis.

Na de mededeelingen van *Mellaby* (90), die rachitis wist te voorkomen en te genezen door toevoegen van levertraan aan een rachitogeen dieet, waren het in 1921 *Hess* en *Unger* (40), die aantoonde, dat rachitis bij kinderen ook te genezen en te voorkomen is door bestraling met zonlicht. Het verband tusschen deze waarnemingen was eerst niet duidelijk, maar er kwam opheldering toen bleek, dat het werkzame bestanddeel der levertraan de ergosterine was, een stof, die door bestraling met ultraviolet licht omgezet kan worden in een product, dat in kleine hoeveelheden rachitis kan voorkomen en kan genezen.

Daar ergosterine ook in de huid van mensch en dier voorkomt, is bestraling met ultraviolet licht in staat deze stof om te zetten in het antirachitische product, waardoor rachitis kan worden voorkomen. Het feit, dat rachitis bij de mensch vooral optreedt in de periode van November tot Mei, houdt nauw verband met het in dat jaargetijde weinig blootgesteld zijn aan bestraling met zonlicht.

Ook bij die kuikens, die zeer vroeg in het voorjaar geboren worden en binnenshuis worden opgefokt, ziet men de meeste gevallen van rachitis.

Het was *Huldschinsky* (51) die bewees, dat ook bestraling met de hoogtezon in staat was rachitis te voorkomen en te genezen bij kinderen. Pas later werden deze resultaten bevestigd door dierproeven. Hierbij bleek het *Hess c. s.* (41), dat dieren met een gepigmenteerde huid minder invloed van de bestraling ondervonden, dan dieren met een ongepigmenteerde huid. Het bleek, dat alleen de ultraviolette stralen met de kortste golflengten antirachitisch werken, namelijk stralen met een golflengte van 310—295 $m\mu$. Zooals men weet, houdt gewoon vensterglas deze stralen tegen. Men heeft daarom wel gepropageerd, het gewone vensterglas te vervangen door glas, dat ultraviolette stralen wel doorlaat. Het bezwaar schijnt echter te zijn, dat dit glas op de duur minder doorlaatbaar wordt, terwijl bovendien het zonlicht bij bewolkte hemel slechts weinig antirachitische stralen bevat.

Ook bij kuikens heeft men de werking van het licht nagegaan. *Russell en Howard* (91) toonden aan, dat wanneer kuikens van 11 dagen oud gedurende één dag blootgesteld werden aan winterzonlicht, dat viel dóór ultraviolet doorlatend glas, het resultaat een vertraagd optreden der rachitis en een gunstig effect op de beenvorming was. Het blootstellen gedurende drie dagen had een langduziger nuttig effect op de beenvorming en een nog meer vertraagde rachitis ten gevolge. Door *Mayerson en Laurens* (69) werd het effect van het zonlicht te New Orleans bij het voorkomen van rachitis en het bevorderen van de groei bij kuikens nagegaan. Zij vonden, dat een dagelijksche bestraling van 2—5 min. met zonlicht en van 6—35 min. met licht (geen zon) voldoende was om normale groei en verkalking te krijgen. Kuikens onder ultraviolet-doorlatend glas gehouden, werden eveneens beschermd, waarbij de bestralingsduur afhankelijk was van het absorptievermogen van het glas.

Ook bestraling met verschillende lampen werkte gunstig; zoo beschrijven *Mussell en Ackerson* (75) een lamp, waarvan het licht rijk bleek te zijn aan ultraviolette stralen, terwijl *Miller c. s.* (74) een lamp onderzochten, die kuikens pas beschermt tegen rachitis bij een bestralingsduur van 7 uur bij een afstand van 40 cM.

Eigenschappen en bereiding van het vitamine D.

Over de aard van het vitamine D werd pas licht verkregen, toen men door chemisch onderzoek van levertraan het cholesterine vond, waarna door spectroscopisch onderzoek *Heilbron c. s.* (38) vast-

stelden, dat niet de cholesterine zelf de antirachitische eigenschappen heeft, maar een stof, die er nauw verwant mee is en er moeilijk van is te scheiden. Inderdaad vonden Rosenheim en Webster (89), dat het de ergosterine is, die door bestraling in een actieve stof is om te zetten, welke in kleine hoeveelheden rachitis kan voorkomen en kan genezen en die als het vitamine D beschouwd kan worden.

Door de bestraling met ultraviolet licht veranderen eenige eigenschappen van het ergosterine. Het draaiingsvermogen voor gepolariseerd licht verandert en ook ziet men een wijziging optreden in het absorptiespectrum. Door Pohl (84, 85) werd opgemerkt, dat bij bestraling met ultraviolet licht van ergosterine het voor ergosterine karakteristieke absorptie-spectrum verdwijnt, terwijl men de antirachitische waarde ziet te voorschijn komen. Hij wees op de mogelijkheid om op deze wijze het vitamine D aan te toonen. Echter bleek de door hem opgemerkte spectraalband bij 250—240 $m\mu$ pas na langdurige bestraling op te treden. Men heeft er nu een tijdlang bij de bestraling naar gestreefd zoo veel mogelijk van de nieuwe absorptieband te verkrijgen; echter uit de proeven van Heilbron c. s. (38) bleek, dat wanneer deze absorptieband optrad, de antirachitische waarde reeds sterk verminderd was, zooals door dierproeven werd vastgesteld.

Het zijn vooral Reerink en Van Wijk (87) geweest, die uitgebreide onderzoekingen hebben gedaan over de photochemische reactie van het ergosterine. Het bleek hun, dat er bij de bestraling een zeer samengestelde reactie plaats had, die echter onder bepaalde omstandigheden minder ingewikkeld kon verlopen. Bestraalden ze ergosterine zoodanig met licht, dat alleen de golflengten tusschen 300—280 $m\mu$ konden inwerken, terwijl goed geroerd werd en bij afwezigheid van zuurstof, dan werd het absorptiespectrum van het ergosterine, dat omgezet werd, vervangen door een zeer bepaald nieuw absorptiespectrum. Dit ging door tot $\pm 50\%$ omgezet was. De op deze wijze gevormde stof werd door hen stof L genoemd. Uit dierproeven van Everse (24, 25) bleek, dat het gehalte aan vitamine D direct evenredig was met de hoeveelheid van stof L, die op grond van het absorptiespectrum kon worden berekend. Bovendien gelukte het deze onderzoekers de stof L in gekristalliseerde vorm te krijgen. Het smeltpunt van de stof was 115—117° C., terwijl de verandering, die optrad in het draaiingsvermogen van gepolariseerd licht + 67° bedroeg. Op grond van de boven genoemde eigenschappen meenden zij deze stof L te mogen identificeeren met het vitamine D. De stof L bleek echter zeer gevoelig voor zuurstof te zijn; ze onderging zelfs in vacuum een spontane verandering en des te sneller naarmate de temperatuur hooger was. Daar de antirachitische werkzaamheid hierbij niet veranderde, was het hun niet mogelijk conclusies te trekken over eventueele onzuiverheden, die in de stof L zouden voorkomen.

Ook in Engeland in het National Institute for Medical Research onder leiding van Bourdillon (2, 3, 4) en in Duitschland onder

leiding van *Windaus* (125, 126) wordt sinds 1930 steeds gewerkt aan de bereiding van kristallijne vitamine D-preparaten. In 1931 gelukte het *Bourdillon* een preparaat te bereiden, dat herhaaldelijk omgekristalliseerd werd en zeer weinig gevoelig voor oxydatie was in tegenstelling met het product van *Reerink* en *van Wijk*. Zij noemden de verkregen stof: Calciferol. De antirachitische waarde was bijna tweemaal zoo groot als die van stof L.

Ongeveer ter zelfder tijd verkreeg *Windaus* (126) een product, dat een andere optische draaiing bezat dan het Calciferol en ook minder werkzaam was. Later gelukte het hem de gevonden stof te splitsen in een vit. D_1 en een vit. D_2 . Deze laatste stof bleek overeen te komen met het Calciferol. Het vit. D_1 zou een verbinding zijn van het Calciferol met een nog onbekende alcohol.

De meest voor de hand liggende verklaring voor de afwijkingen van het Hollandsche product (*Reerink* en *Van Wijk*) zou zijn, dat dit product nog een onzuiverheid bevat, waardoor ook de grootere gevoeligheid voor zuurstof zou veroorzaakt worden. *Reerink* en *Van Wijk* (88) meenen echter bewezen te hebben, dat dit onmogelijk het geval kan zijn. Hieruit volgt dus wel, dat het vraagstuk der zuivere vitamine D bereiding nog niet geheel is opgelost.

Door *Van Wijk* c. s. (127, 128) werden ook onderzoekingen verricht over de invloed van zonbestraling op ergosterine en het daarbij gevormde vitamine D. Zij vonden groote verschillen bij bestraling van de ergosterine, wanneer deze met zonlicht of met een hoogtezon bestraald werd. Bij zonbestraling werd het gevormde vitamine D weer zeer snel vernietigd en traden omzettingsproducten op. De verklaring voor deze verschillende verschijnselen is waarschijnlijk te vinden in de volkomen verschillende intensiteitsverdeling over de golflengten van de stralen der beide lichtbronnen. Daar de omzetting van het gevormde vitamine D bij zonbestraling zeer snel gaat, is het zonlicht dus voor de bereiding van vitamine D preparaten ongeschikt.

De gevaren van hypervitaminose.

Nadat het bestraalde ergosterine als antirachiticum bekend was geworden, zijn er een groot aantal onderzoekers geweest, die zich bezig hebben gehouden met de vraag of er een groot gevaar voor overdoseering bestond. In 1927 bewees *Pfannenstiel* (82) bij konijnen en in 1928 *Kreitmaier* en *Moll* (61) bij ratten, katten, konijnen, honden en cavia's, dat groote doses bestraalde ergosterine een doodelijke werking hebben. De symptomen waren gewichtsverlies, anorexie, ruige beharing en ten laatste cachectisch ten gronde gaan van de dieren, waarbij groote hoeveelheden kalkneerslagen vooral in de wand der groote bloedvaten werden gevonden, in sommige gevallen ook in nieren, maagwand, myocardium en in de longen. Door *Schmidtman* (96) werd nagegaan of die veranderingen ook weer herstelden na het

ophouden met het verstrekken der bestraalde ergosterine. Dit bleek niet het geval te zijn; ook na ophouden stierven de dieren ten slotte. Warkany (123) zag na herhaaldelijk geven van groote hoeveelheden bestraalde ergosterine een belangrijke verhooging van het P-gehalte van het bloedserum; hetzelfde werd ook waargenomen door Guest en Warkany (30) na het verstrekken van één groote dosis of na herhaaldelijk toedienen van kleine dagdoses.

Een andere vraag is, of de toxische werking berust op hypervitaminose of dat bij de bestraling toxische producten worden gevormd. Scheunert en Schieblich (95) deden proeven met verschillende handelspreparaten, zij bleken alle toxisch te zijn. Het bleek wel mogelijk producten te maken, waarbij de antirachitische werking verloren ging, terwijl de toxiciteit bestaan bleef, maar het omgekeerde is nooit gelukt. De meening van Holtz en Schreiber (48), dat de antirachitische en de toxische werkzaamheid het resultaat zijn van twee verschillende substanties, wordt weersproken door het feit, dat ook het Calciferol, hetwelk volgens de laatste opvattingen het zuivere vitamine D zou zijn, volgens de proeven van Askew c. s. (4) in groote doses toxisch werkt.

De tegenstrijdige uitkomsten van de proeven, die omtrent de toxiciteit van ergosterine preparaten verricht zijn, moeten vooral geweten worden aan de verschillende dieeten, die gebruikt worden. Rabl (86) wees er op, dat een dieet met een hoog Ca gehalte het snelle ontstaan der laesies bevordert. Dit wordt bevestigd door de proeven van Jones en Robson (55), die bij ratten geen toxisch effect kregen met een dieet met een laag Ca gehalte en door de proeven van Jones, Rapoport en Hodes (54), die geen toxisch effect kregen bij honden met een Ca-vrij dieet.

Dat er een belangrijke ruimte is tusschen de therapeutische en de toxische dosis, is ondanks de verschillen der hierover gepubliceerde cijfers wel vaststaand. Door Bills en Wirinck (13) is aangetoond, dat 1000 maal de therapeutische dosis nog onschadelijk is, zoodat de vrees, die men aanvankelijk had voor een spoedige overdoseering met bestraalde ergosterine ongegrond blijkt te zijn.

De kip schijnt nog belangrijk minder gevoelig te zijn dan de zoogdieren. King en Hall (56) onderzochten de pathologisch-anatomische veranderingen na overdoseering bij de kip. Het gelukte hun niet kalkafzettingen in de organen vast te stellen. Wel zagen zij veranderingen in het röntgenbeeld, namelijk abnormaal slanke beenen, die de indruk van zwakte geven en een abnormale snelle vereeniging van tarsus-metatarsus. Ook de klinische symptomen komen bij het kuiken overeen met die bij de zoogdieren: gewichtsverlies, anorexie, cachectisch worden en ten slotte sterven der dieren. Dat de hoeveelheden, die gegeven worden zeer groot moeten zijn, toonen de proeven van Branion en Smith (16), die na 150.000 tot 200.000 maal de prophylactische dosis nog geen duidelijke werking zagen bij kuikens.

Door Seifried en Heidegger (105) werden wel kalkafzettingen in de organen gevonden en wel de duidelijkste veranderingen in de vaten van de milt en de miltkapsel. Deze verkalkingen kwamen overeen met het beeld, dat men bij de zoogdieren vond.

Uit het bovenstaande volgt, dat ook bij de kip een overdoseering mogelijk is, doch dat de hoeveelheden zoo groot moeten zijn, dat een overdoseering in de praktijk nooit zal voorkomen.

RACHITIS BIJ HET KUIKEN.

De differentieel-diagnose van rachitis.

Daar er behalve de verlamming *) door gebrek aan vitamine D veroorzaakt bij kuikens een groot aantal verlammingen voorkomen, die een andere oorzaak hebben, is de diagnose rachitis door een eenvoudig klinisch onderzoek slechts in enkele gevallen met groote waarschijnlijkheid te stellen. Zoo ziet men verlammingen optreden bij een aantal aandoeningen van infectieuze of parasitaire aard. De diagnose hiervan is bijna altijd door een nauwkeurige sectie vast te stellen. Daarnaast komen verlammingen voor, die aan toevallige oorzaken moeten worden toegeschreven en die slechts een enkel dier in de koppel betreffen. Uit een differentieel-diagnostisch oogpunt zijn ook deze niet van groote beteekenis, maar wel zijn van belang die aandoeningen, die vooral beenderen en zenuwen betreffen, zonder dat er een infectieuze of parasitaire oorzaak kan worden vastgesteld.

De voornaamste aandoeningen, die onder deze laatste groep vallen, zijn behalve rachitis: polyneuritis, slipped tendon, ook wel genoemd enlarged hock of hock disease, range paralyse en perosis. **)

Klinisch zijn er tusschen deze verschillende aandoeningen slechts geringe verschillen op te merken.

Bij rachitis ziet men in het begin der ziekte een wat stijve gang en slechte beveering; de veeren liggen niet glad aangesloten maar staan meer op, waardoor de dieren een armoedige, onverzorgde indruk maken. Nemen de verschijnselen toe, dan bewegen de kuikens zich heel moeilijk; ze zitten meestal en wanneer ze zich voortbewegen, blijven ze daarbij veelal op de hak steunen. De beenderen zelf zijn daarbij vaak gebogen, verkort en gemakkelijk breekbaar, terwijl de teenen meestal sterk naar binnen gekruld zijn. Dit laatste symptoom blijft ook na herstel der rachitis vaak levenslang bestaan. De uiteinden der beenderen zijn verdikt en voelen vaak knobbelig aan, doordat er woekeringen op voorkomen. Als begeleidingsverschijnsel ziet men pijnlijke en achterblijven in groei.

*) Ik heb gemeend het woord verlamming overeenkomstig de gangbare terminologie te moeten gebruiken voor alle aandoeningen bij het kuiken, die gepaard gaan met onvermogen tot normaal staan of gaan. Bij verschillende aandoeningen is de benaming niet geheel juist en zou de naam beenzwakte de toestand beter weergeven.

**) Voor deze ziekten zijn mij geen Hollandsche benamingen bekend.

Ook bij polyneuritis treden de verlamningsverschijnselen op de voorgrond. Eerst treedt ataxie op, welke toeneemt, totdat tenslotte de dieren totaal verlamd zijn. Dikwijls bestaan hierbij spiercontracturen, waardoor de teenen gekromd worden. De oorzaak van deze ziekte is bekend geworden door de onderzoeken van E y k m a n en G r i j n s. Zij zagen de ziekte optreden na eenzijdige voeding met rijst, waarvan het zilvervlies verwijderd is.

Door Norris c.s. (79), Payne c.s. (81), Herner en Robinson (39) wordt een aandoening beschreven, die ook met verlamningsverschijnselen gepaard gaat, onder de naam van **slipped-tendon, enlarged-hock of hock-disease**. Zij zagen deze aandoening vooral optreden bij dieren, die zeer intensief gevoed werden, vooral bij een overmaat van Ca of P of van beide in het dieet. Bij deze ziekte treedt op een spontaan doorbuigen der beenderen naar binnen of naar buiten vanuit de verdikte hak, waarmee soms vergezeld gaat een afglijden der achillespees, terwijl de teenen naar buiten gekromd zijn. Vooral de snelst groeiende dieren worden aangetast; ze verliezen de controle over hun beenen en gaan op hun hakken rusten. Herstel kan geheel of gedeeltelijk optreden, waarna vaak een verlamming van één of beide onderbenen overblijft. De dieren kunnen daarbij op de hak lopen of ze rusten op het borstbeen met uitgespreide vleugels. De spieren zijn dan slap en de hak vertoont geen veranderingen meer. De aandoening berust meer op een anatomische, dan op een histologische verandering. De pees schijnt geen gelijke tred te kunnen houden met de groei van het been, waardoor hij uit zijn normale positie slijpt en het been krom trekt.

Een andere aandoening, die men in de literatuur beschreven vindt en die met verlamningsverschijnselen gepaard gaat, is de **range-paralyse**. Onder deze naam worden drie verschillende aandoeningen beschreven. In de eerste plaats een aandoening, die door coccidiën veroorzaakt wordt, in de tweede plaats een aandoening, die zijn oorzaak vindt in parasieten in het maagdarkanaal en in de derde plaats de echte „range paralyse” zoals die door Hall en King (33) beschreven wordt.

De eerste verschijnselen hierbij zijn de eerste dagen slechts een geringe ataxie, die echter spoedig toeneemt, zoodat de dieren na enkele dagen het been totaal niet meer kunnen gebruiken. Soms ook is het eerste symptoom alleen een geringe buiging van de beenderen. De spieren kunnen het been niet meer tot contractie brengen en het been wordt gefixeerd in een gestrekte stand. Beide beenen behoeven niet op even ernstige wijze aangedaan te zijn. Dikwijls worden de beenen ook lateraalwaarts gedraaid vanuit het spronggewicht. In dit geval rust het gewicht van het dier op het gezwollen en gedeeltelijk gedisloceerde spronggewicht.

Onder de naam perosis wordt door Titus (119) een met verlamningsverschijnselen gepaard gaande aandoening bij kuikens be-

schreven. Hierbij zijn de eerste verschijnselen een veelvuldig zitten en een iets verdikte hak. Na enkele dagen neemt de verdikking sterk toe en in de huid treedt een blauw-groene verkleuring op, blijkbaar veroorzaakt door bloedingen in het subcutane weefsel. In dit stadium spreekt men ook wel van „enlarged-hock” of „hock disease”. De ziekte begint gewoonlijk op een leeftijd van 4 tot 7 weken en herstelt vaak zonder dat er deformiteiten achterblijven. Nemen echter de verschijnselen toe, dan ziet men de verdikte hak en een buiging van metatarsus en tibia ontstaan, zoodat ten slotte een ernstige deformiteit optreedt. Dikwijls slijt het articulerende kraakbeen van het distale einde der tibia en dit is weer de oorzaak van het wegglijden van de pezen van de condylen. Men spreekt dan wel van „slipped tendon”.

Er zijn in de literatuur nog meer verlammingen bij kuikens beschreven, maar daar dit meestal op zich zelf staande gevallen betreft, waarvan vaak maar weinig gegevens bekend zijn, zijn deze niet van groot belang.

Een uitzondering hierop wordt gemaakt door een verlamming, welke door *Bethke c. s.* (10) beschreven is. Schrijvers zagen een moeilijk gebruiken van de beenen en vaak loopen op het spronggewricht, terwijl de teenen binnenwaarts gekruld zijn. In sommige gevallen is de huid van teenen en beenen ruw en droog. Geen verdikking van de sprong, geen buigen der beenderen of verplaatsing der achillespees was op te merken.

Daar uit het bovenstaande wel volgt, dat het klinische beeld van deze aandoeningen slechts zeer geringe verschillen vertoont, is het noodig, zijn toevlucht tot andere onderzoekingsmethoden te nemen, indien men met zekerheid de diagnose rachitis wil stellen.

In de eerste plaats komt hiervoor in aanmerking een chemisch onderzoek van het bloed en de beenderen der aangetaste dieren. Het bleek *Miller c. s.* (73), *v. d. Plank* (83), *Massengale* en *Nussmeier* (67, 68), *Holmes c. s.* (44, 55) en *St. John c. s.* (53), dat de chemische analyse van het beenweefsel bij rachitis een duidelijk verlaagd aschgehalte te zien geeft, terwijl de verhouding van Ca en P in het been normaal is. In het bloed vindt men bij rachitis van het kuiken een Ca gehalte, dat schommelt om het normale, terwijl het P gehalte bijna altijd verlaagd is. Deze waarden verschillen echter afhankelijk van het Ca en P gehalte in het voedsel. (*Massengale* 66; *Schechter* 93; *Russell c. s.* 90).

Het bleek ook, dat de fosphatase werking in rachitisch been verhoogd is. (*Schechter* 93; *Hall en King* 32).

Deze veranderingen zijn typisch voor rachitis; bij andere, met verlammingverschijnselen gepaard gaande, aandoeningen heeft men nooit een afwijking in de chemische samenstelling van bloed of beenweefsel kunnen aantoonen. Wat de fosphatase werking betreft, werd aangetoond, dat deze normaal is bij polyneuritis en bij range-paralyse, terwijl bij de andere genoemde verlammingen er geen onderzoek naar werd ingesteld.

Ook heeft men getracht door histologisch onderzoek verschillen tusschen de bovengenoemde aandoeningen vast te stellen.

Uit dit onderzoek is gebleken, dat ook bij rachitis van het kuiken, evenals bij zoogdieren, duidelijke veranderingen in het histologische beeld zijn waar te nemen, terwijl bij de andere aandoeningen nooit histologische veranderingen waren op te merken.

Men heeft ook een onderzoek ingesteld naar de röntgenologische veranderingen, die bij de verschillende verlammingen voorkomen. Het bleek, dat bij rachitis, range-paralyse en perosis duidelijke afwijkingen bestonden, terwijl bij de andere aandoeningen geen röntgenologische afwijkingen konden worden vastgesteld.

Zoo ziet men bij rachitis, dat de voor röntgenstralen doorlaatbare spleet van het kraakbeen tusschen tarsus-metatarsus zich sterk verbreedt, terwijl de lijn der verbeeningsszone zijn scherpe begrenzing verliest, onregelmatig wordt en totaal kan verdwijnen en de fijne netvormige bouw der kalkneerslagen in de diaphyse verloren gaat.

Bij range-paralyse geeft de röntgenfoto een duidelijke afwijking te zien, wat vorm en stand van het been betreft, daarentegen weinig structuurafwijkingen, namelijk een sublaxatie, een buiging en een rotatie van het been.

Bij perosis ziet men op de röntgenfoto, dat de kalk in de verbeeningsszone neergeslagen wordt als zware kalkneerslagen, zonder dat de fijne tekening te zien is, die men normaal vindt.

Het verschil, dat het duidelijkste bij de verschillende verlammingen op den voorgrond treedt, is gelegen in de aard van de stoffen, die in staat zijn, deze aandoeningen te voorkomen of te genezen.

Rachitis is te voorkomen en te genezen door het toedienen van vitamine D preparaten of door bestraling met zonlicht of hoogtezon. Polyneuritis, dat berust op een gebrek aan vitamine B, wordt genezen door toedienen van gist, rauw vleesch en tarwekiemen. Slipped-tendon is niet te genezen door het toedienen van vitamine D, maar is wel te voorkomen door toevoegen aan het dieet van gist, ook wanneer deze in een autoclave hoog verhit is geworden, waardoor het vitamine B vernietigd is. De ziekte kan ook voorkomen worden door toevoegen van 10 % ondermelk aan het dieet. Bij range-paralyse is het nooit gelukt eenige invloed van de voeding op het ontstaan van de ziekte aan te toonen. Er is ook geen therapeuticum voor bekend. Titus zag bij perosis, dat de ziekte kon worden voorkomen door toevoegen van rijstzemelen aan het dieet, terwijl B e t h k e c. s. bij de verlamming, die door hen beschreven wordt, herstel zagen optreden, door toevoegen van gist of melk.

Uit het bovenstaande overzicht, dat in het kort een indruk geeft van de meest voorkomende verlammingen bij kuikens, volgt wel, dat wil men de diagnose rachitis bij het kuiken stellen, men niet volstaan kan met een eenvoudig klinisch onderzoek.

In de onderstaande tabel wordt een overzicht gegeven van de beschreven verlammingen bij kuikens.

	rachitis	poly- neuritis	slipped- tendon	range- paralyse	perosis	paralyse v. Bethke c.s.
Aschgehalte	verlaagd	normaal	normaal	normaal	normaal	normaal
Ca gehalte van het bloed	wisselend	"	"	"	"	"
P gehalte van het bloed	verlaagd	"	"	"	"	"
Phosphatase werking	verhoogd	"	onbekend	"	onbekend	onbekend
Histologisch	afwijk.	"	normaal	"	normaal	normaal
Röntgenfoto	"	"	"	afwijk.	afwijk.	onbekend
Buiging van het been	iets gebogen	gebogen	sterk gebogen	gebogen + rotatie	sterk gebogen	niet gebogen
Prophylactisch Therapeutisch	vit. D.	gist vleesch tarwekiem.	melk gist	onbekend	rijst- zemelen	melk gist

De hoeveelheid Ca en P in het voedsel, die noodig is voor een normale beenontwikkeling bij het kuiken.

Uit de uitgebreide onderzoekingen van Wilgus (124) blijkt, dat een hoeveelheid van 0,67 % Ca en van 0,5 % P in het voedsel voldoende zijn om een normale beengroei tot stand te brengen. De hoeveelheid P mag zelfs nog wel minder zijn dan 0,5 %. In de praktijk zijn de hoeveelheden, die in de gebruikelijke rantsoenen voorkomen echter veel groter. Grootere hoeveelheden Ca en P zijn niet schadelijk.

Deze minimum hoeveelheden gelden alleen, wanneer er een optimale hoeveelheid van de antirachitische factor aanwezig is.

Door Holmes en Pigott (45) werden proeven genomen om de invloed na te gaan van levertraan op de groei en beenvorming van jonge kuikens, als Ca gegeven werd uit verschillende bronnen, in verschillende hoeveelheden en in verschillende verhoudingen tot P. De beste resultaten werden verkregen in groepen, die levertraan kregen als toevoegsel aan rantsoenen met 1-4 % Ca en een verhouding van Ca : P = 1,5 : 1. Hetzelfde bleek ook uit het chemisch en histologisch onderzoek van de tibiae van deze dieren.

Door Tully c. s. (121, 122) werd nagegaan, welke stoffen de voorkeur verdienen als bronnen van Ca en P. Het bleek hun, dat oesterschelpen en beendermeel of krijt en beendermeel te verkiezen zijn.

De mogelijkheid om rachitis te voorkomen door een juiste mineraal-balans was reeds lang bekend bij de rat. Sherman en Pappenheimer (108) hadden aangetoond, dat geringe wijzigingen in de Ca en P verhouding van het voedsel van ratten, rachitis kan veroorzaken of kan voorkomen. Uit proeven van Tully c. s. (122) volgt, dat rachitis bij het kuiken niet geheel voorkomen kan worden door een evenwichtige mineralen-balans. Hieruit blijkt wel, dat de minerale stofwisseling van deze twee diersoorten verschillend is. De benodigde hoeveelheid Ca is voor het kuiken ook belangrijk hoger dan voor de rat. Het bleek hun echter wel, dat bij een bepaalde Ca en P verhouding een gebrek aan vitamine D belangrijk minder ernstige gevolgen had.

De meest gunstige Ca en P verhouding voor het kuiken.

Gaat men de literatuur over dit onderwerp na, dan blijken de meeningen hierover wel heel sterk verdeeld. De verhouding van Ca en P in het voedsel is het meest gunstig, wanneer daarbij voldoende groei en normale beenvorming optreden, waarbij dus Ca en P in een normale hoeveelheid in het bloedserum en in het been aanwezig zijn.

Bethke c. s. (9) vonden in 1929 als optimum-verhouding van Ca en P voor het groeiende kuiken een verhouding van 3 : 1 en 4 : 1. De vatbaarheid voor rachitis zou dan minimaal zijn.

Holmes en Pigott (45) gingen de invloed na van levertraan op de Ca huishouding van jonge kuikens. Steeds vonden zij het Ca het best benut in groepen, die levertraan kregen bij een lage Ca : P verhouding.

Ook Wilgus (124) deed proeven, waaruit bleek, dat de dieren zich normaal ontwikkelden, als een antirachitische factor in optimale hoeveelheid aanwezig was, bij een verhouding van Ca : P variërend tusschen 1 : 1 en 2,2 : 1. Een verhouding van 2,5 : 1 gaf twijfelachtige resultaten, terwijl een verhouding van 3,3 : 1 voor de dieren uiterst ongunstig was.

Tully c. s. (122) deden in 1931 proeven over de hoeveelheid Ca en P, die voor groeiende kuikens nodig is. De mineralen in hun dieet werden gevormd door zoutmengsels, waarin de Ca en P verhouding gevarieerd werd. Met dit voedsel werd echter geen voldoende groei verkregen, daarom vervingen zij deze mengsels door natuurlijke mineralen. De beste resultaten werden door hun verkregen met oesterschelpen en beendermeel of kalk en beendermeel als bronnen van Ca en P bij een verhouding van Ca : P = 3,33 : 1.

Massengale (66) beschreef in 1929, dat kuikens op een rachitogeen dieet met laag Ca gehalte en hoog P gehalte eerder beenzwakte vertoonden, dan wanneer een dieet met laag P gehalte en hoog

Ca gehalte werd gegeven. Als levertraan toevoegd werd aan een rachitogeen dieet voor rachitische kuikens, dan steeg de Ca hoeveelheid in het bloedserum, onverschillig de verhouding van Ca en P in het voedsel. Voegde men levertraan toe aan een rachitogeen dieet, waarin de P hoeveelheid ongeveer 3 maal de Ca hoeveelheid was, dan ging dat vergezeld met een lager gehalte aan anorganisch P in het bloedserum. Gaf men levertraan bij een rachitogeen dieet, waarin de Ca hoeveelheid groter was dan de P hoeveelheid, dan trad een stijging op van het gehalte aan anorganisch P in het serum.

Massengale en Nussmeier (67) gingen na de veranderingen, die optraden in het Ca en P gehalte in het bloedserum bij een rachitogeen dieet, waarvan de Ca en P verhouding varieerde van 8 : 1 tot 1,6 : 1. Uit hun proeven bleek, dat bij een Ca : P verhouding van 8 : 1 en in iets mindere mate bij 5 : 1, het Ca gehalte van het bloedserum boven het normale blijft, terwijl het P gehalte een flinke daling ondergaat. Toevoegen van bestraalde ergosterine maakte het Ca en P gehalte bijna normaal. Wanneer de bestraalde ergosterine werd gevoerd aan kuikens op een rachitogeen dieet, rijk aan Ca, dan waren de veranderingen reeds binnen 48 uur zichtbaar.

Het Ca en P gehalte van het bloedserum van kuikens van 18 weken, bleef bijna normaal als ze een rachitogeen dieet kregen met een Ca : P verhouding van 1,6 : 1. De toevoeging van bestraalde ergosterine had geen effect, tot na 15—35 dagen een stijging van het Ca gehalte van het serum optrad. Kregen de dieren een dieet met een laag Ca en P gehalte, dan daalde zowel het Ca als het P gehalte in het serum. Na toevoegen van bestraalde ergosterine was er een duidelijke stijging in het serum van Ca, maar slechts een langzame stijging van P. Na 35 dagen was het Ca bijna normaal, maar het anorganisch P gehalte bleef subnormaal.

Titusc. s. (110) deden in 1933 proeven om het effect na te gaan van CaCO_3 en CaSO_4 op de beenontwikkeling. Zij gebruikten een Ca : P verhouding van 3,5 : 1 en van 5,7 : 1. Bij het rantsoen der eene serie werd gevoegd CaCO_3 en bij dat der andere CaSO_4 . De Ca hoeveelheid varieerde van 2,7 tot 3%. Zij vonden, dat als de Ca : P verhouding steeg, het gemiddelde aschgehalte van de femur en tibia der kuikens, die CaCO_3 kregen, lager werd, echter bij de dieren, die CaSO_4 kregen, iets steeg. Zij verklaren dit als volgt: de CaCO_3 in het dieet van de eene groep zou in staat zijn het zuur in de kliermaag te neutraliseeren, terwijl de CaSO_4 in de andere serie dat niet zal doen. Verder wijzen de schrijvers er op, dat de zuur-base balans der rantsoenen in de eerste serie meer basisch is, dan in de tweede. Dit beteekent, dat in het eerste geval de bevrijding van een overmaat van geabsorbeerde Ca een grooter verlies van zuurbestanddeelen (phosphorus) van het organisme zal vergen, dan in het tweede, waardoor in het eerste geval minder P beschikbaar is voor de beenvorming.

Gaat men de bovenstaande literatuur-gegevens na, dan ziet men twee groepen tegenover elkaar staan. Aan de eene kant B e t h k e c. s.

(9) en Tully c. s. (122) met een Ca : P verhouding van 3 : 1 als de gunstigste en daartegenover Holmes c. s. (45), Wilgus (124) en Massengale (66), die de beste resultaten kregen met een Ca : P verhouding van 1,5 : 1. Uit deze verschillende uitkomsten blijkt wel, dat de Ca : P verhouding niet de eenige factor is, die invloed op de groei en beenvorming van jonge kuikens heeft. Titus (120) wijst er ook op, dat er geen Ca : P verhouding is, welke optimaal is voor alle rantsoenen der groeiende kuikens en dat er zeker vier factoren zijn, die van invloed zijn op de beenontwikkeling namelijk de Ca : P verhouding, de Ca en P hoeveelheid, de hoeveelheid vitamine D en de zuurbase-balans van het dieet.

HET STANDAARDISEEREN VAN VITAMINE D PREPARATEN.

Na de ontdekking van het bestraalde ergosterine als antirachiticum werden een groot aantal preparaten in de handel gebracht, waarvan de werkzaamheid zeer verschillend was. Daardoor is er een behoefte ontstaan aan een eenvoudige, betrouwbare standaardisatiemethode.

De methoden, die hiervoor in aanmerking komen, kunnen verdeeld worden in: chemische methoden, fysische methoden en biologische methoden.

1e. Chemische methoden.

In de literatuur der laatste jaren komt men geregeld mededeelingen tegen van onderzoekers, die meenen een specifieke reactie op het vitamine D gevonden te hebben. Wanneer men bedenkt, dat een dergelijke reactie het geheele biologische onderzoek overbodig zou maken, kan men zich voorstellen, dat steeds weer een groot aantal onderzoekers contrôle-proeven na dergelijke publicaties hebben verricht. Tot nu toe bleken deze proeven steeds negatief te verlopen.

In 1925 beschreven Shear en Kramer (107), dat olie, waarin bestraalde ergosterine is opgelost, na koken met zoutzure aniline een roode kleur geeft, wanneer een overmaat van aniline aanwezig is. Uit de proeven van Sexton (106) bleek echter, dat deze reactie niet specifiek is, maar ook positief uitvalt bij een aantal onverzadigde ketonen. Men heeft daarom wel gedacht, dat bij de bestraling van ergosterine een keton gevormd wordt, dat dan het vitamine D zou zijn, het is echter ook wel mogelijk, dat het niet het vitamine D zelf is, dat de reactie geeft, maar een bijproduct. Hoogstens zou deze reactie eenige waarde kunnen hebben bij de beoordeeling van de mate van omzetting van een ergosterine preparaat; er moet dan echter een samengaan zijn van het toenemen der kleur en het toenemen der antirachitische werkzaamheid. Deze overeenkomst blijkt volgens de onderzoekingen van Koch c. s. (57) niet te bestaan.

Sexton (106) vermeldt verder nog, dat ook de door Bezsonoff aangegeven reactie met phosphormolybdeenwolframaanzuur, welke reactie hij aangeeft voor levertraan, met bestraalde ergosterine preparaten negatief uitvalt.

In 1928 geeft Stoeltzner (117) een reactie aan, welke volgens hem specifiek is voor het vitamine D. Na toevoegen van phosphor-pentaoxyde ziet men spoedig een, van het phosphor-pentaoxyde uitgaande, roodbruine verkleuring optreden, die voortdurend donkerder en op het laatst bijna zwart wordt. Door Forschner en Hottinger (28) werden ter controle uitgebreide proeven verricht. Het blijkt, dat deze reactie positief uitvalt voor de meeste gecompliceerd-gebouwde organische lichamen, zooals eiwitten, koolhydraten, organische zuren enz., dus allermint specifiek voor het vitamine D is.

Reerink cs. (88) wijzen er op, dat de eenige chemische reactie, die toepassing in de practijk vindt, een indirecte reactie is en wel de reactie op vitamine A. Met deze reactie, die voor levertraan gebruikt wordt, bepaalt men het vitamine A gehalte en berekent daaruit het gehalte aan vitamine D, waarbij aangenomen wordt, dat in levertraan vitamine A en D in constante verhouding voorkomen. Deze reactie is bekend als de reactie van Carr en Price. Zij berust op het feit, dat vitamine A-houdende stoffen met een oplossing van Sb_2Cl_3 een voorbijgaande blauwe kleur geven. De blauwe kleur wordt bepaald door een tweetal absorptiebanden in het spectrum. Deze twee banden ontstaan echter niet door de reactie van het Sb_2Cl_3 met één chromogeen, hetgeen daaruit blijkt, dat zij niet in een constante verhouding optreden. Vooral de eene band wordt door allerlei uitwendige omstandigheden sterk beïnvloed, zooals door de ouderdom van de traan, terwijl de andere daarvoor vrij ongevoelig is. Daar de intensiteit der in de colorimeter waargenomen blauwe kleur natuurlijk afhangt van de relatieve intensiteit van de twee banden, is het duidelijk, dat zij niet een volkomen betrouwbare maat voor het vitamine A gehalte kan zijn. Uit dierproeven is gebleken, dat hier fouten van 200—300 % mogelijk zijn. Toch kan men zich op deze wijze enigszins oriënteren omtrent de vitamine A-waarde van de traan. Om deze waarde nu echter te gaan gebruiken als basis voor de vitamine D berekening lijkt niet wenschelijk, waarbovendien uit proeven gebleken is, dat de verhouding van vitamine A en D in levertraan lang niet altijd constant is. Op grond van deze gegevens, de niet zeer nauwkeurige bepaling van het vitamine A gehalte en de onzekerheid in de verhouding van vitamine A en vitamine D, mag men wel concludeeren, dat men aan een, op deze wijze bepaalde hoeveelheid vitamine D zeker geen al te groote waarde mag toekennen. Bovendien is deze methode alleen voor levertraan toe te passen.

Uit het bovenstaande volgt wel, dat er tot nu toe geen enkele, meer of minder gemakkelijk uit te voeren chemische reactie bestaat om het vitamine D aan te toonen. Wanneer het gelukt de stof chemisch zuiver te bereiden en de specifieke eigenschappen te leeren kennen, is

het echter mogelijk, dat een betrouwbare quantitative methode gevonden wordt, indien de uiterst geringe concentraties, waarin deze stof in de natuurlijke voortbrengsels voorkomt, daartegen geen beletsel vormt.

2e. Physische methoden.

Uit het verslag over de chemische methoden volgt direct al, dat de bepaling der hoeveelheid vitaminen in de natuurlijke bronnen niet eenvoudig is, doordat naast het vitamine zooveel andere stoffen voorkomen met nog onbekende physische en chemische eigenschappen, terwijl het vitamine zelf maar in een zeer kleine hoeveelheid aanwezig is. Eenvoudiger worden de methoden bij de kunstmatig bereide producten, hoewel ook in de, op deze wijze bereide handelsproducten de concentratie zoo gering is, dat men niet spoedig een gemakkelijke physische of chemische methode zal vinden om de waarde te bepalen. De contrôle op de vitamine D vorming is beter mogelijk bij de bereiding der vitamine-producten. Men heeft daartoe de omzetting van ergosterine in vitamine D trachten te bestudeeren.

Door Reerink, v. Wijk en v. Niekerk (88) is de laatste jaren steeds gezocht naar een quantitative vitamine D bepaling op grond van absorptie-metingen van oplossingen, die uitsluitend of hoofdzakelijk ergosterine en zijn bestralingsproducten als absorbeerende stoffen bevatten. Door het feit, dat deze lichamen in het zichtbare gebied geen absorptie hebben, kunnen dit geen gewone colorimetrische bepalingen zijn, maar moet men, voor het ultraviolette spectraalgebied uitgewerkte spectrometrische methoden gebruiken. Het bleek hun, dat de omzetting heel ingewikkeld is; er ontstaat meer dan één lichaam, waarvan er maar een het vitamine D is, terwijl de andere geen antirachitische werkzaamheid bezitten. Door voortgezette bestraling wordt het vitamine D echter ook weer omgezet in een onwerkzaam product. Reeds Pohl (84, 85) in 1926 nam waar, dat door een bestraling van bepaalde duur het absorptiespectrum van ergosterine plaats maakt voor een ander absorptiespectrum en hij meende, dat dit het spectrum van het vitamine D was. Hij vond, dat de maximum absorptie van het nu verkregen product bij 240—250 m μ lag. Bij zeer langdurig bestralen verdween deze band. Zijn proeven werden echter niet door hem op dieren gecontroleerd. Door Bills c. s. (12) werd de antirachitische waarde van een aantal preparaten, waarvan het absorptie-spectrum bekend was, op dieren bepaald. Het bleek hun, dat eerst bij langdurig bestralen de absorptieband bij 240—250 m μ optreedt. De antirachitische werkzaamheid is dan al sterk verminderd. De onderzoekingen van Reerink en Van Wijk (88) toonden aan, dat om de vorming van het vitamine D spectroscopisch te vervolgen, de oplossingen zuurstofvrij moeten zijn en dat tevens krachtig geroerd moet worden. Het bleek, dat de veranderingen niet dezelfde waren, wanneer voor de

bestraling lichtbronnen met verschillende intensiteitsverdeling over de golflengten gebruikt werden. Zij vonden twee golflengtegebieden, die voor de bestraling van groot belang waren, namelijk een gebied van 300—284 m μ en een golflengte van 254 m μ .

Bij een niet te langdurig bestralen met het langgolelige ultraviolette licht zijn de nieuwe absorptiespectra onafhankelijk van de hoeveelheid omgezette stof. Bij langere bestraling verandert de ontstane absorptie met de duur der bestraling, zoodat dan de eerstgevormde stof, stof L genaamd, zich blijkt om te zetten.

Bij bestraling met het kortgolelige ultraviolette licht zijn van een bepaalde tijd af de nieuw gevormde absorptiekrommen wat hun vorm betreft onafhankelijk van de duur der bestraling, mits deze niet te lang is. De maat der absorptie, dat wil zeggen de concentratie der absorbeerende stof neemt echter wel met de tijd af, zoodat men moet aannemen, dat de absorbeerende stof door bestraling omgezet wordt in een niet-absorbeerende stof. Gedurende de beginperiode der bestraling met dit kortgolelige licht ontstaan nieuwe absorptiespectra, die zeer snel en zeer sterk veranderen, zoodat dan verschillende stoffen in wisselende hoeveelheden aanwezig moeten zijn. Het tweede stadium treedt pas in, als circa 90 % van de ergosterine omgezet is en de stof, die dan ontstaat, wordt stof S genoemd.

Uit deze gegevens volgt, dat stof L aldus zuiver te verkrijgen is, stof S echter niet, daar deze stof steeds met bijproducten gemengd zal zijn.

Uit de dierproef bleek het vitamine D gehalte recht evenredig te zijn met de hoeveelheid van stof L. Wanneer dit nu ook geldt in andere gevallen, b.v. bij bestraling met andere golflengten, als de reactie niet zoo eenvoudig verloopt, zoodat er verschillende stoffen met verschillende absorptiespectra uit het ergosterine ontstaan, dan kan, wanneer de analyse der spectra gelukt, een antirachitische werkzaamheid berekend worden, die met de dierproeven bevredigend overeenstemt.

Het lag nu voor de hand deze methode te gebruiken voor een physische bepaling van het vitamine D. Men kan nu het absorptiespectrum en daardoor de stof L quantitatief bepalen. In de proeven van R e e r i n k c. s. (88) gaf deze bepaling steeds betrouwbare uitkomsten, echter is het toepassingsgebied beperkt tot de aangegeven wijze van bestralen en de spectra moeten onmiddellijk na de bestraling gemeten worden.

Uit de onderzoekingen van Bourdillon (4) en Windaus (126) blijkt, dat de stof L ook niet gelijk gesteld mag worden met het vitamine D, daar het hun gelukt is een preparaat te bereiden, dat bijna tweemaal zoo sterk antirachitisch werkzaam is, als de stof L.

Uit het bovenstaande volgt, dat er voor de gewone handelspreparaten geen eenvoudige physische methode bestaat om het gehalte aan vitamine D te bepalen.

3e. Biologische methoden.

Door het ontbreken van chemische en physische methoden, die in de practijk voldoen, heeft men noodgedwongen zijn toevlucht moeten nemen tot de biologische methoden, ondanks de vele moeilijkheden en fouten, die aan deze methoden verbonden zijn.

De biologische methoden berusten op het feit, dat het onder bepaalde omstandigheden gelukt rachitis experimenteel te verwekken. Er staan nu twee wegen open voor het standaardiseeren van vitamine D preparaten en wel in de eerste plaats de **prophylactische methode**. Hierbij voegt men bij het dieet, dat zonder toevoegingen rachitis tengevolge heeft, verschillende hoeveelheden van het te onderzoeken preparaat en gaat dan na hoe de ontwikkeling van het skelet zich voltrekt. In de tweede plaats kan de **therapeutische methode** worden toegepast. Hierbij worden de dieren eerst met een bepaald dieet rachitisch gemaakt, daarna worden bepaalde hoeveelheden van een preparaat aan dit dieet toegevoegd onder overigens gelijke omstandigheden en wordt nagegaan of genezing der rachitis optreedt. Beide methoden hebben vele aanhangers, o.a. Scheunert en Schieblich (94), Holtz c.s. (49), Schultz (99); Adams en Mc Collum (1), Everse (24).

Het voordeel der prophylactische methode is het snellere verloop der proeven; men is niet gedwongen enkele weken te wachten voor de dieren duidelijke rachitische verschijnselen vertoonen, maar men kan direct met zijn proeven beginnen. Een nadeel van deze methode is, dat het somtijds niet gelukt om bij alle contrôle-dieren, de voor rachitis karakteristieke verschijnselen teweeg te brengen, waardoor de resultaten van dergelijke proeven minder waarde hebben.

Bij de therapeutische methode heeft men het voordeel, dat men van dieren uitgaat, die alle duidelijke afwijkingen vertoonen. Een bezwaar van deze methode is, dat men af en toe onder de contrôle-dieren gevallen van spontaan herstel ziet optreden.

De curatieve methode is in ons land beschreven en toegepast door Everse (24, 25). Door hem werden de kalkneerslagen, die onder invloed van het vitamine D in de proximale metaphyse der tibia van rachitische ratten optraden in 7 graden onderscheiden. Volgens Adams en Mc Collum (1) zou er echter geen verband bestaan tusschen de mate van verkalking en de toegediende dosis. Everse vond echter wel, dat verschillende doses van een preparaat, ook verschillende graden van genezing ten gevolge hadden.

Ook door Bourdillon c.s. (15) werd voor hun proeven de curatieve methode gebruikt, waarbij gebruik gemaakt werd van een schaal van 13 graden van genezing, waarmee de röntgenfoto's vergeleken werden.

Door Schultz (100) werd gewezen op de fouten, die zoowel met de prophylactische als met de therapeutische methode gemaakt worden. Hij onderscheidt twee typen ratten, met en zonder rachitis

aanleg. Bij normale dieren is er na 8 weken nog een epiphysairspleet. Alle proeven, die een gesloten spleet te zien geven, geven dus een pathologische toestand weer. Uit zijn proeven blijkt verder, dat er geen geleidelijke genezing optreedt, maar een plotseling neerslag. Hetzelfde treedt op bij de prophylactische proeven, hier eerst onder invloed van het dieet ook woekering en demineralisatie en dan plotseling een kalkneerslag, dat geleidelijk versmelt. De prophylactische proeven zijn dus eigenlijk therapeutische proeven.

Uit het bovenstaande volgt, dat zowel de prophylactische, als de curatieve methode voor- en nadeelen hebben en dat bij beide methoden gemakkelijk fouten gemaakt kunnen worden door de niet-eenvoudige techniek. Bovendien moet men rekening houden met de individucele verschillen, zowel van het proefdier als van de beoordeelaar.

De wijze van beoordeeling.

Voor het beoordeelen, of bij standaardisatieproeven rachitis is voorkomen respectievelijk genezen, bestaan verschillende methoden.

De meest gebruikte methoden zijn:

- a. Bepaling van de Ca en P waarde van de beenderen.
- b. Line-test methode.
- c. Histologische methode.
- d. Röntgenologische methode.
- e. Enkele minder belangrijke methoden: bepaling van de Ca en P waarde van het bloed, PH waarde der faeces, enz.

a. De bepaling van de Ca en P waarde der beenderen.

Het was Bethke c. s. (8) gebleken, dat dieren, die op een rachitogeen dieet rachitisch gemaakt werden, een belangrijk lager aschgehalte der beenderen hadden dan normale dieren. Verschillende onderzoekers o.a. Sherman en Stiebeling (109) hebben getracht door middel van het aschgehalte of het Ca gehalte van het been de diagnose rachitis te maken. Adams en McCollum (1), die deze methode nader onderzochten, vonden dat het niet mogelijk was de antirachitische waarde van levertraan te bepalen op deze wijze, slechts groote verschillen waren aan te toonen. De resultaten, door hen verkregen hadden slechts relatieve waarde, zij achtten het niet mogelijk op deze wijze het aantal eenheden per gewicht aan te geven.

Een ander bezwaar tegen deze methode, die overigens in de literatuur zeer vaak vermeld wordt is, dat de resultaten der verschillende onderzoekers niet vergelijkbaar zijn, daar door de onderzoekers een verschillende wijze van werken werd gevolgd. De een bewaart de beenderen in alcohol, de ander droogt ze. De temperatuur van drogen varieert van 60—115° C. Sommigen verwijderen de kraakbeenkap van het been, anderen doen dit niet. Sommigen gebruiken alcohol om te extraheeren, anderen aether of een combinatie van alcohol en aether.

De tijd van de extractie verschilt van 12-72 uur. Ook de temperatuur van verassen verschilt belangrijk.

Uit deze gegevens volgt wel, dat indien men vergelijkbare resultaten wil verkrijgen, het zeker noodig zal zijn een standaardmethode te gebruiken. Door *St. John c. s.* (53) en door *Bethke en Record* (11) wordt een dergelijke methode besproken. Uit hun proeven bleek, dat het percentage beenasch in het distale en proximale kraakbeen belangrijk verschilt met dat van de tibia zelf. Het percentage asch in de beenschors is hooger dan dat van de geheele tibia. Er bleken grootere verschillen te bestaan tusschen het aschgehalte van het kraakbeen, dan tusschen het aschgehalte der geheele tibia van normale en rachitische kuikens. Hieruit volgt, dat het aanbeveling zou verdienen voor het standaardiseeren van vitamine D preparaten het aschgehalte van het kraakbeen als criterium te nemen.

Uit de proeven van *Miller c. s.* (73) blijkt, dat er verschillen kunnen bestaan tusschen de uitkomsten der beenaschbepaling en de uitkomsten der line-test methode.

Een ander bezwaar, dat zich bij kuikens voordoet, is de invloed van het geslacht op de Ca en P hoeveelheid in het been. Hierover werden proeven genomen door *Holmes c. s.* (46) en *Schroeder* (98), waaruit bleek, dat de tibia van mannelijke kuikens langer en zwaarder was en een groter diameter had, dan de tibia van er mee overeenkomende vrouwelijke kuikens; op een leeftijd van 3 weken was het asch-, Ca- en P-gehalte van de tibia der hanen iets hooger dan dat der hennen, op 6 weken was het asch-, Ca- en P-gehalte van de tibia der hennen belangrijk grooter, terwijl met 9 weken dit verschil nog duidelijker was geworden. Men heeft dit wel in verband gebracht met toekomstige productie-eischen.

Een nadeel van deze methode is verder nog, dat men zijn proefdieren moet doden, waardoor men slechts de toestand op een bepaald oogenblik vastlegt. Wil men het verloop van een proces nagaan, dan moet het aantal dieren per groep zoo groot zijn, dat men op bepaalde tijden eenige, voor de groep typische dieren moet kunnen opofferen.

b. Line-test methode.

Deze methode is het eerst gebruikt door *McCollum c. s.* (19) om de kalkafzetting, die eventueel in de pathologische metaphyse van de beenderen van hun proefdieren aanwezig was, duidelijk zichtbaar te maken. Zij kleuren daartoe hun preparaten volgens de methode van *Kossa* met zilvernitraat. Men kleurt op deze wijze alleen de phosphaten zwart, daar echter het Ca in het been grootendeels als fosphaat aanwezig is, kan men zoo een duidelijk indruk krijgen van de kalkafzettingen. Als verbetering van deze methode geeft *Van Leersum* (63) aan, niet het been in de lengterichting te splijten en daarna te kleuren, maar met het bevriezingsmicrotoom van de kop van het been eenige coupes te maken en die na behandeling met zilvernitraat met de

oplossingen van Van Gieson en Delafield te kleuren. Op deze wijze zou het volgens hem mogelijk zijn reeds het eerste begin van genezing vast te stellen. Het begin van herstel der verkalking onder invloed van het vitamine D kan men op deze wijze reeds na enkele dagen zien, als een zwarte streep van kalkzouten op de grens van het kraakbeen en het kalklooze osteoid. Deze streep wordt bij voortschrijdend herstel breder en gaat de metaphyse bijkans geheel vullen. Ook op de röntgenfoto krijgt men die streep te zien, echter zijn kleine verschillen hierop niet vast te stellen, daar een geringe verschuiving van het been ten opzichte van het focus der buis de breedte der onverkalkte spleten reeds doet veranderen.

Het voordeel van deze methode is dus haar groote gevoeligheid.

Een bezwaar, dat ook voor deze methode geldt, evenals voor de bepaling van het Ca en P gehalte van het been, is, dat men ook hierbij zijn proefdieren moet doden. Bovendien is men nooit zeker, dat er bij het begin der proef geen kalkafzetsels aanwezig waren. Daarom raadde Van Leersum (63) aan, bij het begin der proef een der achterbeenen van de rat te amputeeren. Men krijgt hierdoor natuurlijk dubbel werk, maar bovendien is de ingreep voor de dieren zoo groot, dat men ze met reden niet meer als normale dieren kan beschouwen.

Een ander nadeel van de line-test methode is, dat ze zeer tijdroovend is en de preparaten niet gemakkelijk te bewaren zijn.

Door Mc Collum c. s. (19) werd met deze methode de graad van genezing bepaald, al naar het beeld, dat de lijn te zien gaf. Zij spreken van een positieve line-test, wanneer een bandvormige afzetting van calciumphosphaat is ontstaan, die na de kleuring als een aaneengesloten zwarte lijn zichtbaar is. De Amerikaanse Pharmacopee noemt een resultaat van een dierproef positief, wanneer tengevolge van het toedienen van een antirachitisch preparaat, de kalkafzetting in de metaphyse van het line-test preparaat, tenminste als een „narrow continuous line” zichtbaar is. (63)

In hoeverre deze methode ook voor kuikens toe te passen is, vindt men in de literatuur niet vermeld. Daar echter de beenontwikkeling van het kuiken groote verschillen vertoont in vergelijking met de beenontwikkeling van de zoogdieren, zal het noodig zijn, dat eerst een onderzoek daarnaar wordt ingesteld.

c. De histologische methode.

Deze methode berust op het feit, dat het mogelijk is door het aantoonen van de veranderingen, die in het histologische beeld optreden, de diagnose rachitis te stellen. Door Marek en Weilmann (65) zijn deze veranderingen voor de zoogdieren uitvoerig beschreven. Voor kuikens vindt men in de literatuur hierover geen goede gegevens.

Door de zeer tijdroovende en de moeilijke techniek, die het maken van goede histologisch beenpreparaten vergt, is deze methode echter ongeschikt voor het standaardiseeren van preparaten, waarbij men

zoo snel mogelijk de resultaten wil zien van een zoo groot mogelijk materiaal.

Een ander bezwaar bij deze methode is, evenals bij de line-test methode, het moeten doden der dieren en daardoor slechts een vastleggen van de toestand op één bepaald moment.

d. De röntgenologische methode.

Reeds Mellaby (71) maakte in 1921 gebruik van de röntgenologische diagnose voor het vaststellen van rachitis bij zijn proeven met jonge honden. Hij zag ook bij deze dieren het optreden van typische rachitische veranderingen, zooals ze reeds lang bij de mensch bekend waren.

Normaal ziet men op het röntgennegatief, dat de, voor röntgenstralen doorlaatbare spleet van het kraakbeen, diaphysewaarts begrensd wordt door de scherpe lijn van de beenverkalking, waaraan zich de primaire mergruimte aansluit, als een iets donkerder strook, met daarop volgend de spongiosa met zijn fijne, netvormige structuur.

Bij rachitis treden in de afsluitlijn der verbeeningsszone steeds grootere, kalkvrije spleten op; tegelijkertijd neemt de breedte af, de zone wordt onregelmatig en kan totaal verdwijnen, terwijl de spongiosa haar fijne netvormige bouw verliest. Hiermede gepaard gaat een verbreeding van het onverkalkte kraakbeen.

Deze methode is de laatste jaren door heel veel onderzoekers toegepast bij hun proeven met ratten, o.a. Scheunert en Schieblich (94), Schultz (99), Niekerk en Everse (77, 78), Holtz c. s. (49), Groeneveld (29) en door het National Institute for Medical Research, het instituut, dat de standaardeenheid voor vitamine D bereidt en distribueert.

Ook voor kuikens heeft deze methode toepassing gevonden, daar ze een duidelijk beeld geeft van de kalkneerslagen in het been. Men kan haar o.a. vermeld vinden bij v. d. Plank (83), Hall en King (32) en Schroeder (98).

Wel zijn er enkele bezwaren tegen deze methode aangevoerd. Zoo wijst Van Leersum (63) erop, dat het niet mogelijk is de dieren steeds onder precies dezelfde condities te fotografeeren, waardoor kleine veranderingen in de breedte der onverkalkte spleet onopgemerkt blijven. Schultz (100) vestigt er de aandacht op, dat de genezing niet geleidelijk gaat, maar dat er een plotselinge neerslag van kalkzouten ontstaat, dat langzamerhand versmelt. Hieruit volgt, dat men steeds met pathologische organismen werkt, waardoor men geen juist beeld kan krijgen van de werking bij normale individuen.

Deze bezwaren wegen echter niet op tegen de groote voordeelen.

In de practijk heeft de röntgenologische methode steeds voldaan, daar de techniek eenvoudig is, men op elk gewenscht tijdstip een foto kan maken en de uitkomsten een voldoende garantie geven voor de werkzaamheid der onderzochte preparaten.

e. Enkele andere methoden voor het diagnostiseeren van rachitis.

Uit de onderzoekingen van Kramer c.s. (59, 60) volgt, dat onder normale omstandigheden het product van Ca en P in het bloedserum een bepaalde waarde heeft, terwijl deze waarde bij rachitis van kinderen en jonge ratten belangrijk gedaald blijkt te zijn. Wanneer men deze ratten vitamine D preparaten verstrekte, zag men eerst herstel der rachitis nadat het product een zekere waarde had bereikt. Men heeft nu gedacht, dat het mogelijk zou zijn door bepaling van dit product de diagnose rachitis te kunnen stellen. Het blijkt echter, dat de waarde van dit product, zooals het door de verschillende onderzoekers wordt aangegeven nog binnen ruime grenzen schommelt en bovendien blijkt uit de proeven van Adams en McCollum (1) en van György (31), dat de gevonden cijfers lang niet altijd een zeker beeld geven omtrent de toestand. Het gebruik van deze methode voor standaardisatieproeven verdient dus geen aanbeveling.

Een andere reden, waarom deze methode bezwaarlijk is toe te passen, is de moeilijkheid om over een voldoende hoeveelheid kuikenbloed te beschikken voor de chemische bepalingen, hoewel door Sloan en Wilgus (113) een methode wordt aangegeven om door hartpunctie bloed te verkrijgen, waarbij het mogelijk zou zijn een flinke hoeveelheid te verzamelen, zonder dat de dieren afgemaakt behoeven te worden.

Ook is omtrent de waarde van het product en de gedragingen bij rachitis bij het kuiken slechts zeer weinig bekend. Schechter (93) beschrijft bij beenzwakte bij kippen een daling van het Ca gehalte van het bloedserum, terwijl het anorganische P gehalte iets gestegen is. In tegenstelling hiermede zagen Russell c.s. (90) een daling van Ca en P gehalte. Hall en King (32) zagen een daling van het Ca gehalte, terwijl het P gehalte schommelt. Wanneer men bedenkt, dat al deze onderzoekers hebben gewerkt met verschillende dieeten en uit de onderzoekingen van Heller c.s. (36, 37) blijkt, dat een stijging van het P gehalte in het voedsel, een daarmee overeenkomende stijging in het bloed veroorzaakt, dan volgt hieruit wel, dat voordat uitgebreide onderzoekingen zijn verricht over het gedrag van het Ca en P product in kuikenbloed onder normale en abnormale omstandigheden bij bepaalde dieeten, er weinig waarde te hechten is aan de gepubliceerde cijfers.

Door Holt (47) wordt aangegeven wordt aangegeven om de waarde van het ionenproduct $(Ca^{++})^3 \times (PO_4^{111})^2$ groter dan 8×10^{-25} als criterium te nemen. Door Adams en McCollum wordt echter aangetoond, dat dit nooit als een scherp criterium kan gelden.

Ook de bepaling van het P gehalte van het bloedserum kan niet als criterium genomen worden. Uit de proeven van Heller c.s. (36) bleek, dat het P gehalte in totaal bloed van kippen 3 à 4 maal zoo hoog

was als bij zoogdieren en dat de hoeveelheid P in het plasma, dat gewoonlijk voor de P bepaling gebruikt wordt, slechts een kleine fractie was van de totale hoeveelheid P in het bloed. Door verschillende onderzoekers wordt de aandacht erop gevestigd, dat er geen parallel bestaat tusschen het P gehalte in het bloed en de graad van genezing. (Steenbock c. s. 116; György 31; Everse 24). Ook vond Hess c. s. (42), dat kleine hoeveelheden bestraalde ergosterine aan ratten gegeven hun anorganisch P gehalte tot normaal deed stijgen, waarbij de rachitis echter niet genas, terwijl in andere gevallen kleine hoeveelheden levertraan rattenrachitis kon genezen zonder dat het anorganisch P gehalte van het bloed steeg.

Nog een andere methode om rachitis vast te stellen is de bepaling van de zuurgraad der faeces. Deze methode werd het eerst toegepast door Bacharach en Jephcot (5). Veel navolging heeft deze methode echter niet gehad, daar uit de onderzoekingen van Shohl en Bing (112) was gebleken, dat de alcalische faeces zuur werden na toevoegen van levertraan aan een bepaald dieet, maar dat deze verandering niet optrad, als ratten, die gehouden werden op Steenbock's dieet 2965 genezen werden door bestraling van het voedsel of door toevoegen van alcalisch fosphaat.

Hieruit volgt dus wel, dat deze methode niet van groot belang is; voor kuikens is ze bovendien niet gemakkelijk toe te passen.

Uit het bovenstaande volgt, dat er voor het standaardiseeren van vitamine D preparaten verschillende methoden bestaan, waarvan de biologische in de practijk het best voldoen. In hoeverre ook kuikens voor dergelijke proeven bruikbaar zijn zal nader onderzocht moeten worden.

EIGEN PROEVEN.

INLEIDING TOT EIGEN ONDERZOEK.

Keuze proefdier.

Er zijn verschillende eischen, waaraan een diersoort moet voldoen om voor de biologische standaardisatie van een vitamine D preparaat in aanmerking te komen. De eerste eisch is, dat het gemakkelijk en in korte tijd gelukt het dier rachitisch te maken. Een tweede eisch is, dat men zijn proefdieren gemakkelijk en goedkoop krijgen kan en dat deze dieren in een beperkte ruimte zijn te huisvesten. Gewoonlijk maakt men voor deze proeven gebruik van ratten.

In dit proefschrift is nagegaan in hoeverre kuikens aan deze eischen voldoen en welke voor- en nadeelen aan het gebruik van deze dieren verbonden zijn.

Men heeft het groote voordeel bij het gebruik van kuikens, dat men practisch ten allen tijde over een onbeperkt aantal proefdieren kan beschikken. Vooral wanneer het laboratorium, dat zich met deze proeven bezighoudt beschikt over een broedmachine en een batterijkunstmoeder, levert de fokkerij en huisvesting geen noemenswaardige moeilijkheden meer op. Ook de kosten van aanschaffing en onderhoud van deze dieren zullen weinig hooger zijn dan die van ratten. Uit de mededeelingen in de literatuur blijkt, dat het zeker gelukt met bepaalde diëten jonge kuikens in niet te lange tijd rachitisch te maken.

Een groote moeilijkheid bij het beoordeelen van rachitische beenafwijkingen bij kuikens is echter het voorkomen van een aantal beengebreken zonder dat deze van rachitische oorsprong zijn. In het literatuuroverzicht werd hierop reeds gewezen.

Als proefdieren werden gekozen witleghorn-kuikens, het ras dat wel het meest in ons land gehouden wordt. Slechts in enkele gevallen werd gebruik gemaakt van een ander ras de z.g. noord-hollandsche blauwen. In proef 7 werden deze twee rassen naast elkaar gebruikt, waarbij belangrijke verschillen tusschen de twee groepen, wat betreft groeisnelheid en het sneller optreden der rachitische processen, niet konden worden opgemerkt.

Beoordeelingsmethode.

De methoden, die in de practijk het meest gebruikt worden om het ontstaan en genezen van rachitische afwijkingen aan te toonen, werden in het literatuuroverzicht reeds vermeld. Bij dit onderzoek werd hoofdzakelijk gebruik gemaakt van de röntgenologische methode, aangevuld door een histologisch onderzoek van enkele proefdieren. De methoden, die hierbij gevolgd konden worden, waren de volgende:

1°. De bepaling der Ca en P waarde der beenderen. Het bezwaar van deze methode is, dat men zijn proefdieren moet dooden en dus slechts de toestand op een bepaald moment kan vastleggen. Een ander bezwaar is de invloed van het geslacht op de Ca en P hoeveelheid in het been bij jonge kuikens. Daar in een deel van deze proeven gebruik gemaakt werd van een hoenderras, waarvan het geslacht pas zeer laat te bepalen is, kon met deze foutenbron niet voldoende rekening gehouden worden.

Een practisch bezwaar tegen deze methode is ook nog, dat, om gedurende de geheele proefperiode op bepaalde tijden enkele voor de groep typische dieren te kunnen afmaken, over een groot aantal dieren per groep moet kunnen worden beschikt.

2°. De line-test methode. Het voordeel bij het gebruik der line-test-methode is gelegen in de groote gevoeligheid. Daar dit onderzoek er echter vooral op gericht was na te gaan of een bepaald middel in een bepaalde verdunning en in een bepaalde tijd een kuiken voor rachitis kan behoeden of van rachitis kan genezen, zijn de microscopisch kleine kalkafzetsels, die door het niet gebruik maken van deze methode aan de aandacht ontsnappen, niet van groot belang. Ook is men bij deze methode nooit zeker, dat bij het begin der proef geen kalkafzetsels aanwezig waren. Daarom geeft Van Leersum (63) aan, bij proeven met ratten voor de aanvang der proef één been te amputeeren. Voor het kuiken is deze methode natuurlijk niet toe te passen.

Bij deze methode geldt ook hetzelfde bezwaar als bij de beenaschbepaling, dat men zijn proefdieren moet opofferen, terwijl bovendien de methode tijdrovend is en men zijn preparaten niet gemakkelijk bewaren kan.

3°. De histologische methode. Voor een standaardisatie is deze methode door zijn lastige en tijdroovende techniek natuurlijk ongeschikt. Daar er in de literatuur slechts weinig bekend is van de histologische bouw van normale en rachitische beenderen van kuikens leek het echter wenschelijk naast de röntgenfoto's tevens het histologische beeld bij het kuiken te bestudeeren. (blz. 104).

4°. De röntgenologische methode. Het principe van deze methode komt geheel overeen met dat der line-test methode. Ook hier toont men de kalkneerslagen in de beenderen aan. Er zijn aan deze wijze van werken echter belangrijke voordeelen verbonden. Men behoeft hierbij zijn dieren niet te doden en men kan op elk gewenscht tijdstip een foto maken, terwijl de techniek hiervoor eenvoudig is en het materiaal gemakkelijk bewaard kan worden.

Hoewel de beenontwikkeling bij het kuiken niet geheel overeenkomt met die bij de zoogdieren, is het toch zeer goed mogelijk door bestudeering der veranderingen, die in het spronggewricht kunnen optreden rachitische afwijkingen bij kuikens vast te stellen, zooals blijkt uit de foto's op bladzijde 45.

Uit het bovenstaande volgt wel, waarom aan de röntgenologische methode de voorkeur gegeven werd.

Waarde-bepaling der resultaten.

Heeft men eenmaal de, voor zijn doel meest gewenschte methode gekozen, dan staat men voor de moeilijkheid de juiste wijze voor het beoordeelen der resultaten te vinden.

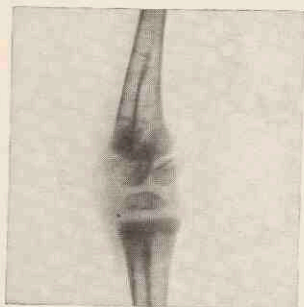
Wanneer men na wil gaan of een preparaat in de gegeven verdunning werkzaam is, dan is het voldoende voor en na de proefperiode een foto te nemen. Wil men echter ook een indruk krijgen over de quantitative waarde, dan moet men nagaan, hoe het verband is tusschen de toegediende dosis en het verkregen resultaat.

Door Adams en McCollum (1) werd wel aangetoond, dat er voor levertraan geen duidelijk verband was tusschen de toegediende dosis en de kalkafzetting, die deze dosis tengevolge had. Deze resultaten worden echter tegengesproken door de onderzoekingen van Everse (24) en van Bourdillon c. s. (15), die voor bestraalde ergosterinepreparaten wel een duidelijk verband tusschen de gegeven dosis en de kalkafzetting zagen. Door deze onderzoekers, die de curatieve methode volgden, werden de graden van genezing, die zij zagen optreden in een aantal klassen onderscheiden. Everse verdeelde de genezing in 7 graden, terwijl Bourdillon c. s. een indeeling in 13 graden maakte. Bij de indeeling van Bourdillon c. s. waren de overgangen van de eene graad in de andere niet meer duidelijk te zien.

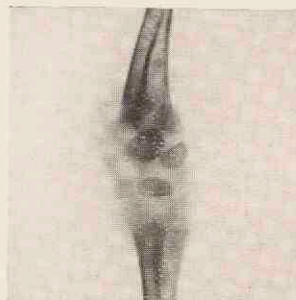
Daar in eigen proeven de prophylactische methode gebruikt werd, aangevuld door therapeutische proeven, was het niet mogelijk de classificaties van deze onderzoekers geheel over te nemen.

Wel werd ook hier een indeeling in 7 graden gemaakt.

Verschillende graden van rachitis:



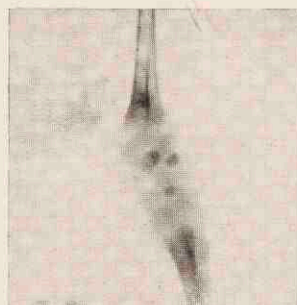
0
normaal



1
lichte rachitis



2
rachitis



3
zeer ernstige rachitis

Aan de foto's werden cijfers gegeven wisselend van 0 tot 3, waarbij 0 = normaal; 1 = lichte rachitis; 2 = duidelijke rachitis; 3 = zeer ernstige rachitis. Daar er bij een indeeling in deze vier groepen nog te veel dubieuze gevallen voorkwamen, werden nog drie tusschenliggende groepen onderscheiden, die de cijfers 0,5; 1,5 en 2,5 kregen.

In de proeven werd steeds een gemiddeld cijfer per groep berekend.

De keuze der preparaten.

Als standaard-preparaat is in alle proeven gebruik gemaakt van het internationale standaard-preparaat, dat vastgesteld werd op „the Conference on Vitamin Standards”, welke in 1931 in Londen gehouden is en welke standaard werd geaccepteerd door „the Permanent Commission on Biological Standards of the League of Nations Health Organisation”. De eenheid werd vastgesteld voor de tijd van twee jaar. De wijze van bereiding vindt men beschreven door het National Institute for Medical Research, Department of Biological Standards, june 1932.

Voor deze eenheid wordt de volgende definitie gegeven: de vitamine D-eenheid is de werkzaamheid van 1 mgr. van de internationale standaardoplossing van bestraalde ergosterine.

De wijze van distributie van dit preparaat geschiedt als volgt. Het National Institute for Medical Research is belast met de bereiding en de verdeling. De standaard-oplossing wordt in bruine fleschjes gezonden aan een centraal instituut in elk land, dat deze standaard wenscht te gebruiken en dit instituut zorgt voor de verdere verdeling. Voor ons land is het Centraal Laboratorium voor de Volksgezondheid aangewezen voor de distributie zorg te dragen. Daar dit laboratorium echter maar beschikt over een beperkte hoeveelheid van de standaardoplossing en zeker niet zoo'n groote hoeveelheid kan afstaan als noodig is voor één kuikenproef, zijn deze proeven beperkt moeten worden tot preparaten, die alle herhaaldelijk met dit standaard-preparaat vergeleken waren.

Hoewel het aantal preparaten, dat in de practijk tegen rachitis van het kuiken gebruikt wordt zeer groot is, zijn deze proeven tot de meest belangrijke beperkt.

Op de verpakking vindt men de antirachitische waarde van deze preparaten meestal aangegeven in z.g. ratteneenheden. Deze eenheden komen echter noch met de internationale eenheid, noch onderling overeen, wat veroorzaakt wordt door het verschil in uitwendige omstandigheden, waaraan ratten, die voor de contrôleproeven van de vitamine D preparaten gebruikt worden, blootgesteld zijn.

Als eerste preparaat werd gekozen het **Davitamon D**, dat door de N.V. Organon te Oss in de handel wordt gebracht. Deze firma was steeds bereid een voldoende hoeveelheid van haar preparaat ter beschikking te stellen. Door Prof. Wolff te Utrecht werd dit preparaat geregeld op antirachitische werkzaamheid gecontroleerd. Het, op de fleschjes aangegeven aantal ratteneenheden per cc. is 10.000, hetgeen overeenkomt met 2500 internationale eenheden (I. E.).

Als tweede preparaat werd levertraan gekozen, het bij uitstek gebruikte preparaat in de pluimveefokkerij. Prof. Van Leersum te Amsterdam was zoo vriendelijk 1 L. van door hem gestandaardiseerde levertraan af te staan, welke per gram 1000 I.E. bevatte. In de laatste proef werd gebruik gemaakt van **Jecovitol**, de levertraan, die

door Brocades, Stheeman en Pharmacia in de handel gebracht wordt en die ook door Prof. Wolff geregeld op werkzaamheid gecontroleerd wordt. Deze levertraan bevatte 125 I.E. per cc.

Het derde preparaat, dat gekozen werd, was het door de N.V. Pharmaceutische Fabrieken Philips—van Houten in de handel gebrachte product, de *Dohyfralolie*. Op verzoek der vervaardigers wordt het aantal internationale eenheden per gram niet vermeld. Voor de proeven werd dit preparaat uit de handel betrokken.

Het vierde preparaat, dat gebruikt werd, was het reeds lang in ons land bekende preparaat der firma Merck, de *Vigantolie*. Ook hier werd de benodigde hoeveelheid uit de handel betrokken. De firma deelde ons mede, dat de op de fleschjes aangegeven hoeveelheid van 5000 ratteneenheden per cc. overeenkomt met 15.000 I.E. per cc.

Het aantal dieren per groep.

Door Bills c.s. (14) werden proeven genomen om na te gaan, hoe groot de proeffout is met vitamine D preparaten, wanneer een beperkt aantal dieren gebruikt wordt en hoeveel dieren men minimaal moet gebruiken om nog voldoende nauwkeurigheid te bereiken, daar het oneconomisch is meer dieren te voeden dan noodig is. Zij gebruikten de line-test methode en verdeelden de genezing in 4 graden. Aan 200 rachitische ratten gaven zij nu een bepaald preparaat en bepaalden de graad van genezing, die optrad. Zij vonden hier een gemiddelde van 2,3, maar zoowel de graad 0 als de graad 4 kwam voor. Door deze 200 dieren over willekeurige groepen te verdeelen konden zij een curve construeeren, die het verband aangeeft tusschen het aantal dieren en de waarschijnlijke fout. Zij vonden, dat deze fout bij 100 dieren 4 % was, bij 20 dieren 10 %, bij 10 dieren 17 % en bij 4 dieren 31 %.

Door Irwin c.s. (52) werd het gewenschte aantal dieren per groep berekend, met een bepaalde formule, wanneer het gemiddelde verschil in groeisnelheid bekend was. Daar echter dit verschil voor kuikens niet bekend is, is deze formule voor deze dieren niet toe te passen.

Door de meeste onderzoekers o.a. aan het National Institute for Medical Research, wordt gebruik gemaakt van 10 tot 15 dieren per groep.

In de eerste orientatie-proeven werden groepen van 5 dieren samengesteld om een zoo groot mogelijk aantal groepen te hebben, terwijl in de latere proeven groepen van 10 tot 16 dieren gebruikt werden.

Grootte en aard van de proeffout.

Bij het verrichten van standaardisatieproeven met behulp van proefdieren, is het mogelijk een groot aantal fouten te maken. In de

eerste plaats wordt er een fout gemaakt door het beperkte aantal proefdieren. Ook valt het op, dat men bij een zelfde doseering bij verschillende dieren in een groep onder overigens gelijke omstandigheden, een zeer verschillende graad van rachitis kan zien optreden. De oorzaak hiervan zou gelegen zijn in de verschillende gevoeligheid der dieren voor rachitis. Uit de onderzoekingen van Bills c. s. (14) blijkt, dat wanneer men 10 dieren per groep gebruikt, de dieren met verschillende gevoeligheid gelijk over de groepen verdeeld zijn. Deze foutenbron is dus niet van groot belang.

Er zullen ook fouten gemaakt worden met het toedienen der dagelijksche dosis. Neemt men aan, dat men per keer 10 % te veel of te weinig kan geven, dan zal een dergelijk dier gedurende de geheele proef hoogstens 10 % te veel of te weinig krijgen. Daar echter uit de resultaten der proeven blijkt, dat voor kuikens de hoeveelheden veel meer moeten verschillen om duidelijke verschillen in het röntgenbeeld te geven, is ook hier de gemaakte fout niet van groot belang.

Hetzelfde geldt voor de fout, die bij de beoordeeling gemaakt kan worden. De graad der aandoening kan hier 0,5 te hoog of te laag geschat worden. Op het totale resultaat der proeven kan dit echter niet van groote invloed zijn.

TECHNIEK.

Het fokken en huisvesten.

Zoals reeds beschreven werd, zijn voor deze proeven in de meeste gevallen witleghorn-kuikens gebruikt. De broedeieren werden betrokken van een bedrijf, waar geen verlamingsverschijnselen onder de kippen voorkwamen. De dieren waren daar in de gelegenheid vrij rond te loopen. De eieren werden in een broedmachine uitgebroed en als één-dagskuikens kwamen de dieren in proef. Ze werden gehuisvest in een ruimte met een steenen vloer, die met een enkele cM. dikke laag droog duinzand bedekt was. In deze ruimte, die een afmeting had van 198 bij 97 bij 80 cM. werd een elektrische kuntsmoeder geplaatst, terwijl de stal bovendien in de wintermaanden centraal verwarmd was. De verlichting had plaats door een venster op het zuiden, dat echter niet geopend kon worden.

Het voedsel voor de jonge dieren bestond in de eerste twee proeven gedurende de eerste weken uit boekweit en een uit de handel betrokken kuikenopfokvoer. Na verloop van deze weken bleken de dieren alle een normale beenontwikkeling te hebben, zooals door een röntgenfoto kon worden aangetoond. Daarna werd pas met de eigenlijke proefperiode begonnen. Het was moeilijk de dieren in verschillende kleine groepjes te huisvesten, zoolang ze nog behoefte hadden aan kunstmatige warmte, daar niet over een batterij-kunstmoeder beschikt kon worden. Daardoor werd eerst zoo laat met de eigenlijke proefperiode begonnen. Een groot nadeel der oudere dieren bleek de

reeds ver voortgeschreden beenontwikkeling te zijn en de niet te bepalen hoeveelheid vitamine D, die in het lichaam vastgelegd was in de voorperiode. Een ander nadeel was ook de lange duur van de proeven. Om al deze factoren te ontgaan werden in de derde proef de dieren reeds als ééndagskuikens gebruikt. Daar het sterftcijfer nu echter zeer hoog was, werd in alle volgende proeven gebruik gemaakt van kuikens van 1 week oud, die gedurende de eerste levensweek gehuisvest waren in de eigenlijke proefruimte en gevoed werden met het rachitogene voedsel, dat ze gedurende de verdere proef ontvingen, aangevuld met boekweit, om ze gemakkelijker te leeren eten.

De moeilijkheid van de huisvesting van deze jonge dieren werd zoo goed mogelijk opgelost, door de dieren met een onschadelijke kleurstof te merken, waardoor ze toch in een koppel konden blijven lopen en zonder al te veel tijdverlies in groepen konden worden ingegeven. Er schuilt natuurlijk wel een gevaar in dieren met en zonder toevoeging van vitamine D bij elkaar te laten lopen. In de practijk viel deze fout echter mee, daar een kuiken voor zijn beenontwikkeling zulk een groote hoeveelheid vitamine D nodig heeft, dat deze hoeveelheid niet gemakkelijk met de faeces wordt opgepikt.

Het was niet in alle proeven mogelijk om over witleghornkuikens te beschikken, daar tijdens één proef een groote sterfte onder de kuikens optrad tengevolge van een pulloruminfectie. De kuikens werden daarna noodgedwongen uit de handel betrokken en het eenige ras, waarvan ten allen tijde dieren ter beschikking waren, was het ras der noord-hollandsche blauwen. Er werden bij dit ras geen belangrijke verschillen opgemerkt, wat betreft hun gevoeligheid voor rachitis, vergeleken met de gevoeligheid der witleghorns.

Wanneer de dieren na de voorperiode in proef kwamen, werden ze gehuisvest in een ruimte met een steenen vloer, die ook weer met zand bedekt was en waarin hokken geplaatst waren, met afmetingen van 220 bij 75 bij 80 cm.

De ruimte was geheel donker en werd slechts van 7 uur v.m. tot 6 uur n.m. verlicht met behulp van gloeilampen. Invloed van ultraviolet licht was hier uitgesloten.

De voeding.

Het voedsel, dat de dieren in de 1e en 2e proef gedurende de eerste vier weken kregen, bestond uit boekweit en een uit de handel betrokken opfokvoer, waarvan de samenstelling niet bekend was. Na deze voorperiode kwamen de dieren dan op het rachitogene dieet. In de andere proeven werd direct met dit dieet begonnen. De vraag, die zich nu voordeed was, welk dieet aan de kuikens gegeven moest worden om ze in korte tijd rachitisch te maken. Voor ratten zijn in de literatuur twee dieeten bekend, die in de practijk wel voldoen, namelijk *Mc Collum 3143* en *Steenbock 2965*. Voor kuikens kan men echter een groot aantal dieeten vermeld vinden, o.a. door *Hart c. s.* (35),

Dunn (23), v. d. Plank (83), Holmes c.s. (45), Supplee c.s. (118), Massengale en Nussmeier (68), Russell en Klein (92), Mussehl en Ackerson (75), Tully c.s. (122), Hall en King (32), Hunter (50).

Een rachitogeen dieet moet aan de volgende eischen voldoen: 1. van de contrôle-dieren moet 100 % rachitisch worden, 2. de dieren moeten voldoende snel op dit dieet groeien, 3. er mogen tijdens de duur der proef geen andere deficiëntie verschijnselen optreden, 4. de tijd, die verloopt eer de rachitische verschijnselen optreden moet zoo kort mogelijk zijn.

Het gekozen dieet kwam in hoofdzaak overeen met het dieet, dat reeds in 1923 door Hart c. s. (35) werd beschreven. Dit dieet bestond uit maismeel, kalk, keukenzout en ondermelk. Door verschillende onderzoekers werden verbeteringen in dit dieet aangebracht. Zoo werd het witte maismeel, dat Hart c. s. hun dieren gaven, vervangen door geel maismeel, waardoor het gebrek aan vitamine A opgeheven werd. Een tweede wijziging bestond hierin, dat de ondermelk, die ad libitum gegeven werd, vervangen werd door ondermelkpoeder. De hoeveelheid, die hiervan verstrekt werd was een vijfde deel van het totale rantsoen, een hoeveelheid, die overeenkwam met de gemiddelde hoeveelheid, die een kip tot zich nam, wanneer hem de ondermelk als drinken gegeven werd. Het voordeel hiervan was, dat ondermelkpoeder gemakkelijk in voorraad te houden is en men nauwkeurig het mineraal gehalte van het dieet kan berekenen. Naast dit dieet werd leidingwater ad libitum gegeven.

De keuze viel op dit dieet door de eenvoudige samenstelling, in tegenstelling met de andere in de literatuur beschreven dieeten. In dit dieet zijn slechts twee factoren, waarvan de chemische samenstelling wisselen kan. Dat het Ca en P gehalte ook wel degelijk wisselt, bleek uit de chemische analyses dezer stoffen, zooals die aan het laboratorium voor Medisch Veterinaire Chemie werden verricht. Daarom werden steeds groote partijen voedingsmiddelen tegelijk aangeschaft en een monster daarvan onderzocht. Het voedsel werd in een droge ruimte bewaard, waarbij directe bestraling met zonlicht uitgesloten was. Elke vijf dagen werd het rantsoen voor de dieren versch gemengd en wederom in een droge donkere ruimte bewaard. De kuikens kregen het voedsel tweemaal daags in goed gereinigde metalen bakjes.

Uit de chemische analyses bleek het Ca gehalte van partij 1 van het maismeel 27 mgr. per 100 gram te bedragen en van de ondermelkpoeder 1224 mgr. per 100 gram, terwijl het P gehalte van partij 1 van het maismeel 269 mgr. per 100 gram en van de ondermelkpoeder 591 mgr. per 100 gram bedroeg.

Van partij 2 was het Ca gehalte van het maismeel 16 mgr. per 100 gram en van de ondermelkpoeder 1200 mgr. per 100 gram. Het P gehalte was van het maismeel 280 mgr. per 100 gram en van de ondermelkpoeder 920 mgr. per 100 gram.

Bij de verschillende proeven afzonderlijk is steeds de hoeveelheid en de verhouding van Ca en P in het voedsel vermeld.

Het maken der röntgenfoto's.

De röntgenologische methode werd gebruikt om de resultaten van de proeven vast te stellen. Uit het voorgaande is reeds gebleken, waarom aan deze methode de voorkeur gegeven werd.

De techniek voor het maken van de foto's was als volgt: Er werd gebruik gemaakt van een röntgenfilm van 18 bij 24 cM., die ingesloten was in een houten chassis en die gebruikt werd zonder versterkingsschermen. De oppervlakte van het chassis was verdeeld in 8 gelijke deelen, die elk een oppervlakte hadden van 9 bij 6 cM. Het geheel werd bedekt met een loodplaat, waarin een opening van 9 bij 6 was gesneden, zoodanig, dat wanneer de opening corresponderende met een der vakken op het chassis, de andere met lood bedekt waren. Het kuiken werd nu op de linkerkant gelegd en bedekt met een rondgebogen loodplaat, waarin een opening was gesneden, die juist groot genoeg was om een pootje door te laten en die tegelijkertijd diende om het kuiken tegen mogelijke invloeden van de röntgenstralen te beschermen.

Het linker pootje werd nu door de opening getrokken en gestrekt gehouden door middel van een gewichtje, dat naarmate de dieren ouder werden, verzwaard werd. De ondervoet werd daarna ook nog bedekt met een loodplaatje, waarop zoo noodig een gewicht geplaatst kon worden, en dat diende om het pootje vlak tegen het chassis aan te drukken.

Het rechter pootje, waarom een ring met nummer bevestigd was, werd naar achteren gestrekt, waardoor de dieren verhinderd waren op te staan.

Naast het pootje, dat op het chassis rust, werd een nummer gelegd, dat overeenkwam met het nummer van het kuiken.

Op deze manier is het bij eenige routine mogelijk in betrekkelijk korte tijd, een groot aantal kuikens te fotografeeren. Alleen bij zeer jonge dieren moet soms wel eenig geduld uitgeoefend worden, daar deze soms geruimen tijd onrustig piepen. Wanneer men echter rustig afwacht, gelukt het toch altijd ook bij deze dieren een goede foto te maken. Hoe ouder de dieren worden hoe rustiger ze zijn. Nooit is het noodig gebleken een verdoovingsmiddel te gebruiken.

De belichtingstijd moest natuurlijk kort gekozen worden, maar kon in verband met het niet gebruiken van versterkingsschermen niet zoo heel kort zijn. Steeds werd gebruik gemaakt van een belichtingstijd van 0,2 sec. bij een afstand van buis tot plaat van 40 cM. Hierbij werden gebruikt 35 K.V. en 8 mA, welke opgevoerd werden bij het ouder worden tot 40 K.V. en 18 mA. (wisselstroom-toestel).

Het niet gebruiken van een versterkingsscherm kwam de fijne beenteekening zeer ten goede.

PROEVENREEKS.

PROEF 1.

Prophylactisch gedeelte.

De bedoeling van deze proef was een indruk te krijgen hoe groot de hoeveelheid Davitamon D moest zijn, die in staat was rachitis bij het kuiken te voorkomen.

De proef werd genomen met een groep van 50 kuikens, die 28 dagen oud waren. De eerste vier weken waren de dieren gevoed met boekweit en opfokvoer uit de handel, waarvan de samenstelling niet bekend was. Toen de dieren in proef kwamen was geen enkel dier klinisch of röntgenologisch lijdende aan rachitis, nóch aan eenige andere aandoening.

De 50 dieren werden verdeeld over 10 groepen en ontvingen alle het volgende rachitogene rantsoen: maismeel 77,6; CaCO_3 1,6; NaCl 0,8 en ondermelkpoeder 20, terwijl leidingwater ad libitum werd verstrekt. Dit dieet bevatte 0,91 % Ca en 0,33 % P, dus de verhouding Ca : P = 2,76 : 1.

Aan dit dieet werd toegevoegd een hoeveelheid Davitamon D per dier per dag respectievelijk van 0,025; 0,125; 0,25; 0,75; 1,25; 1,75; 2,50; 3,75; 5 en 0 I.E.

Deze hoeveelheid werd opgelost in Ol. Sesami, zoodanig, dat elk kuiken per dag 0,1 cc. van de oplossing ontving. De dieren kregen deze hoeveelheid dagelijks toegediend met een recordspuit van 0,5 cc., waarop een schaalverdeling 1 : 10 was aangebracht. Met behulp van een stompe canule was het mogelijk zonder noemenswaardige verliezen de oplossing achter in de bek van het kuiken te brengen. De dieren, die geen Davitamon D kregen, ontvingen toch 0,1 cc. sesamolie per dag.

De gewichten der dieren gedurende de proef waren als volgt:

Groep:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dosis:	0,025	0,125	0,25	0,75	1,25	1,75	2,50	3,75	5	0
aanv.gew.	239	233	207	252	226	246	229	193	228	225
1 week	335	356	313	302	329	340	332	296	339	332
2 weken	392	433	378	440	399	419	402	362	422	422
3 weken	460	492	419	490	445	475	448	421	469	460
4 weken	493	529	453	511	471	478	468	437	489	494
5 weken	544	561	487	570	547	543	535	481	548	551
6 weken	585	614	539	624	578	607	585	570	612	600
7 weken	651	672	606	679	653	659	667	609	651	675
8 weken	716	701	672	722	723	729	686	639	697	736
9 weken	724	745	662	760	717	761	690	681	723	772

Al deze cijfers geven gemiddelden per dier per groep aan. Daar het bleek, dat het moeilijk was op deze wijze een juist overzicht te ver-

krijgen van de gewichtstoename, volgt hieronder een tabel, die de gewichten in procenten van het aanvangsgewicht aangeeft.

Groep:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dosis:	0,025	0,125	0,25	0,75	1,25	1,75	2,50	3,75	5	0
aanv. gew.	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
1 week	141	153	151	120	145	138	145	154	149	148
2 weken	165	187	183	174	176	170	176	188	185	188
3 weken	193	212	203	194	197	193	196	219	206	205
4 weken	207	227	219	203	209	194	205	226	214	220
5 weken	228	241	236	225	242	221	234	250	240	246
6 weken	246	263	260	248	255	247	256	296	269	267
7 weken	273	289	293	269	290	267	292	315	286	300
8 weken	300	301	326	286	320	295	300	330	306	327
9 weken	304	320	321	302	317	310	302	354	318	344

Uit het bovenstaande blijkt, dat er slechts geringe verschillen zijn waar te nemen tusschen de verschillende groepen, welke verschillen veroorzaakt worden door een enkel abnormaal snel of langzaam groeiend individu, wat bij zulk een klein materiaal natuurlijk van groote invloed is.

Van eenige gunstige invloed van de Davitamon D op de groeisnelheid is niets te bespeuren.

Het sterftecijfer in deze proef was 0 %.

Bij het beoordeelen der foto's werd gebruik gemaakt van de indeeling, zooals die reeds eerder beschreven werd en waarbij de foto's elk een cijfer kregen, wisselend tusschen 0 = normaal en 3 = zeer ernstige rachitis. De, in onderstaande tabel gepubliceerde cijfers zijn gemiddelden per dier per groep.

Groep:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dosis:	0,025	0,125	0,25	0,75	1,25	1,75	2,50	3,75	5	0
aanvang	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 week	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 weken	1,5	1,3	1,4	0,9	1,3	0,5	0,9	0,8	1,6	0,5
3 weken	1,7	1,4	1,7	1,1	1,4	1	1,2	1,4	1,5	1,6
4 weken	2	1,8	1,9	1,1	1,8	1,6	1,3	1,3	1,7	1,8
5 weken	1,7	2	1,9	1,4	1,6	1,6	1,7	1,6	1,8	1,8
6 weken	1,9	1,8	2	1,7	1,7	2	2	1,9	2,1	1,9
7 weken	2,1	1,8	2	1,7	1,9	2,1	2,2	2	2,2	2,3
8 weken	1,8	1,8	2,3	1,4	2	2,2	1,9	1,6	2,6	2,3
9 weken	1,7	1,8	2,1	1,1	1,5	2,1	1,7	1,6	2,1	2,1

Uit het bovenstaande volgt, dat men röntgenologisch de eerste verschijnselen van rachitis kan waarnemen in de tweede week, nadat

de dieren op de rachitogene kost geplaatst zijn. De ernst der verschijnselen neemt toe tot de 7-8ste week om daarna weer iets af te nemen. Na 9 weken zijn alle 50 dieren in meerdere of mindere mate rachitisch.

Wat de klinische verschijnselen betreft, deze traden gelijk op met de röntgenologische, ze zijn echter altijd minder uitgesproken dan deze. Dit was in alle proeven het geval, de röntgen-afwijking kon reeds heel duidelijk zijn, voor de klinische verschijnselen aan een ernstig lijden deden denken.

In de loop van deze proef namen ook de klinische verschijnselen toe, zoowel wat de ernst betreft, als het aantal der aangetaste dieren, zoodat na afloop der 9 weken al deze 50 dieren ook klinisch het beeld van rachitis vertoonden. Hierbij moet echter opgemerkt worden, dat slechts in heel enkele gevallen de dieren totaal verlamd waren; meestal konden zij de beenen nog voldoende gebruiken. De beweging geschiedde echter moeilijk en veroorzaakte pijn, zoodat de kuikens bijna de geheele dag stil bleven zitten. Meestal waren dan ook de gewrichten verdikt en kregen de beenen een afwijkende vorm en stand, waarbij de teenen naar binnen gekruld werden.

Tijdens deze proef was er bij de kuikens geen enkel verschil waar te nemen, wat betreft de klinische verschijnselen tusschen de dieren der verschillende groepen.

Therapeutisch gedeelte.

Daar er nu 50 rachitische kuikens van 13 weken oud ter beschikking waren, werden deze gebruikt voor een therapeutische proef, om na te gaan hoe groot de hoeveelheid Davitamon D moest zijn, die de rachitis kon genezen.

Om de invloed der, in de prophylactische proef gegeven hoeveelheid Davitamon D zoo gering mogelijk te doen zijn, werden de dieren verdeeld in 5 groepen elk van 10 dieren, waarbij van de oorspronkelijke groepen steeds één dier in elk der nieuwe groepen kwam.

Met deze nieuwe groepen werd nu als volgt gehandeld:

Groep 1: werd buiten geplaatst in hokken, die dezelfde afmetingen hadden als de bij de prophylactische proef gebruikte. De bodem bestond ook hier uit droog zand, terwijl als beschutting tegen de noordzijde een kist was geplaatst, die de dieren tevens als nachtverblijf diende. Verder waren deze hokken rondom open, zoodat de kuikens de geheele dag van zon en licht konden profiteren. Door het Kon. Ned. Met. Instituut te de Bilt werd gedurende die tijd 202 uren zon en een gemiddeld vochtigheidsgehalte van 75 % geregistreerd.

Het voedsel, dat de dieren van deze groep kregen was de rachitogene kost, die ze ook tijdens de prophylactische proef ontvingen.

Groep 2: werd op dezelfde wijze buiten gehuisvest als groep 1. Het voedsel verschildte echter. Deze dieren kregen korrelvoer en het opfokvoer uit de handel, dat zooals in de voorperiode van de prophylactische proef was gebleken, in staat was de dieren tegen rachitis te beschutten.

De samenstelling van dit voer is niet bekend.

Nòch aan groep 1, nòch aan groep 2 werd gedurende deze proeftijd eenig antirachiticum verstrekt, bestraling met zonlicht kon echter plaats vinden.

Groep 3: bleef op de oorspronkelijke manier binnen gehuisvest en ontving het rachitogene voedsel zonder eenige toevoeging.

Groep 4: bleef ook binnen gehuisvest, maar ontving de rachitogene kost met daaraan toegevoegd per dier per dag 12,5 I.E. Davitamon D opgelost in 0,3 cc. sesamolie.

Groep 5: werd hetzelfde behandeld als groep 4, maar ontving als toevoegsel 50 I.E. Davitamon D per dier per dag.

In de tabel hieronder volgt het gewichtsverloop der verschillende groepen.

Voedsel:	Groep 1 rach. kost	Groep 2 handels- kost	Groep 3 rach. kost	Groep 4 rach. kost	Groep 5 rach. kost
Toevoeging:	+	+	+	+	+
	zon	zon	0 I.E.	12,5	50
aanv. gew.	730	728	658	783	708
2 weken	823	907	731	868	780
3 weken	917	1050	770	888	807
4 weken	974	1167	782	934	841
5 weken	1001	1231	797	949	869

In procenten is dit:

Groepen	1	2	3	4	5
aanv. gew.	100	100	100	100	100
2 weken	113	125	111	111	110
3 weken	125	144	117	113	114
4 weken	133	160	119	119	119
5 weken	137	170	121	121	123

Bij het beschouwen van deze cijfers valt direct op, de veel betere groei der groepen 1 en 2, tegenover de drie andere groepen. Deze laatste drie groepen vertoonen geen noemenswaardig verschil wat hun gewichtstoename betreft; van de gegeven hoeveelheid Davitamin D is dus geen invloed op de groeisnelheid te bespeuren.

Wat de eerste beide groepen betreft, hier ziet men ook weer groote verschillen tusschen de groepen. Groep 2, die gevoed werd met een niet-rachitogene kost, die behalve de hoeveelheid vit. D ook mogelijk andere bestanddeelen bevat, welke een gunstige invloed op de groei hebben, is veel beter gegroeid dan groep 1.

Na 5 weken maakten de dieren uit de groepen 1 en 2 klinisch een normale indruk, terwijl de dieren uit de andere drie groepen nog

steeds een zieke indruk maakten, al waren ook hier de rachitische verschijnselen wel iets minder duidelijk geworden.

Hieronder volgt een tabel van het verloop der röntgenologische afwijkingen bij de 5 groepen van dieren.

Het sterftcijfer in deze groepen bedroeg in groep 4 10 %, in de andere groepen 0 %.

Voedsel:	Groep 1 rach. kost	Groep 2 handels- kost	Groep 3 rach. kost	Groep 4 rach. kost	Groep 5 rach. kost
Toevoeging:	+	+	+	+	+
	zon	zon	0 IE	12,5	50
aanvang	1,7	2,2	2,2	2	1,4
2 weken	1,1	0,9	1,7	2,1	1,3
3 weken	0,6	0,4	1,7	1,7	1,4
4 weken	0,3	0,2	1,5	1,7	1,2
5 weken	0,2	0	1,2	1,4	1

Hieruit kan men het volgende aflezen; na verloop van 5 weken is de rachitis genezen in de groepen 1 en 2, terwijl in de andere groepen nog steeds gevallen van rachitis voorkomen. Toch ziet men ook in deze drie groepen een verbetering optreden. Deze verbetering, die men reeds na 7—8 weken in de prophylactische proef zag en die gedurende de therapeutische proef verder doorging, moet waarschijnlijk worden toegeschreven aan de langzamer groei der dieren en aan het feit, dat de beenontwikkeling op deze leeftijd reeds ver gevorderd is. Bij normale dieren is op deze leeftijd reeds een volkomen vergroeiing van de tarsus-metatarsus tot stand gekomen.

Van eenige invloed der gegeven hoeveelheid Davitamon D, kon in deze proef niets waargenomen worden.

Conclusie:

De, in de prophylactische proef gegeven hoeveelheid Davitamon D van 0,025 tot 5 I.E. per dier per dag, bij een rachitogeen dieet met 0,91 % Ca en 0,33 % P, is niet in staat rachitis te voorkomen bij kuikens, die van hun 4e—13e week op dit rantsoen in donker gehouden worden.

Bij rachitische kuikens, die van hun 13de—18de week buiten geplaatst worden, wordt herstel verkregen, zoowel bij de dieren, die de bovenbeschreven kost ontvangen, als bij dieren op een niet-rachitogeen dieet. In het laatste geval is de groei iets sneller.

Bij rachitische kuikens, die gedurende dit tijdsverloop binnen gehuisvest blijven, heeft het toevoegen van 12,5—50 I.E. Davitamon D aan de rachitogene kost geen gunstig effect, nóch op de groei, nóch op het verloop der rachitische processen.

Bij alle dieren ziet men na de 11de—13de week van hun leven een spontane verbetering der rachitis optreden.

PROEF 2.

Prophylactisch gedeelte.

Daar uit proef 1 was gebleken, dat de gegeven hoeveelheid **Davitamon D**, 0.025—5 I.E., te klein was om rachitis te voorkomen en geen duidelijke invloed op de groei of de algemeene toestand der dieren uitoefende, werd de proef herhaald onder overigens dezelfde omstandigheden, maar met een grootere hoeveelheid Davitamon D per dag.

Deze groep bestond uit 60 dieren, die verdeeld werden in 10 groepen van 5 dieren en 1 groep van 10 dieren.

Het voedsel, dat de eerste 50 dieren kregen was hetzelfde als in proef 1. Gedurende de eerste 5 weken kregen de dieren boekweit en opfokvoer uit de handel, daarna de rachitogene kost, die een Ca gehalte had van 0,91 % en een P gehalte van 0,33 %, dus de verhouding Ca : P = 2,76 : 1.

Aan dit dieet werd toegevoegd voor de 10 groepen resp. 175; 150; 125; 100; 75; 50; 25; 17,5; 10 en 0 I.E. per dier per dag. Deze hoeveelheden waren weer opgelost in sesamolie, zoodanig, dat elk dier 0,1 cc. per dag ontving.

Daarnaast werd de groep van 10 dieren gevoed eerst met boekweit en opfokvoer, waaraan nog 2 % levertraan was toegevoegd. Na 5 weken kregen de dieren korrelvoer en opfokvoer + 2 % levertraan, waarvan het vitamine D gehalte onbekend was. De bedoeling was na te gaan, of dieren bij een dergelijke huisvesting en doelmatige voeding groot gebracht konden worden, zonder dat rachitische verschijnselen optraden en tevens om over een groep normale röntgenfoto's te beschikken, die als vergelijkingsobject dienst konden doen.

De huisvesting was voor alle groepen dezelfde als in proef 1.

Op de leeftijd van 5 weken, waarop met de eigenlijke proef begonnen werd, vertoonden geen der 60 dieren klinisch of röntgenologisch eenig verschijnsel van rachitis.

Hieronder volgt een tabel, die het gewichtsverloop te zien geeft.

Groep:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Dosis:	175	150	125	100	75	50	25	17,5	10	0	2%lev.
aanv.gew.	334	292	304	313	304	307	271	283	277	313	255
1 week	395	365	360	382	363	374	348	356	358	390	343
2 weken	469	441	447	482	422	434	419	418	405	439	446
3 weken	571	542	531	537	508	499	502	504	490	523	560
4 weken	667	612	632	609	565	572	563	557	544	596	697
5 weken	693	664	667	665	672	649	631	628	607	659	754
6 weken	815	793	777	786	761	721	699	693	655	729	892
7 weken	870	844	857	838	820	786	736	722	691	746	929
8 weken	895	907	901	887	898	816	771	744	726	805	1013
9 weken	1034	988	1033	991	941	897	800	807	770	814	1160
10 weken	1094	1049	1063	1048	1008	929	863	854	815	854	1264

In procenten uitgedrukt is dit:

Groep:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Dosis:	175	150	125	100	75	50	25	17,5	10	0	2%lev.
aanv.gew.	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
1 week	118	125	118	122	119	122	128	126	129	124	135
2 weken	140	151	147	154	139	141	155	147	146	140	175
3 weken	172	186	175	171	167	163	186	178	177	167	220
4 weken	200	210	209	194	186	180	208	196	197	190	274
5 weken	208	227	219	212	222	211	234	222	219	210	297
6 weken	244	272	256	251	251	235	258	245	237	233	351
7 weken	261	289	282	267	270	255	272	255	250	238	365
8 weken	268	311	297	283	295	266	285	263	262	257	398
9 weken	310	338	329	317	310	292	295	285	278	261	455
10 weken	327	360	350	335	332	303	318	302	295	273	496

Bij het beschouwen van deze cijfers, valt in de eerste plaats op de veel snellere groei der dieren, die gevoed werden met de handelskost + 2 % levertraan. Deze kost zal zeker én wat vitaminen én wat andere bestanddeelen betreft volwaardiger zijn, dan de rachitogene kost der andere dieren.

Een tweede feit, dat opvalt is de afname der groeisnelheid naarmate de hoeveelheid vitamine D, die toegevoegd werd kleiner is. Door het kleine aantal dieren per groep en de groote verschillen, die binnen elke groep voorkwamen, mag men natuurlijk geen te groote waarde aan deze cijfers toekennen, maar van eenige gunstige invloed is hier toch wel sprake.

Vergelijkt men hiermede de resultaten, die uit de röntgenfoto's zijn af te lezen, dan ziet men:

Dosis:	175	150	125	100	75	50	25	17,5	10	0	2%lev.
Groep:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
aanvang	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 week	0	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0	0
2 weken	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0,1	0,1	0
3 weken	0	0,2	0,1	0,1	0	0	1,2	0,3	0,4	0,7	0
4 weken	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	1,7	0,4	0,8	0,8	0
5 weken	0,1	0,2	0,4	0,4	0,4	1,1	1,9	0,6	1,2	1,1	0
6 weken	0,2	0,4	0,7	0,6	1,2	1,2	2	0,8	1,6	1,4	0
7 weken	0,6	0,7	0,7	0,7	1,5	1,6	1,9	1	1,7	1,5	0
8 weken	0,8	0,9	0,5	0,8	1,5	1,6	1,6	1,1	1,8	1,3	0
9 weken	1,2	0,9	0,5	0,8	1,4	2	1,3	1,2	1,9	1,4	0
10 weken	1,3	0,9	0,5	0,8	1,3	1,6	1,2	1	1,8	1,4	0

Uit het bovenstaande is af te lezen, dat de dieren van groep 11 zich steeds normaal ontwikkelden en dat in alle andere groepen gevallen van rachitis optraden. Het minst ernstig waren de gevallen in de groepen 2, 3 en 4, waarbij maar enkele van de dieren een lichte vorm van rachitis vertoonden. In groep 1 daarentegen trad wel een duidelijk geval van rachitis op.

Wat verder opvalt is, dat in geen der groepen zware rachitisgevallen voorkwamen, zooals in proef 1 werden waargenomen.

De klinische verschijnselen begonnen na 3 weken duidelijk op te treden. Ook hier was een opmerkelijk verschil te zien tusschen groep 11 en de overige dieren. De dieren uit groep 11 waren bewegelijk en hadden glanzende goed aanliggende veeren, terwijl de overige dieren een armoedige zieke indruk maakten, behalve enkele dieren uit de eerste 4 groepen, die hoewel ze minder snel gegroeid waren, toch een normaal uiterlijk vertoonden.

Therapeutisch gedeelte.

Met 30 rachitische dieren uit de prophylactische proef werd nu een therapeutische proef begonnen. De kuikens waren nu 16 weken oud en vertoonden alle klinisch en röntgenologisch meer of minder ernstige verschijnselen van rachitis. Ze werden zoo gelijkmatig mogelijk over 6 groepen verdeeld in verband met de hoeveelheid vitamine D, die ze reeds te voren ontvingen.

Het voedsel was hetzelfde rachitogene dieet, dat ze ook in de prophylactische proef verstrekt werd.

Aan het dieet werd bij de verschillende groepen toegevoegd: 0; 250; 375; 500; 625 en 750 I.E. Davitamon D, opgelost in 0,5 cc. sesamolie, een hoeveelheid, die aan deze oudere dieren zonder bezwaar ingegeven kon worden.

De huisvesting was dezelfde als in de voorgaande prophylactische proefperiode.

Het sterftcijfer was gedurende deze proef in de tweede groep 20 % en in de andere groepen 0 %.

Het verloop der gewichten was als volgt:

Groep:	1	2	3	4	5	6
Dosis:	0	250	375	500	625	750
aanv. gew.	998	964	885	967	924	989
1 week	1051	1072	989	1045	973	1074
2 weken	1081	1151	1021	1104	1001	1084
3 weken	1088	1227	1058	1161	1105	1149
4 weken	1137	1365	1176	1280	1205	1280
5 weken	1132	1369	1165	1285	1228	1288

In procenten uitgedrukt is dit:

Groep: Dosis:	1 0	2 250	3 375	4 500	5 625	6 750
aanv. gew.	100	100	100	100	100	100
1 week	105	111	112	108	105	109
2 weken	108	119	115	114	109	110
3 weken	109	127	119	120	119	116
4 weken	114	142	133	132	130	129
5 weken	113	142	132	133	133	130

Uit deze tabel volgt wel, dat er een gunstige invloed van de Davitamon D op de groei te constateeren valt; tusschen de verschillende doseeringen van 250—750 I.E. is geen duidelijk verschil te zien.

Vergelijkt men hiermede de röntgenfoto's, dan ziet men:

Groep: Dosis:	1 0	2 250	3 375	4 500	5 625	6 750
aanvang	1,7	2	1,5	1,6	1,5	1,4
1 week	1,7	1,9	1,5	1,7	1,3	1,2
2 weken	1,5	1,6	1,2	1,4	1,1	0,8
3 weken	1,2	1,4	0,8	0,9	0,8	0,6
4 weken	0,8	1,5	0,7	0,5	0,5	0,5
5 weken	0,7	1,1	0,6	0,4	0,1	0,6
6 weken	0,6	1	0,5	0,4	0	0,5
7 weken	0,5	0,6	0,4	0,2	0	0,4
8 weken	0,5	0,1	0,2	0,1	0	0,2

Wanneer men deze cijfers vergelijkt met de gewichten, dan ziet men, dat de röntgenfoto's gedurende 8 weken gecontroleerd werden, terwijl de gewichten slechts over een tijdsverloop van 5 weken vermeld werden. Dit is een gevolg van het feit, dat na 5 weken wegens arbeidsbesparing de dieren, die klinisch en röntgenologisch normaal waren geworden uit de groepen verwijderd werden.

Wat verder vooral de aandacht trekt, is, dat met of zonder vit. D de dieren in een tijdsverloop van 8 weken genezen zijn. Ze waren nu 24 weken oud.

Wat de snelheid van genezing betreft, deze is voor de verschillende groepen niet heel duidelijk verschillend, hoewel er misschien van de grootere doseeringen een geringe gunstige invloed uitgaat.

Een andere vraag is, waaraan de genezing in alle groepen moet worden toegeschreven. Waarschijnlijk is het een gevolg van de veel langzamer groei van deze reeds bijna volwassen dieren, waardoor de totale hoeveelheid Ca en P, die opgenomen wordt, voldoende is, om aan de behoefte te voldoen.

De klinische verschijnselen kwamen ook in deze proef met de röntgenologische overeen, na verloop der 8 weken maakten de kuikens geen zieke indruk meer, hoewel de algemeene toestand niet buitengewoon gunstig genoemd kon worden.

Conclusie:

De gegeven hoeveelheden van Davitamon D van 10—175 I.E. zijn niet in staat rachitis te voorkomen bij het rachitogene dieet met 0,91 % Ca en 0,33 % P bij kuikens, die van hun 5de tot hun 15de levensweek op deze kost in het donker gehouden worden. Zij oefenen wel een gunstige invloed uit op de groeisnelheid, des te duidelijker naarmate de hoeveelheid vitamine D grooter is. Ook op de ernst van de gevallen wordt door een hoeveelheid van 100 of meer internationale eenheden wel een gunstige invloed uitgeoefend.

Kuikens van dezelfde leeftijd op handelskost + 2 % levertraan blijven vrij van rachitis en groeien sneller dan de dieren op het rachitogene voedsel.

Rachitische kuikens van 16 weken op de rachitogene kost gehouden, genezen in 8 weken. Door het toevoegen van 250—750 I.E. Davitamon D wordt wel een gunstige invloed op de gewichtstoename verkregen en van hoeveelheden grooter dan 500 I.E. gaat eenige invloed uit op de snelheid der genezing.

PROEF 3.

Nadat het in proef 1 en 2 gebleken was, dat het onder de, daarbij bestaande condities zeker gelukte, de 4 resp. 5 weken oude dieren rachitis te bezorgen, was de tijd toch, die deze proeven in beslag namen te lang, zoodat het gewenscht leek eens na te gaan of het geen voordelen had voor de verdere proeven ééndagskuikens te gebruiken. Een bezwaar hiertegen was, dat niet over een batterij-kunstmoeder beschikt werd, waardoor de huisvesting der dieren moeilijker werd, daar het noodig was de dieren elke dag groepsgewijs in te geven. De dieren werden nu in een gezamenlijke ruimte gehuisvest en met een onschadelijke kleurstof gemerkt, waardoor het dagelijksche ingeven nog vrij snel kon geschieden.

Spoedig bleek er echter een ander groot bezwaar aan het werken met deze heel jonge dieren verbonden te zijn, daar reeds in de eerste week 30 % der dieren stierven. Een infectieuse oorzaak hiervoor kon niet worden vastgesteld. Deze groote sterfte kon waarschijnlijk worden toegeschreven aan het feit, dat de dieren, de dag nadat ze uit het ei waren gekomen, geringd, gewogen, gefotografeerd en ingegeven moesten worden, handelingen, die te veel van de weerstand van de pasgeboren dieren vergden.

Het voedsel, dat de dieren kregen bestond de eerste dagen uit boekweit met de rachitogene kost, die ook in proef 1 en 2 gebruikt werd. Na 4 dagen werd alleen dit rachitogene voedsel verstrekt, dat een Ca gehalte van 0,91 % en een P gehalte van 0,33 % had.

De proef omvatte 23 dieren, die verdeeld waren over 3 groepen van 6 dieren en 1 groep van 5 dieren. Aan het dieet van deze dieren werd toegevoegd 5; 50; 125 en 0 I.E. Davitamon D per dier per dag.

De ruimte, waarin de dieren gehuisvest waren, was reeds van de eerste dag af slechts verlicht door gloeilampen van 's morgens 7 tot 's avonds 6 uur. De hokken der dieren werden verwarmd door een elektrische kunstmoeder.

Wanneer men de hoeveelheden vitamine D vergelijkt met de hoeveelheden, die aan ratten gegeven worden in proeven ter bepaling van de waarde van een vitamine D preparaat, blijken deze hoeveelheden voor kuikens veel grooter te zijn, terwijl het aanvangsgewicht voor beide diersoorten ongeveer gelijk is.

In de onderstaande tabel ziet men het verloop der gewichten.

Groep:	1	2	3	4
Dosis:	5	50	125	0
aanvangs gew.	36	36	36	37
1 week	54	58	58	58
2 weken	73	77	77	79
3 weken	96	118	111	100
4 weken	124	166	147	121
5 weken	150	239	215	147
6 weken	182	284	257	155
7 weken	219	357	322	—

In procenten uitgedrukt is dit:

Groep:	1	2	3	4
Dosis:	5	50	125	0
aanvangs gew.	100	100	100	100
1 week	150	161	161	157
2 weken	203	214	214	214
3 weken	267	328	308	270
4 weken	345	461	408	327
5 weken	416	664	597	397
6 weken	505	790	715	419
7 weken	608	990	895	—

Uit deze cijfers is af te lezen, dat de dieren in groep 2 en 3 de beste groei vertoonden, beter dan in groep 1 en 4. Na 7 weken waren in groep 4 80 % der dieren gestorven, in de groepen 1, 2 en 3 resp. 33 %, 0 % en 33 %.

Op de röntgenfoto's is het volgende te zien:

Groep:	1	2	3	4
Dosis:	5	50	125	0
aanvang	0	0	0	0
1 week	0,5	0,2	0,2	0,2
2 weken	1,4	0,6	0,6	2
3 weken	2,2	0,6	0,6	2,7
4 weken	2,4	0,6	0,5	3
5 weken	2,6	0,5	0,4	3
6 weken	2,9	0,8	0,6	3
7 weken	3	1,1	1	3

Ook hier ziet men weer het groote verschil tusschen de groepen 1 en 4 en de groepen 2 en 3. Na 7 weken is in de groepen 2 en 3, die onderling weinig verschillen, slechts een lichte vorm van rachitis waar te nemen, terwijl in de groepen 1 en 4 een zeer ernstige vorm van rachitis aanwezig is.

De klinische verschijnselen kwamen geheel overeen met de röntgenologische, ze waren echter ook bij deze jonge dieren steeds iets later en minder opvallend.

Conclusie:

Hoeveelheden Davitamon D van 50 en 125 I.E. zijn in staat rachitis te voorkomen of slechts in lichte graad te doen ontstaan, wanneer de dieren vanaf de geboorte tot op de leeftijd van 7 weken op een rachitogeen dieet met een Ca : P verhouding = 2,76 : 1 in het donker gehouden worden. Een hoeveelheid Davitamon D van 5 I.E. is hiertoe niet in staat.

PROEF 4.

Prophylactisch gedeelte.

Proef 4 is bedoeld als een aanvulling van proef 3, daar in deze proef een groot percentage der dieren vroegtijdig gestorven was. Voor deze proef werden 53 dieren gebruikt, die reeds als ééndagskuikens in de donkere proefruimte geplaatst werden en de eerste 7 dagen een rantsoen ontvingen dat bestond uit boekweit + de rachitogene kost, welke ook in de vorige proeven gebruikt werd.

Deze voorperiode van een week had het groote voordeel, dat de dieren de proef nu beter konden doorstaan en in deze week ook een groot deel van eventueel uit het ei meegebrachte reserve voorraad vit. D hadden verbruikt.

De dieren werden in twee afdelingen gehuisvest, waarin een elektrische kunstmoeder was geplaatst en ook in deze proef weer met

een onschadelijke kleurstof gemerkt, zoodat ze voor het dagelijksche ingeven gemakkelijk waren te onderscheiden.

De 53 kuikens werden verdeeld in een contrôlegroep van 5 dieren en in 8 groepen van 6 dieren.

Aan het rachitogene dieet, dat de dieren verder zonder boekweit verstrekt werd, werd Davitamon D toegevoegd in hoeveelheden van 6,25; 12,50; 18,75; 25,00; 31,25; 37,50; 50,00 en 75,00 I.E., opgelost in 0,1 c.c. sesamolij per dag en per dier.

In onderstaande tabel vindt men het verloop der gewichten:

Groep:	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dosis:	6,25	12,50	18,75	25,00	31,25	37,50	50,00	75,00	0
aanv.gew.	53	59	57	56	52	54	53	53	50
2 weken	107	121	108	118	107	108	122	119	101
4 weken	192	233	194	231	222	196	221	196	152
6 weken	279	351	279	352	349	327	360	372	238
8 weken	381	491	377	465	442	454	501	480	343

In gewichtsprocenten is dit:

Groep:	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dosis:	6,25	12,50	18,75	25,00	31,25	37,50	50,00	75,00	0
aanv.gew.	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2 weken	202	204	190	211	205	200	230	224	202
4 weken	362	394	340	412	426	393	416	370	304
6 weken	528	593	488	628	670	604	680	702	476
8 weken	720	832	662	830	848	840	946	907	686

Wanneer men deze cijfers beschouwt, dan valt op, dat de grootere hoeveelheden Davitamon D een duidelijk-waarneembare gunstige invloed op de groei uitoefenen.

De hieronder volgende tabel laat het verloop der röntgenologische afwijkingen zien.

Groep:	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dosis:	6,25	12,50	18,75	25,00	31,25	37,50	50,00	75,00	0
Aanvang	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 weken	2	1,5	1,2	0,7	1,3	0,4	0,7	0,5	2,2
4 weken	2,2	1,9	1,9	1,2	1,4	0,8	1,0	0,8	2,2
6 weken	2,6	2,2	2,1	1,9	2,1	1,6	1,5	1,0	2,3
8 weken	2,2	2,2	2,1	1,5	1,9	1,5	1,7	1,1	2,5

Uit deze cijfers is af te lezen, dat in alle groepen rachitische gevallen optreden, alleen in groep 8, die per dag per dier 75 I.E. ontvangt, treedt slechts een lichte vorm van rachitis op. Verder valt op, dat de

groei in de groepen, die het meeste Davitamon D krijgen het beste is, terwijl in deze groepen de rachitische verschijnselen ook later optreden dan in de groepen die weinig of geen Davitamon D krijgen.

Therapeutisch gedeelte.

Deze proef werd ondernomen met 24 dieren van de voorgaande prophylactische proef, die alle klinisch en röntgenologisch duidelijk rachitische verschijnselen vertoonden. De kuikens werden verdeeld over 4 groepen elk van 5 dieren en 1 groep van 4 dieren. Zij waren nu 9 weken oud.

Het voedsel dat in deze proef gegeven werd was hetzelfde als dat in de prophylactische proef verstrekt werd. Aan dit voedsel werd voor de eerste 4 groepen toegevoegd: 125; 250; 500; 750 I.E. Davitamon D, opgelost in 0,5 cc. sesamolie, terwijl de vijfde groep als contrôle diende en slechts 0,5 c.c. sesamolie ontving. De dieren waren zoo gelijkmatig mogelijk over de verschillende groepen verdeeld in verband met de reeds vroeger ontvangen hoeveelheid vitamine D.

De dieren bleven gedurende 6 weken op de bekende wijze gehuisvest en werden daarna buiten geplaatst, terwijl de overige omstandigheden gelijk bleven. Daarom moet het verloop der gewichtstoename in twee fasen worden onderscheiden.

Groep:	1	2	3	4	5
Dosis:	125	250	500	750	0
aanv.gew.	461	438	423	453	377
2 weken	531	534	505	585	472
4 weken	671	636	667	742	590
6 weken	810	750	807	866	652

In procenten van het aanvangsgewicht is dit:

Groep:	1	2	3	4	5
Dosis:	125	250	500	750	0
aanv.gew.	100	100	100	100	100
2 weken	115	122	120	129	126
4 weken	146	145	158	164	156
6 weken	176	172	191	191	173

In de groepen 3 en 4 werd dus de beste groei verkregen, terwijl de groepen 1, 2 en 5 ongeveer even snel groeiden.

De röntgenfoto's, die hiermee overeen komen, toonen het volgende beeld:

Groep:	1	2	3	4	5
Dosis:	125	250	500	750	0
Aanvang	2,1	2,5	2,3	2,2	2,0
2 weken	2,2	2,3	1,9	1,6	2,2
4 weken	1,8	2,2	0,6	0,8	2,5
6 weken	1,1	1,6	0,4	0,6	1,8

Hieruit volgt dus, dat hoeveelheden van 500 en 750 I.E. Davitamon D in 6 weken de rachitis vrijwel doen genezen, terwijl in de andere drie groepen wel verbetering optreedt, wat de ernst der rachitis betreft, maar toch nog meer dan een licht graad van rachitis aanwezig blijft.

De dieren, die nu nog klinisch en röntgenologisch duidelijk rachitische verschijnselen vertoonden, werden nu gedurende drie weken buiten geplaatst. In deze tijd werden door het Kon. Ned. Meteorologisch Instituut te de Bilt 177 uren zon geregistreerd en een gemiddelde vochtigheidsgraad van 66 %.

Het verloop der gewichten was nu als volgt:

Groep:	1	2	3	4	5
	zon	zon	zon	zon	zon
	+	+	+	+	+
Dosis:	125	250	500	750	0
aanv.gew.	770	750	718	853	652
1 week	860	797	810	1000	687
3 weken	1091	970	998	1275	833

In procenten uitgedrukt is dit:

Groep:	1	2	3	4	5
	zon	zon	zon	zon	zon
	+	+	+	+	+
Dosis:	125	250	500	750	0
aanv.gew.	100	100	100	100	100
1 week	112	106	111	117	105
3 weken	142	129	139	150	128

Het verloop der rachitische afwijkingen was:

Groep:	1	2	3	4	5
	zon	zon	zon	zon	zon
	+	+	+	+	+
Dosis:	125	250	500	750	0
aanvang	1,4	1,6	0,8	1	1,8
1 week	0,8	1,3	0,5	0,8	1,8
3 weken	0,4	0,3	0,5	0,5	1,2

Hieruit volgt dus, dat de rachitis bij deze dieren het snelste geneest en de groei het beste is, wanneer een combinatie van zon en vitamine D aanwezig is.

Conclusie:

Hoeveelheden van 6,25 tot 75 I.E. Davitamon D zijn niet in staat rachitis te voorkomen bij kuikens, die van hun eerste tot hun 9e levensweek in het donker gehouden worden op een rachitogene kost met 0,91 % Ca en 0,33 % P. Wel wordt door deze hoeveelheden een gunstige invloed uitgeoefend op de groei en de weerstand tegenover rachitis, des te duidelijker naarmate de hoeveelheid vitamine D grootter is.

Hoeveelheden van 500 en 750 I.E. zijn in staat rachitische kuikens van 9 weken oud in 6 weken te genezen met hetzelfde rachitogene voedsel; kleinere hoeveelheden geven wel verbetering, maar geen volledig herstel, terwijl hiervan ook geen gunstige invloed op de groei is waar te nemen.

Buiten plaatsen heeft een gunstige invloed; herstel der rachitische afwijkingen treedt het snelste op, wanneer behalve ultraviolet licht, ook nog vitamine D toegevoerd wordt.

PROEF 5.

Prophylactisch gedeelte.

Deze proef werd genomen om na te gaan of de benodigde hoeveelheid vitamine D voor normale groei ook belangrijk verschilde, bij verschillende Ca en P verhoudingen in het voedsel.

Hiervoor werden twee ploegen kuikens gebruikt, ploeg 1, die 27 dieren telde en ploeg 2, die 26 dieren groot was.

De dieren uit ploeg 1 ontvingen het volgende rantsoen: maismeel 79,04; CaCO_3 0,16; NaCl 0,8; ondermelkpoeder 20. Het Ca gehalte hiervan is 0,33 % en het P gehalte ook 0,33 %, zoodat de verhouding $\text{Ca} : \text{P} = 1 : 1$ is.

De dieren uit ploeg 2 kregen het volgende rantsoen: maismeel 75,84; CaCO_3 3,36; NaCl 0,8; ondermelkpoeder 20. Hiervan is het Ca-gehalte 1,61 % en het P gehalte 0,322 %, dus de verhouding $\text{Ca} : \text{P} = 5 : 1$.

De ploegen 1 en 2 werden beide weer verdeeld in 4 groepen van 5 dieren en 1 contrôle-groep van 7 resp. 6 dieren.

Aan het dieet van elk dezer groepen werd toegevoegd 12,5; 25; 37,5; 125 I.E. Davitamon D, opgelost in 0,1 cc. sesamolie. De beide contrôle-groepen ontvingen geen vitamine D.

De huisvesting der dieren was dezelfde als in de vorige proeven. De voedsels werden streng gescheiden samengesteld en bewaard

en er werd voor gezorgd, dat de etensbakjes niet verwisseld konden worden.

De dieren kwamen weer in proef op de leeftijd van 1 week, na in de voorperiode gevoed te zijn met het overeenkomstige rachitogene voedsel en boekweit.

Het verloop der gewichten was als volgt:

Groep:	Ca : P = 1 : 1					Ca : P = 5 : 1				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Dosis:	12,5	25	37,5	125	0	12,5	25	37,5	125	0
aanv.gew.	63	58	61	62	64	60	60	60	58	55
2 weken	139	128	138	126	134	105	93	99	87	98
3 weken	192	171	179	166	169	137	115	123	107	133
4 weken	221	211	228	210	204	183	127	181	146	183
5 weken	285	265	262	251	230	221	185	217	176	217

In procenten uitgedrukt is dit:

Groep:	Ca : P = 1 : 1					Ca : P = 5 : 1				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Dosis:	12,5	25	37,5	125	0	12,5	25	37,5	125	0
aanv.gew.	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2 weken	220	211	226	203	209	175	155	165	150	178
3 weken	304	295	293	268	264	228	191	205	184	241
4 weken	350	364	373	339	318	304	212	301	251	333
5 weken	452	457	430	405	359	367	308	361	303	394

Uit het bovenstaande kan men aflezen, dat ondanks de veel kleinere totale hoeveelheid Ca, die het rantsoen bevat, de groei in ploeg 1 beter was als in ploeg 2. Bij ploeg 1 valt op, dat de contrôle-groep minder snel gegroeid is, dan de andere groepen, bij ploeg 2 daarentegen is de groei in de contrôle-groep nog het beste.

Op de röntgenfoto's is het volgende te zien:

Groep:	Ca : P = 1 : 1					Ca : P = 5 : 1				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Dosis:	12,5	25	37,5	125	0	12,5	25	37,5	125	0
aanvang	0,1	0	0	0	0	0	0,3	0	0,2	0,1
2 weken	0,1	0,1	0	0	0,5	2	1,7	1,6	0,4	2,2
3 weken	0,3	0,1	0	0	1,1	2,1	1,7	1,6	0,7	2,6
4 weken	0,4	0,1	0	0	1,1	2,3	1,7	1,9	0,9	2,6
5 weken	0,5	0,1	0,1	0	1,4	2,4	1,9	2,4	1,1	2,7

Uit het bovenstaande volgt wel, dat er een groot verschil is tusschen de ploegen 1 en 2. Klinisch was dit verschil ook opvallend duidelijk.

In ploeg 1 ziet men slechts een zeer lichte vorm van rachitis bij een enkel dier der eerste 4 groepen. De contrôle-groep daarentegen was niet geheel beschermd, van de 7 dieren vertoonden er 4 duidelijke rachitische verschijnselen, terwijl de andere 3 slechts een zeer lichte vorm van rachitis hadden.

In ploeg 2 ziet men duidelijke rachitis in alle groepen, behalve in groep 4, waarvan de dieren alle slechts een lichte graad van rachitis hadden. Bij het gegeven dieet had een hoeveelheid van 125 I.E. Davitamon D dus wel een gunstige invloed op de beenvorming.

Het sterftecijfer in ploeg 1 bedroeg 7 % en ploeg 2 12 %.

Therapeutisch gedeelte.

Voor deze proef werden gebruikt 16 dieren, die alle rachitische verschijnselen vertoonden, zoowel klinisch als röntgenologisch, 2 dezer dieren waren uit ploeg 1, de andere 14 uit ploeg 2.

Deze 16 dieren waren nu alle 6 weken oud en ontvingen het voedsel, dat in de prophylactische proef aan ploeg 1 gegeven werd, bestaande uit: maismeel 79,04; CaCO_3 0,16; NaCl 0,8; ondermelkpoeder 20; met 0,33 % Ca en 0,33 % P, dus de verhouding Ca : P = 1 : 1.

De kuikens werden verdeeld in 4 groepen van 4 dieren.

Groep 1: werd buiten geplaatst en gehuisvest zooals in proef 1 reeds werd beschreven en ontving het bovengenoemde voedsel zonder eenige toevoeging.

Groep 2: werd eveneens buiten geplaatst en ontving het bovengenoemde voedsel en 125 I.E. Davitamon D per dier per dag.

Groep 3: bleef binnen, ontving hetzelfde voedsel en 125 I.E. Davitamon D per dier per dag.

Groep 4: bleef ook binnen, maar kreeg als toevoegsel aan het voedsel 250 I.E. Davitamon D per dier per dag.

Het verloop der gewichten is:

Groep:	1	2	3	4
	buiten	buiten	binnen	binnen
Toevoeging:	0	125	125	250
aanv.gew.	187	231	186	231
1 week	213	266	224	290
3 weken	295	351	311	391
4 weken	383	403	366	463
5 weken	408	436	410	526

In procenten uitgedrukt is dit:

Groep:	1	2	3	4
	buiten	buiten	binnen	binnen
Toevoeging:	0	125	125	250
aanv.gew.	100	100	100	100
1 week	114	115	121	126
3 weken	158	152	167	169
4 weken	205	175	195	201
5 weken	218	189	221	228

Gedurende de tijd, dat de dieren buiten waren, registreerde het Kon. Ned. Meteorologisch Instituut te de Bilt 239 uren zon en een gemiddeld vochtgehalte van 65 %. Uit bovstaande cijfers kan men aflezen, dat er geen belangrijke groeiverschillen waren tusschen de 4 groepen.

Op de röntgenfoto's is wel een duidelijk verschil te zien:

Groep:	1	2	3	4
	buiten	buiten	binnen	binnen
Toevoeging:	0	125	125	250
aanvang	2,2	2,9	2,7	2,7
1 week	2	2,5	2,7	2,7
3 weken	1,3	1,4	2,7	2,5
4 weken	0,8	0,6	2,7	2,3
5 weken	0,3	0	2,9	2,4

Hieruit volgt dus, dat er röntgenologisch een groot verschil is tusschen de groepen binnen en de groepen buiten. Ook klinisch valt dit verschil dadelijk in het oog.

De dieren buiten, waren na 5 weken volkomen genezen, ook zonder toevoeging van Davitamon D, slechts één dier vertoonde nog een lichte vorm van rachitis.

De dieren uit groep 3 en 4, dus de dieren, die binnen bleven, maakten alle een zieke indruk. Na 5 weken was hier nog van geen genezing sprake.

Conclusie:

Er is een groot verschil in gevoeligheid voor rachitis bij kuikens, die voedsels krijgen met een verschillende Ca : P verhouding.

Bij het voedsel met 0,33 % Ca en 0,33 % P zijn 12,5—125 I.E. Davitamon D in staat rachitis te voorkomen bij kuikens, die van hun 1ste tot hun 6de week in donker op dit voedsel gehouden worden.

Zonder toevoeging van Davitamon D krijgt een deel der dieren rachitis.

Bij het voedsel met 1,61 % Ca en 0,322 % P is eerst een hoeveelheid Davitamon D van 125 I.E. in staat de dieren zoodanig tegen rachitis te beschermen, dat slechts een lichte vorm van deze ziekte optreedt. Bij een hoeveelheid van 37.5 I.E. of minder krijgt 100 % der dieren rachitis.

Bij het voedsel met de Ca : P verhouding = 1 : 1 is buiten plaatsen voldoende om rachitische kuikens van 6 weken oud in 5 weken te genezen. Geeft men bovendien nog Davitamon D, dan verloopt de genezing iets sneller.

Indien de dieren met dit voedsel binnen gehouden worden, treedt in 5 weken geen genezing der rachitis op, wanneer 125—250 I.E. Davitamon D per dier per dag verstrekt wordt.

PROEF 6.

De bedoeling van deze proef was na te gaan, of er een duidelijk verschil in werking was tusschen een gelijk aantal eenheden van levertraan en Dohyfralolie.

Voor deze proef werden gebruikt 2 ploegen van 19 kuikens, die weer na een voorperiode van 1 week in proef kwamen.

Het voedsel, dat de dieren kregen bestond uit maismeel 75,84; CaCO₃ 3,36; NaCl 0,8 en ondermelkpoeder 20. De hoeveelheid Ca hierin is 1,61 % en de hoeveelheid P 0,322 %, dus de verhouding 5 : 1.

De ploegen waren onderverdeeld in 3 groepen van 5 en 1 groep van 4 dieren, welke laatste als contrölegroep dienst deed. De levertraan groepen kregen behalve de rachitogene kost 50; 125; 250 en 0 I.E. levertraan per dier per dag. De dohyfral groepen kregen 50; 125; 220 en 0 I.E. dohyfral toegevoegd aan de rachitogene kost.

De huisvesting geschiedde op dezelfde wijze als in de vorige proeven.

Het verloop der gewichten in de verschillende groepen was als volgt:

Groep:	Levertraan				Dohyfral			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Dosis:	50	125	250	0	50	125	220	0
aanv.gew.	46	49	45	46	50	50	50	52
1 week	57	52	50	54	58	65	59	73
2 weken	69	68	65	78	79	83	76	94
3 weken	82	84	77	96	102	113	99	112
4 weken	125	107	116	118	126	148	136	155
5 weken	161	137	147	144	166	196	176	191
6 weken	205	166	170	169	210	236	225	230
7 weken	265	190	207	214	259	282	271	297

In procenten is dit:

Groep:	Levertraan				Dohyfral			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Dosis:	50	125	250	0	50	125	220	0
aanv.gew.	100	100	100	100	100	100	100	100
1 week	124	106	111	117	116	130	118	140
2 weken	150	139	144	170	158	166	152	181
3 weken	178	172	172	208	204	226	198	215
4 weken	271	218	258	256	252	296	272	299
5 weken	350	280	327	314	332	392	352	368
6 weken	445	339	377	368	420	472	450	442
7 weken	575	388	460	465	518	564	542	570

Uit deze cijfers is af te lezen, dat de dohyfralgroepen iets beter gegroeid zijn als de levertraangroepen, hetzelfde geldt echter ook voor de contrôle-groepen, zoodat men aan deze cijfers weinig waarde mag hechten.

De röntgenfoto's geven het volgende te zien:

Groep:	Levertraan				Dohyfral			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Dosis:	50	125	250	0	50	125	220	0
aanvang	0,1	0,2	0	0,1	0	0,1	0,2	0,1
1 week	0,4	0,4	0	0,2	0,7	0,4	0,3	1
2 weken	0,9	0,5	0,1	1	1,9	1,2	0,4	1
3 weken	1,2	0,6	0,5	1,2	2,2	1	0,4	1,2
4 weken	1,2	0,9	1,2	1,2	2,1	1,1	0,4	1,5
5 weken	1	1	1	1,5	2,1	1	0,3	1,7
6 weken	1,2	1,5	1	1,2	2,4	1,1	0,5	2,5
7 weken	1,2	1,1	1	1,5	2,1	1,1	0,3	2,5

Het sterftecijfer in de levertraangroepen was 37 %, in de dohyfral-groepen 11 %.

Uit de bovenstaande cijfers volgt, dat er in alle groepen der levertraanploeg gevallen van rachitis optreden, die echter niet zoo heel ernstig zijn. Door de groote sterfte in deze ploeg geven de cijfers geen volkomen betrouwbaar beeld.

In de Dohyfralploeg ziet men een ernstige vorm van rachitis optreden in de groep, die 50 I.E. ontving en in de contrôlegroep, terwijl in de andere beide groepen slechts een lichte vorm van rachitis optreedt.

Conclusie:

Dieren, die 50—250 I.E. levertraan krijgen worden bij een voedsel met een Ca : P verhouding = 5 : 1 niet geheel beschermd tegen

rachitis, wanneer ze van hun 1ste tot hun 8ste levensweek op dit voedsel in donker gehouden worden.

Een hoeveelheid van 220 I.E. Dohyfralolie is bij hetzelfde voedsel en dezelfde huisvesting, wel in staat de dieren voor rachitis te vrijwaren. 125 I.E. geven een gedeeltelijke bescherming, terwijl bij 50 I.E. een ernstige vorm van rachitis optreedt.

PROEF 7.

Prophylactisch gedeelte.

Het doel van deze proef was na te gaan of Dohyfralolie in een hoeveelheid van 100 I.E. per dag per dier bij een bepaald dieet in staat is kuikens voor rachitis te behoeden.

Dit dieet bestond uit: maïsmeel 79,04; CaCO_3 0,16; NaCl 0,8; ondermelkpoeder 20. Het Ca-gehalte hiervan was 0,33 % en het P-gehalte ook 0,33 %, dus de verhouding bedroeg 1 : 1.

Daar in deze proef slechts een gering aantal witleghornkuikens ter beschikking stond, werden naast de 24 witleghorns ook 19 Noord-Hollandsche blauwen in proef genomen.

Alle dieren kwamen weer in proef op de leeftijd van een week, na een voorproefperiode, waarin het voedsel bestond uit boekweit + het rachitogene voedsel.

De dieren werden in 4 groepen verdeeld, n.l.:

Groep 1: 12 witleghorns: kreeg het rachitogene voedsel + 100 I.E. Dohyfralolie.
 Groep 2: 12 witleghorns " " " " "
 Groep 3: 10 N.H. Blauwen " " " " + 100 I.E. Dohyfralolie.
 Groep 4: 9 N.H. Blauwen " " " " .

De hoeveelheden Dohyfralolie waren opgelost in 0,2 cc. sesamolie. De huisvesting geschiedde op dezelfde wijze als in de andere proeven.

Het sterftcijfer was in de resp. groepen 8 %, 33 %, 10 % en 44 %.

De gewichten waren als volgt:

Groep:	1	2	3	4
	W-L	W-L	N-H BI	N-H BI
Dosis:	100	0	100	0
aanv.gew.	55	55	46	48
1 week	75	71	50	55
2 weken	98	94	78	72
3 weken	124	114	110	91
4 weken	146	116	131	116

In procenten is dit:

Groep:	1	2	3	4
Dosis:	W-L 100	W-L 0	N-H BI 100	N-H BI 0
aanv.gew.	100	100	100	100
1 week	136	130	109	115
2 weken	178	171	170	150
3 weken	225	208	238	190
4 weken	266	212	285	241

Uit dit gewichtsverloop volgt wel, dat er van de Dohyfralolie een gunstige werking is waar te nemen op de gewichtstoename, terwijl er bovendien uit blijkt, dat de groei der Noord-Holandsche Blauwen iets sneller is dan die der witleghorns, wat in verband kan staan met het groote verschil in type tusschen deze beide rassen.

Op de röntgenfoto's is het volgende te zien:

Groep:	1	2	3	4
Dosis:	W-L 100	W-L 0	N-H BI 100	N-H BI 0
aanvang	0	0	0,1	0,1
2 weken	0,1	2,5	0,4	1,4
4 weken	0,5	3	0,8	2,7

Hieruit ziet men dat **beide** rassen op dit rachitogene voedsel zonder toevoeging van Vit. D een ernstige mate van rachitis ontwikkelen; er blijkt dus weinig verschil in gevoeligheid tusschen deze twee rassen te bestaan tegenover rachitis. Verder valt op, dat in groep 1 en groep 3 slechts enkele lichte gevallen van rachitis optreden.

Therapeutisch gedeelte.

Voor deze proef werden gebruikt 15 kuikens uit de prophylactische proef, die alle klinisch en röntgenologisch verschijnselen van rachitis vertoonden.

De dieren werden verdeeld in twee groepen, bestaande uit 8 witleghorns en 7 noordhollandsche blauwen.

Het voedsel bleef hetzelfde als in de prophylactische proef, had dus een Ca : P verh. = 1 : 1, ook de huisvesting bleef dezelfde.

De kuikens kregen per dag aan dit voedsel toegevoegd: 100 I.E. Dohyfralolie opgelost in 0,2 cc. sesamolie.

Bij het begin van deze proef waren de kuikens 6 weken oud. Opvallend is de groote sterfte in het verloop van deze proefperiode, bij de witleghorns 62 % en bij de noord-hollandsche blauwen 43 %, terwijl er geen infectueuse oorzaak kon aangetoond worden. Vermoedelijk moet deze groote sterfte worden toegeschreven aan de zeer heftige rachitis, waaraan de dieren aan het begin van deze proef lijdende waren.

Het gewichtsverloop:

Groep:	1	2
Dosis:	W-L	N-H BI
aanv.gew.	131	127
1 week	194	177
3 weken	280	242
5 weken	380	324

In procenten is dit:

Groep:	1	2
Dosis:	W-L	N-H BI
aanv.gew.	100	100
1 week	149	139
3 weken	215	190
5 weken	292	255

Door de groote sterfte in beide groepen zijn deze cijfers natuurlijk niet van veel waarde. Er is uit af te lezen, dat in deze periode de witleghorns iets sneller groeien als de noord-hollandsche blauwen.

Op de röntgenfoto's zien we in dit tijdsverloop de volgende veranderingen:

Groep:	W-L	N-H BI
Dosis:	1	2
aanvang	2,9	2,7
3 weken	2,1	2
5 weken	1,8	2

In het verloop van 5 weken is dus wel een geringe verbetering opgetreden, maar van een herstel is in geen der groepen sprake.

Ook klinisch valt geen duidelijke verbetering te bespeuren.

Met enkele dieren uit deze groep werd nog een verdere therapeutische proef ondernomen samen met dieren uit proef 8 (zie bladz. 79)

Conclusie:

Bij een voedsel met 0,33 % Ca en 0,33 % P zijn 100 I.E. Dohyfralolie in staat rachitis te voorkomen bij kuikens, die van hun 1ste—6de week op dit voedsel in donker gehouden worden.

Bij ditzelfde voedsel zijn 100 I.E. Dohyfralolie niet in staat 6 weken oude kuikens in 5 weken van rachitis te genezen.

PROEF 8.

Prophylactisch gedeelte.

Deze proef werd genomen met 58 kuikens om na te gaan, of er ook duidelijke verschillen merkbaar waren, wanneer 100 I.E. van verschillende vitamine-preparaten werden gegeven. Daar echter bij deze proef nog niet bekend was, hoe de verhouding is van de op de fleschjes aangegeven hoeveelheid ratteneenheden van Davitamon D tot het aantal internationale eenheden, werd bij deze proef van Davitamon D een hoeveelheid gegeven, die 4 maal te klein was.

Het voedsel, dat de 1 week oude noordhollandsche blauwen kregen, bestond uit maismeel 76,64; CaCO_3 2,56; NaCl 0,8 en ondermelkpoeder 20. Dit voedsel bevatte 1,30 % Ca en 0,40 % P, dus de verh. Ca : P = 3,25 : 1.

In de eerste levensweek kregen de dieren dit voedsel en boekweit, na die tijd dit voedsel met een toevoegsel van vitamine D.

De dieren waren verdeeld in 4 groepen: 3 groepen van 14 dieren en een contrôlegroep van 16 dieren.

Groep 1 kreeg de rachitogene kost + 100 I.E. levertraan.
" 2 " " " " + 25 I.E. Davitamon D.
" 3 " " " " + 100 I.E. Dohyfralolie.
" 4 " " " " " .

Deze hoeveelheid vitamine D werd de dieren opgelost in 0,2 cc. sesamololie per dag verstrekt.

Het sterftecijfer gedurende de 4 proefweken was resp. 7 %; 21 %; 14 % en 0 %.

Het gewichtsverloop was als volgt:

Dosis: Preparaat:	100 I.E. levertraan	25 I.E. Davitamon D	100 I.E. Dohyfral	0 I.E.
aanvangsgewicht	46	46	48	46
1 week	55	55	58	59
2 weken	71	74	78	80
3 weken	90	103	107	120
4 weken	112	131	142	156

In procenten uitgedrukt is dit:

Dosis:	100 I.E.	25 I.E.	100 I.E.	0 I.E.
Preparaat:	levertraan	Davitamon D	Dohyfral	
aanvangsgewicht	100	100	100	100
1 week	120	120	121	128
2 weken	152	161	163	174
3 weken	196	224	223	261
4 weken	244	285	295	340

Hieruit volgt dus, dat er in deze proef van het toegevoegde vit. D geen gunstige invloed op de groei is op te merken. De contrôlegroep is het beste gegroeid.

De röntgenfoto's gaven het volgende beeld:

Dosis:	100 I.E.	25 I.E.	100 I.E.	0 I.E.
Preparaat:	levertraan	Davitamon D	Dohyfral	
Aanvang	0	0,1	0,1	0,1
2 weken	1,3	2,4	2,0	2,2
4 weken	1,3	2,8	2,7	2,6

Hieruit ziet men, dat in de groepen 2, 3 en 4 ernstige rachitis optreedt en in groep 1 een lichtere vorm van deze ziekte. Waarschijnlijk moet dit worden toegeschreven aan de minder snelle groei van de dieren in deze groep. Klinisch was geen duidelijk verschil tusschen de groepen te zien.

Ter vereenvoudiging van het onderzoek werden in deze proef slechts om de twee weken röntgenfoto's van de dieren gemaakt.

Therapeutisch gedeelte.

Met de dieren uit de prophylactische proef, die klinisch en röntgenologisch rachitische verschijnselen vertoonden, werd een therapeutische proef ondernomen.

De dieren bleven in de oorspronkelijke groepen ingedeeld.

Het voedsel, dat ze ontvingen bestond voor de groepen 1, 2 en 3 uit het voedsel met dezelfde samenstelling als in de prophylactische proef, maar voor groep 4 werd dit gewijzigd en wel als volgt samengesteld: maismeel 79,04; CaCO_3 0,16; NaCl 0,8 en ondermelkpoeder 20. De verhouding van $\text{Ca} : \text{P} = 0,8 : 1$ met 0,32 % Ca en 0,41 % P .

Voor de groepen 1, 2 en 3 was de $\text{Ca} : \text{P}$ verhouding = 3,25 : 1.

Groep 1	kreeg het rachitogene voedsel	+ 200 I.E. levertraan	($\text{Ca} : \text{P} = 3,25 : 1$).
" 2	" " " "	+ 50 I.E. Davitamon D	"
" 3	" " " "	+ 200 I.E. Dohyfralolie	"
" 4	" " " "	+ 100 I.E. Dohyfralolie	($\text{Ca} : \text{P} = 0,8 : 1$).

De hoeveelheid vitamine werd gegeven, opgelost in 0,3 cc. sesamolie.

De huisvesting geschiedde op dezelfde wijze als in de prophylactische proef.

Het gewichtsverloop was:

Groep:	1	2	3	4
Dosis:	200 I.E.	50 I.E.	200 I.E.	100 I.E.
Preparaat:	levertraan	Davit. D	Dohyfral	Dohyfral
aanvangs gew.	118	131	142	158
1 week	154	165	185	194
3 weken	269	253	312	273
5 weken	454	397	470	344

In procenten is dit:

Groep:	1	2	3	4
Dosis:	200 I.E.	50 I.E.	200 I.E.	100 I.E.
Preparaat:	levertraan	Davit. D	Dohyfral	Dohyfral
aanvangsgew.	100	100	100	100
1 week	130	126	130	123
3 weken	227	193	220	173
5 weken	384	303	331	218

De groei was dus het beste in de eerste drie groepen.

De groepen bestonden uit 10, 11, 12 en 13 dieren, terwijl het sterftecijfer resp. 10 %, 18 %, 16 % en 15 % bedroeg.

De beelden, die de röntgenfoto's te zien geven, zijn:

Groep:	1	2	3	4
Dosis:	200 I.E.	50 I.E.	200 I.E.	100 I.E.
Preparaat:	levertraan	Davit. D	Dohyfral	Dohyfral
aanvang	1,6	2,8	2,6	2,7
3 weken	1,5	2,5	2,7	1,9
5 weken	1,4	2,7	2,7	2,0

In de loop der 5 weken, die deze proef duurde, was er dus in geen der groepen herstel opgetreden, alleen in groep 4 is duidelijk eenige verbetering op te merken.

Gecombineerd met eenige dieren uit proef 7 werd nu de therapeutische proef voortgezet.

GECOMBINEERDE PROEF 7 en 8.

Therapeutisch.

Bij de aanvang van deze proefperiode waren de dieren 10 weken oud, zowel die van groep 7 als die van groep 8.

De groep bestond uit 36 dieren, die op de oorspronkelijke wijze gehuisvest bleven; het waren 5 dieren uit groep 7 en 31 uit groep 8.

Zij kregen nu alle het voedsel bestaande uit: maismeel 79,04; CaCO_3 0,16; NaCl 0,8 en ondermelkpoeder 20, een voedsel, dat 0,32 % Ca bevatte en 0,41 % P. De verhouding van Ca : P = 0,8 : 1.

Aan dit voedsel werd voor alle dieren toegevoegd 371 I.E. Dohyfralolie.

Het sterftcijfer gedurende deze proef, die 6 weken duurde, was 14 %.

Preparaat Dosis:	Dohyfral 371 I.E.
aanv.gew.	391
2 weken	501
4 weken	642
6 weken	736

Het verloop der röntgenologische veranderingen was:

Preparaat: Dosis:	Dohyfral 371 I.E.
aanvang	2,4
2 weken	1,6
4 weken	1,4
6 weken	0,9

Conclusies van proef 7 en 8.

Kuikens, die van hun 1ste tot hun 5de levensweek in het donker gehouden worden op een voedsel, dat 1,30 % Ca en 0,40 % P bevat, worden niet beschermd tegen rachitis, wanneer aan dit voedsel worden toegevoegd 100 I.E. levertraan, 25 I.E. Davitamon D, of 100 I.E. Dohyfralolie.

Rachitische, in donker gehouden kuikens van 5 weken oud, die een voedsel krijgen met 1,30 % Ca en 0,40 % P, herstellen niet in 5 weken, wanneer aan dit voedsel worden toegevoegd 200 I.E. levertraan, 50 I.E. Davitamon D of 200 I.E. Dohyfralolie.

Rachitische, in donker gehouden kuikens van 5 weken, gehouden op een voedsel met 0,32 % Ca en 0,41 % P herstellen niet in 5 weken, wanneer aan het voedsel 100 I.E. Dohyfralolie worden toegevoegd. Er

is echter wel eenige verbetering te bespeuren, wat de ernst der rachitis betreft.

Rachitische kuikens van 10 weken oud, gehouden op een voedsel met 0,32 % Ca en 0,41 % P, waaraan toegevoegd wordt 371 I.E. Dohyralolie, zijn in 6 weken niet hersteld, echter is er wel een belangrijke verbetering opgetreden.

PROEF 9.

Prophylactisch gedeelte.

Deze proef diende om te onderzoeken, hoe groot de hoeveelheid Vigantol moet zijn, die in staat is bij het gegeven voedsel jonge kuikens voor rachitis te behoeden.

De dieren kwamen weer in proef op de leeftijd van 1 week, terwijl ze in de voorperiode gevoed werden met het rachitogene voedsel en boekweit. Het rachitogene voedsel bestond uit: maismeel 76,64; CaCO₃ 2,56; NaCl 0,8 en ondermelkpoeder 20, het Ca gehalte hiervan is 1,30 % en het P gehalte 0,40 %. De verhouding Ca : P = 3,25 : 1.

De proef betrof 48 dieren, die in 3 groepen op de bekende wijze gehuisvest waren.

Aan het rachitogene voedsel werden toegevoegd 750, 1500 en 0 I.E. Vigantololie opgelost in 0,1 cc. sesamololie per dier per dag. Deze hoeveelheden waren belangrijk grooter dan in de andere proeven gebruikt werden, wat veroorzaakt werd door het groote verschil tusschen de aangegeven waarde op de verpakking en de waarde in internationale eenheden.

De proef werd gedurende 6 weken voortgezet en het gewichtsverloop was als volgt:

Groep:	1	2	3
Dosis:	750 I.E.	1500 I.E.	0 I.E.
aanv.gew.	53	54	53
2 weken	83	77	92
4 weken	133	133	142
6 weken	222	205	189

In procenten is dit:

Groep:	1	2	3
Dosis:	750 I.E.	1500 I.E.	0 I.E.
aanv.gew.	100	100	100
2 weken	157	143	174
4 weken	251	246	268
6 weken	419	380	357

Uit deze cijfers volgt dus, dat er de eerste vier weken van eenige gunstige invloed op de groei van de verstrekte hoeveelheden Vigantol geen sprake is, na 6 weken echter bleef de groep, die geen Vigantol ontving en die zooals uit de röntgenfoto's is af te lezen nu duidelijke rachitische verschijnselen ging vertoonen, achter in groei bij de beide andere groepen.

Op de röntgenfoto's ziet men:

Groep:	1	2	3
Dosis:	750 I.E.	1500 I.E.	0 I.E.
aanvang	0,1	0,1	0,1
2 weken	0,4	0,1	1,7
4 weken	0,6	0,5	2,6
6 weken	1	0,5	2,7

In groep 3 ziet men dus, dat een ernstige vorm van rachitis is opgetreden, maar de cijfers voor de groepen 1 en 2 laten zien, dat ook in deze groepen enkele gevallen van rachitis voorkwamen. Na 6 weken waren van de 12 dieren in groepen 1, 6 kuikens duidelijk rachitisch en van de 12 dieren in groep 2 vertoonden 3 kuikens rachitische verschijnselen.

Het sterftcijfer tijdens deze proef was in de resp. groepen 25 %, 25 % en 31 %.

Therapeutisch gedeelte.

Met 20 klinisch en röntgenologisch rachitische dieren uit de voorgaande prophylactische proef werd nog een therapeutische proef ondernomen. Dit waren 6 dieren uit groep 1, 3 uit groep 2 en 11 uit groep 3.

De dieren kregen hetzelfde voedsel als in de prophylactische proef, dus voedsel met 1,30 % Ca en 0,40 % P.

Ook de huisvesting bleef dezelfde.

Aan dit voedsel werd voor alle dieren toegevoegd 3000 I.E. Vigantololie per dier per dag, dat is 0,2 cc. onverdunde Vigantololie.

Het verloop der gewichten was:

Groep:	1	2	3
Dosis:	3000 I.E.	3000 I.E.	3000 I.E.
aanv.gew.	209	211	189
2 weken	377	326	255
4 weken	542	447	371
6 weken	770	594	469

In procenten is dit:

Groep:	1	2	3
Dosis:	3000 I.E.	3000 I.E.	3000 I.E.
aanv.gew.	100	100	100
2 weken	181	155	135
4 weken	261	212	197
6 weken	370	283	248

Hieruit is af te lezen, dat groep 3, die tijdens de prophylactische proef geen vitamine D ontving, het minst snel gegroeid is. De groep-indeling was hetzelfde gebleven als in de prophylactische proef.

Het sterftecijfer in de groepen was: 0 %, 17 % en 44 %.

De röntgenfoto's:

Groep:	1	2	3
Dosis:	3000 I.E.	3000 I.E.	3000 I.E.
aanvang	1,8	2,0	2,7
2 weken	2,0	1,6	1,9
4 weken	1,7	1,2	0,9
6 weken	1,0	1,0	0,5

In groep 3 treedt onder invloed der Vigantol in 6 weken herstel op; slechts 1 dier bleek na afloop der 6 weken nog duidelijke rachitische verschijnselen te vertoonen. In de beide andere groepen is wel een duidelijke verbetering opgetreden, maar toch waren ook hier enkele dieren nog rachitisch.

Conclusie:

Bij een voedsel met 1,30 % Ca en 0,40 % P zijn hoeveelheden van 750 en 1500 I.E. Vigantolie niet in staat alle kuikens, die van hun eerste tot hun zevende levensweek op dit voedsel in donker gehouden worden, voor rachitis te behoeden. Wel treedt de rachitis veel later op en zijn de verschijnselen veel minder ernstig.

Bij ditzelfde voedsel geeft een hoeveelheid van 3000 I.E. Vigantolie bij 7 weken oude rachitische kuikens wel verbetering, maar geen absoluut herstel in een tijdsverloop van 6 weken.

PROEF 10.

Prophylactisch gedeelte.

Deze proef werd, zoals ook in proef 8 geschiedde, ondernomen, om na te gaan of er ook een duidelijk verschil was in de werking van

verschillende vit. D preparaten bij een gelijk aantal internationale eenheden en bij een dieet met bepaalde Ca : P verhouding.

De preparaten, die hiervoor gekozen werden, waren **Vigantolie**, **Dohyfralolie**, **Davitamon D** en **levertraan**.

De huisvesting was weer op dezelfde wijze geregeld als in de voorgaande proeven.

De kuikens waren weer 1 week oud, toen ze in proef kwamen, na in die week gevoed te zijn met boekweit en de rachitogene kost. Deze kost was samengesteld uit: maismeel 74,88; CaCO₃ 4,32; NaCl 0,8 en ondermelkpoeder 20, hiervan was het Ca gehalte 1,98 % en het P gehalte 0,394 %, dus de verh. Ca : P = 5 : 1.

Groep 1	omvatte	11	dieren	en	kreeg	de	rachitogene	kost	+	100	I.E.	Vigantol.
" 2	"	11	"	"	"	"	"	"	"	+	200	I.E.
" 3	"	11	"	"	"	"	"	"	"	+	100	I.E. Dohyfral
" 4	"	11	"	"	"	"	"	"	"	+	200	I.E.
" 5	"	10	"	"	"	"	"	"	"	+	100	I.E. Davitamon D
" 6	"	10	"	"	"	"	"	"	"	+	200	I.E.
" 7	"	11	"	"	"	"	"	"	"	+	100	I.E. levertraan
" 8	"	11	"	"	"	"	"	"	"	+	200	I.E.
" 9	"	11	"	"	"	"	"	"	"	+	200	I.E.

Het sterftcijfer was resp. 0 %, 9 %, 0 %, 0 %, 0 %, 10 %, 0 %, 9 % en 27 %.

Het gewichtsverloop was:

Preparaat:	Vigantol		Dohyfral		Davit. D		Levertraan		Contrôle
	100	200	100	200	100	200	100	200	
Dosis:									0
aanv.gew.	47	48	46	44	49	43	46	48	44
2 weken	72	75	68	70	73	64	63	65	78
4 weken	117	118	103	104	107	87	80	83	109

In procenten is dit:

Preparaat:	Vigantol		Dohyfral		Davit. D		Levertraan		Contrôle
	100	200	100	200	100	200	100	200	
Dosis:									0
aanv.gew.	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2 weken	153	156	148	159	149	139	137	136	177
4 weken	249	246	224	237	219	189	174	173	248

Hierbij valt op, dat de slechtste groei in de beide levertraangroepen plaats had.

Het verloop der röntgenafwijkingen was:

Preparaat:	Vigantol		Dohyfral		Davit. D		Levertraan		Contrôle
	100	200	100	200	100	200	100	200	
Dosis:									0
aanvang	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 weken	2,2	1,9	1,4	1,8	1,4	1,5	1,4	1,5	2
4 weken	2,9	2,7	2,4	2,5	2,2	2,2	1,7	2	2,9

Er is dus geen duidelijk verschil tusschen de groepen onderling, de gegeven hoeveelheden vitamine D waren niet in staat de dieren tegen rachitis te beschutten.

Dat de rachitis in de levertraan groep het minst ernstig is, staat waarschijnlijk in verband met de minder snelle groei dezer dieren.

Alleen het sterftcijfer wordt door de gegeven hoeveelheden vitamine D gunstig beïnvloed.

Therapeutisch gedeelte.

Voor deze proef werden de dieren gebruikt uit de prophylactische proef, die klinisch en röntgenologisch verschijnselen van rachitis vertoonden.

Groepindeeling en voedsel bleven gelijk aan die in de voorgaande periode.

De dieren werden buiten geplaatst en gehuisvest als reeds in proef 1 beschreven werd. Het Kon. Ned. Meteorologisch Instituut te de Bilt registreerde in de 8 proefweken 358 uren zon en een gemiddeld vochtgehalte van 68 %.

Groep 1 omvatte 6 dieren en kreeg het rachitogene voedsel + 100 I.E. Vigantol.								
" 2	" 7	" "	" "	" "	" "	" "	" "	+ 350 I.E. "
" 3	" 8	" "	" "	" "	" "	" "	" "	+ 100 I.E. Dohyfral
" 4	" 6	" "	" "	" "	" "	" "	" "	+ 350 I.E. "
" 5	" 8	" "	" "	" "	" "	" "	" "	+ 100 I.E. Davit. D.
" 6	" 8	" "	" "	" "	" "	" "	" "	+ 350 I.E. "
" 7	" 8	" "	" "	" "	" "	" "	" "	+ 100 I.E. levertraan.
" 8	" 10	" "	" "	" "	" "	" "	" "	+ 350 I.E. "
" 9	" 6	" "	" "	" "	" "	" "	" "	"

Het sterftcijfer was resp. 17 %, 28 %, 12 %, 0 %, 11 %, 0 %, 12 %, 20 % en 33 %.

Het gewichtsverloop was:

Preparaat: Dosis:	Vigantol		Dohyfral		Davit. D		Levertraan		Contrôle 0
	100	350	100	350	100	350	100	350	
aanv.gew.	115	121	103	98	104	89	76	83	114
2 weken	164	171	151	132	132	137	102	116	160
4 weken	229	242	222	196	223	195	132	149	195
6 weken	281	306	271	242	286	239	162	177	236
8 weken	318	370	330	288	332	292	191	211	280

In procenten is dit:

Preparaat: Dosis:	Vigantol		Dohyfral		Davit. D		Levertraan		Contrôle
	100	350	100	350	100	350	100	350	0
aanv.gew.	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2 weken	143	141	147	135	127	156	134	140	140
4 weken	199	200	216	200	215	219	174	180	171
6 weken	245	254	264	247	275	269	214	214	207
8 weken	277	306	320	294	320	328	251	255	246

De levertraan- en de contrôlegroep groeien tijdens deze proef het minst snel, tusschen de andere groepen zijn geen belangrijke verschillen wat groei betreft, waar te nemen.

Het verloop der röntgenafwijkingen was:

Preparaat: Dosis:	Vigantol		Dohyfral		Davit. D		Levertraan		Contrôle
	100	350	100	350	100	350	100	350	0
aanvang	2,6	2,6	2,2	2,2	2,4	2,4	1,6	2	2,8
2 weken	2,5	2,4	2,2	2,3	2,5	2,4	1,7	2	2,2
4 weken	1,6	1,5	2,2	2	1,7	2,4	1,7	1,9	1,7
6 weken	1,4	1,4	2	1,9	1,5	2	1,6	1,9	1,1
8 weken	1,4	0,9	1,9	1,7	1,6	1,9	1,6	1,8	1

In dit tijdsverloop is dus in geen der groepen volledig herstel opgetreden, wel kan men verbetering zien, die echter in de contrôle-groep het duidelijkst is. Ook klinisch is slechts een geringe verbetering te bespeuren.

Conclusie:

Toegevoegd aan een voedsel met 1,98 % Ca en 0,394 % P, zijn Vigantrol, Dohyfral, Davitamon D en Levertraan in hoeveelheden van 100 en 200 I.E., niet in staat kuikens, die van hun 1e tot hun 5e levensweek op dit dieet in donker gehouden worden, voor rachitis te behoeden.

Bij rachitische kuikens van 5 weken, op dit voedsel buiten geplaatst, zijn hoeveelheden van 100 en 350 I.E. van dezelfde preparaten niet in staat in een tijdsverloop van 8 weken genezing te geven. Wel treedt eenige verbetering op, die echter niet samenhangt met de toegevoegde hoeveelheden vitamine D.

PROEF 11.

Prophylactisch.

Deze proef werd genomen om na te gaan of 100 en 200 I.E. van verschillende Vit. D preparaten, bij een voedsel met een gunstiger Ca en P verhouding in staat waren, jonge kuikens tegen rachitis te beschutten. Uit proef 10 was gebleken, dat dit bij een hoeveelheid Ca van 1,98 % en een hoeveelheid P van 0,394 % in het voedsel niet het geval was.

Het voedsel, dat de dieren in deze proef ontvingen bestond uit: maismeeel 78,80; CaCO₃ 0,4; NaCl 0,8 en ondermelkpoeder 20. Het Ca-gehalte hiervan is 0,41 % en het P-gehalte 0,41 %, dus de verhouding Ca : P = 1 : 1.

De eerste week kregen de dieren dit voedsel en boekweit, daarna alleen dit voedsel met een toevoegsel van vitamine D.

De huisvesting geschiedde op dezelfde wijze als in de voorgaande proeven.

De proef werd weer begonnen op de leeftijd van een week en de dieren werden ingedeeld in groepen van 12 dieren, behalve de contrôle-groep, die 10 dieren omvatte.

Groep 1	kreeg de rachitogene kost	+ 100 I.E.	Vigantol		
" 2	" "	" "	" "	" + 200 I.E.	" "
" 3	" "	" "	" "	" + 100 I.E.	Dohyfral
" 4	" "	" "	" "	" + 200 I.E.	" "
" 5	" "	" "	" "	" + 100 I.E.	Davitamon D
" 6	" "	" "	" "	" + 100 I.E.	Levertraan
" 7	" "	" "	" "	" "	" "

Het sterftcijfer in deze groepen was resp. 33 %, 40 %, 33 %, 33 %, 25 %, 16 % en 40 %. De groote sterfte in de groepen moest worden toegeschreven aan een pulloruminfectie.

Het gewichtsverloop was:

Preparaat:	Vigantol		Dohyfral		Davit. D	Levertraan	Contrôle
Dosis:	100	200	100	200	100	100	0
aanv.gew.	50	50	48	47	51	47	50
2 weken	101	110	101	98	121	92	89
4 weken	194	208	164	168	202	140	136
6 weken	260	297	261	252	319	215	231

In procenten is dit:

Preparaat:	Vigantol		Dohyfral		Davit. D	Levertraan	Contrôle
Dosis:	100	200	100	200	100	100	0
aanv.gew.	100	100	100	100	100	100	100
2 weken	202	220	210	209	237	196	178
4 weken	388	416	342	358	395	298	272
6 weken	520	594	544	535	626	457	462

Hieruit ziet men, dat de groei in de verschillende groepen niet zoo heel veel uiteenloopt, het best zijn de dieren op de Davitamon D gegroeid, het slechts de dieren in de levertraangroep en in de contrôle-groep. Behalve de levertraan oefenen de Vit. D preparaten dus wel een gunstige invloed op de groei uit. Tusschen de kuikens, die 100 of 200 I.E. kregen, was geen verschil op te merken.

Het verloop der röntgenafwijkingen was:

Preparaat:	Vigantol		Dohyfral		Davit. D	Levertraan	Contrôle
Dosis:	100	200	100	200	100	100	0
aanvang	0	0	0	0	0	0	0
2 weken	0,1	0	0	0	0	0	1,2
4 weken	0,2	0,1	0	0	0	0	1,9
6 weken	0,3	0,1	0	0	0	0	2,1

Slechts in de contrôlegroep treedt een duidelijke vorm van rachitis op.

Conclusie:

Bij een voedsel met 0,41 % Ca en 0,41 % P zijn 100 en 200 I.E. Vigantol, Dohyfral, Davitamon D en Levertraan in staat kuikens voor rachitis te behoeden, die van hun 1ste tot 7de levensweek in donker op dit voedsel gehouden worden.

PROEF 12.

Therapeutisch.

Met deze proef werd nagegaan of rachitische dieren te genezen waren met vitamine D bij een voedsel met een Ca : P verh. = 1 : 1. (Zie ook proef 5 en 7).

De dieren werden rachitisch gemaakt op een voedsel bestaande uit: maismeel 74,88; CaCO₃ 4,32; NaCl 0,8; ondermelkpoeder 20. Het Ca-gehalte hiervan is 1,98 % en het P-gehalte 0,394 %, dus de verh. Ca : P = 5 : 1. De kuikens kregen dit voedsel vanaf de geboorte tot op een leeftijd van 4 weken, de eerste week gecombineerd met boekweit.

De huisvesting was op dezelfde wijze geregeld als in de voorgaande proeven.

Na 4 weken vertoonden alle dieren klinisch en röntgenologisch verschijnselen van rachitis.

Nu werd met de therapeutische proef begonnen. De kuikens werden verdeeld in 3 groepen, die resp. 10, 10 en 9 dieren omvatten.

Groep 1 ontving de rachitogene kost + 50 I.E. Vigantolie.

" 2 " " " " + 50 I.E. Levertraan.

" 3 " " " " " .

De levertraan, die in deze proef gebruikt werd, was Jecovitol en bevatte 125 I.E. per c.c.

Het voedsel was nu gewijzigd en de dieren ontvingen vanaf het begin der therapeutische proef een voedsel bestaande uit: maismeel 78,80; CaCO₃ 0,4; NaCl 0,8 en ondermelkpoeder 20. Hiervan is het Ca gehalte 0,41 % en het P gehalte ook 0,41 %, dus de verhouding Ca : P = 1 : 1.

Het sterftecijfer tijdens deze proef bedroeg resp. 20 %, 0 % en 0 %.

Het gewichtsverloop was:

Preparaat: Dosis:	Vigantol 50	Levertraan 50	Contrôle 0
aanvangsgew.	87	93	89
2 weken	144	151	149
4 weken	219	258	239

In procenten is dit:

Preparaat: Dosis:	Vigantol 50	Levertraan 50	Contrôle 0
aanvangsgew.	100	100	100
2 weken	166	163	167
4 weken	252	278	269

Hieruit volgt, dat er geen groote verschillen zijn tusschen de drie groepen, de levertraangroep is iets sneller gegroeid dan de beide anderen.

De röntgenfoto's laten het volgende zien:

Preparaat: Dosis:	Vigantol 50	Levertraan 50	Contrôle 0
aanvang	2,9	3	2,6
2 weken	2,3	1,7	2,4
4 weken	2	0,8	2,1

Men ziet, dat alleen in de levertraangroep een duidelijke verbetering is opgetreden, in de andere groepen is wel een geringe verbetering te bespeuren, maar deze kan niet aan de toegevoegde hoeveelheid vitamine D geweten worden.

Daar de dieren na dit tijdsverloop in groep 1 niet hersteld waren, werd de proef voortgezet met hetzelfde voedsel, maar nu ontving groep 1 in plaats van 50 200 I.E. Vigantol.

De hoeveelheid levertraan, die groep 2 ontving bleef 50 I.E.

Het gewichtsverloop was nu:

Preparaat: Dosis:	Vigantol 200	Levertraan 50	Contrôle 0
aanvangsgew.	219	258	239
2 weken	310	373	344
4 weken	362	546	412
7 weken	492	880	526

In procenten:

Preparaat: Dosis:	Vigantol 200	Levertraan 50	Contrôle 0
aanv. gew.	100(252)	100(278)	100(269)
2 weken	142(356)	145(400)	144(386)
4 weken	165(415)	212(586)	173(462)
7 weken	225(565)	342(948)	220(590)

De getallen, die tusschen haakjes geplaatst zijn, geven de cijfers aan, die men verkrijgt, wanneer men blijft uitgaan van de aanvangsgewichten.

Uit deze cijfers is af te lezen, dat de dieren uit groep 2 het snelste gegroeid zijn, terwijl er tusschen de beide andere groepen weinig verschil is waar te nemen.

Ook klinisch is groep 2 verreweg in de beste conditie.

Het verloop der röntgenafwijkingen is:

Preparaat: Dosis:	Vigantol 200	Levertraan 50	Contrôle 0
aanvang	2	0,8	2,1
2 weken	2	0,4	1,8
4 weken	1,8	0,1	1,8
7 weken	1,6	0	1,6

In de levertraangroep is dus in dit tijdsverloop herstel opgetreden, in de andere groepen wel eenige verbetering; deze is echter eerder te wijten aan het gunstiger voedsel, dat de kuikens na de voorproefperiode kregen, dan aan de toegevoegde hoeveelheid vitamine D.

Conclusie:

Bij een voedsel met 0,41 % Ca en 0,41 % P, zijn 50 I.E. Vigantol niet in staat in 4 weken een maand-oude rachitische kuikens te genezen.

Bij ditzelfde voedsel zijn 200 I.E. Vigantol niet in staat kuikens van 8 weken, die aan rachitis lijdende zijn, in een tijdsverloop van 7 weken te herstellen.

Bij dit voedsel zijn 50 I.E. levertraan (Jecovitol) in staat 4 weken oude rachitische kuikens te genezen in een tijdsverloop van 8 weken.

BESPREKING.

Om een overzicht te verkrijgen van de resultaten, die met de verschillende vitamine D preparaten bereikt werden, zullen eerst de uitkomsten der proeven met de verschillende middelen afzonderlijk worden samengevat. Daardoor wordt een vergelijking der middelen onderling vergemakkelijkt. De invloed zal worden nagegaan op het ontstaan en de genezing der rachitische processen, op de groei der dieren, terwijl tevens de invloed van verhouding en hoeveelheid van Ca en P in het voedsel op het voorkomen en genezen der rachitische afwijkingen en die der zombestraling bij de genezing van rachitis besproken zullen worden.

Davitamon D

Bij het beoordeelen der resultaten, die met dit middel verkregen werden, kan men twee proeven-reeksen onderscheiden. De eerste reeks, 4 en 5 weken en de tweede reeks, die de proeven betreft, begonnen op de leeftijd van 1 week of op de leeftijd van 1 dag.

Reeks 1: Prophylactisch.

In de proeven 1 en 2 werd gebruik gemaakt van een voedsel met een verhouding van Ca : P = 3 : 1, *) waarbij 0,025 tot 175 I. E. niet in staat zijn geweest rachitis geheel te voorkomen bij kuikens, die van hun 4de tot 15de levensweek in donker op dit voedsel gehouden werden. Wel werd door hoeveelheden van minstens 100 I.E. een gunstige invloed uitgeoefend op de graad van rachitis en op de snelheid, waarmee de dieren groeiden. Bij kleinere hoeveelheden Davitamon D kon deze gunstige invloed niet worden waargenomen.

Reeks 1: Therapeutisch.

Bij de therapeutische proeven mocht opgemerkt worden, dat reeds tegen het einde der proeven in de prophylactische proefperiode, dus op een leeftijd van 12-13 weken een begin van genezing valt waar te nemen. Ook bij deze proeven was de verhouding van Ca : P = 3 : 1. Na 5 weken behandeling kon men herstel zien optreden bij dieren, die buiten gehuisvest werden, terwijl gedurende deze 5 weken 202 uren zon en een gemiddeld vochtigheidsgehalte van 75 % werden geregistreerd. Dit herstel trad op zoowel bij dieren, die alleen het rachitogene voedsel kregen, als bij kuikens waaraan een voedsel uit de handel werd toegediend van onbekende samenstelling. De groei was in het laatste geval ook iets beter, maar toch werd ook op de groei der groep, die op de rachitogene kost gehouden werd, een gunstige invloed uitgeoefend door de zombestraling. Bij de dieren, die binnen gehuisvest bleven op het rachitogene voedsel en 12,5 I.E. en 50 I.E. Davitamon D, ontvingen, werd in een tijdsverloop van 5 weken geen volkomen herstel verkregen.

Ook gaven deze hoeveelheden geen gunstig effect op de groei.

*) Ter vereenvoudiging van het overzicht zijn de verschillende verhoudingen van Ca en P afgerond op geheele getallen.

Van de, in proef 2 gegeven hoeveelheden van 250 tot 750 I.E. bij hetzelfde voedsel en bij binnen gehuisveste dieren, was wel een gunstige invloed op de groei te constateeren, terwijl de invloed op de rachitische processen niet duidelijk was, daar in alle groepen een spontaan herstel optrad.

Reeks 2: Prophylactisch.

Deze proeven werden alle met kuikens van 1 week oud genomen, behalve proef 3, die begonnen werd met kuikens van 1 dag.

Zooals uit proef 5 blijkt, zijn bij een verhouding van $Ca : P = 1 : 1$ 12,5—125 I.E. Davitamon D in staat kuikens, die van hun 1ste tot 6de week in het donker op dit voedsel gehouden worden, tegen rachitis te beschermen. Ook oefenen deze hoeveelheden een gunstige invloed op de groei uit. Hetzelfde ziet men in proef 11; 100 I.E. blijken in staat te zijn rachitis te voorkomen bij kuikens, die van hun 1ste tot 7de week op de rachitogene kost in donker gehouden worden, terwijl er tevens van deze hoeveelheden een gunstige werking op de groei valt waar te nemen.

Bij een voedsel met een verhouding van $Ca : P = 3 : 1$, blijken 125 I.E. in staat rachitis te voorkomen bij kuikens, die vanaf de geboorte tot op de leeftijd van 7 weken op dit voedsel in donker gehouden worden. Een hoeveelheid van 50 I.E. had een gunstige invloed op de ernst der processen, terwijl 5 I.E. geen merkbare invloed uitoefenden. Hetzelfde geldt voor de groeisnelheid.

In proef 4 ziet men, dat ook 6,25—75 I.E. rachitis niet kunnen voorkomen bij kuikens, die van hun 1ste tot 9de levensweek op het rachitogene voedsel in donker gehouden worden; wel oefenen hoeveelheden van 25—75 I.E. een gunstige invloed uit op de ernst der rachitische processen en op de groeisnelheid.

Uit de resultaten van proef 5 volgt, dat bij een verhouding in dit voedsel van $Ca : P = 5 : 1$ 12,5—125 I.E. niet in staat zijn rachitis te voorkomen bij kuikens, die van hun 1ste tot 6de week in donker op dit voedsel gehouden worden. Wel oefenen 125 I.E. een duidelijk merkbare invloed uit op de graad der rachitis, die in dit tijdsverloop ontstaat. Eenige invloed van de gegeven hoeveelheden vitamine D op de groei, was in deze proef niet waar te nemen.

Uit proef 10 blijkt, dat ook 100 en 200 I.E. bij deze $Ca : P$ verhouding niet in staat zijn rachitis te voorkomen bij kuikens, die van hun 1ste tot 5de week op dit voedsel in donker gehouden worden. Deze hoeveelheden oefenen geen merkbare invloed uit op de groeisnelheid.

Reeks 2: Therapeutisch.

Uit proef 5 volgt, dat bij een verhouding van $Ca : P = 1 : 1$ in het voedsel, 125 en 250 I.E. niet in staat zijn 6 weken oude rachitische kuikens te genezen in een tijdsverloop van 5 weken. Bij al deze proeven bleef de huisvesting dezelfde als in de voorgaande prophylactische proefperiode, indien niet anders vermeld wordt.

Daar in deze proef geen contrôle-groep gebruikt werd, is het niet mogelijk na te gaan of er door deze hoeveelheden een duidelijke invloed

op de groei werd uitgeoefend. Bij deze zelfde verhouding trad wel herstel op, wanneer de dieren gedurende 5 weken buiten geplaatst werden. zoowel in de groep, die geen toevoegsel kreeg als in de groep, die 125 I.E. aan het voedsel toegevoegd ontving. In deze tijd werden 239 uren zon en een gemiddeld vochtigheidsgehalte van 65 % geregistreerd. Het toevoegen van vitamine D had hier geen gunstige invloed op de groei.

Bij een verhouding van $Ca : P = 3 : 1$ trad geen genezing op in 6 weken, wanneer aan het voedsel van rachitische kuikens van 9 weken oud, 125 en 250 I.E. werden toegevoegd. 500 en 750 I.E. gaven in dit tijdsverloop wel herstel en oefenden ook een gunstige invloed op de groei uit. Werden de dieren na deze 6 weken buiten geplaatst, dan gaven 125—750 I.E. in 3 weken herstel, terwijl alle hoeveelheden de groei gunstig beïnvloedden. In deze 3 weken werden 177 uren zon en een gemiddeld vochtigheidsgehalte van 66 % geregistreerd.

Uit proef 8 blijkt, dat bij deze verhouding van $Ca : P 50$ I.E. niet in staat zijn, door 5 weken behandeling, 5 weken oude rachitische kuikens te genezen. Eenige invloed op de groei kon niet worden waargenomen.

Uit proef 10 volgt, dat bij een verhouding van $Ca : P = 5 : 1$ 100 en 350 I.E. niet in staat zijn rachitische kuikens van 5 weken oud in een tijdsverloop van 8 weken te genezen, terwijl deze dieren buiten gehuisvest waren en gedurende die tijd 358 uren zon en een gemiddeld vochtigheidsgehalte van 68 % werden geregistreerd. Wel hadden deze hoeveelheden een gunstige invloed op de groei der dieren. Dit aantal antirachitische eenheden + de antirachitische werkzaamheid van de zon waren dus niet in staat de rachitogene werking van dit dieet op te heffen.

DOHYFRAL.

Prophylactisch.

Is de verhouding van $Ca : P = 1 : 1$, zoals in proef 11, dan ziet men, dat 100 en 200 I.E. in staat zijn rachitis te voorkomen bij kuikens, die van hun 1ste tot hun 7de levensweek in donker op dit voedsel gehouden worden. Ook ziet men, dat er door de verstrekte hoeveelheden Dohyfralolie een gunstige werking op de groei wordt uitgeoefend, terwijl er tusschen de beide doseeringen in dit opzicht geen verschil is op te merken.

Ook in proef 7 ziet men, dat door 100 I.E. zoowel bij witleghorns als bij noord-hollandsche blauwen rachitis wordt voorkomen en dat daardoor tevens een gunstige invloed op de groei uitgeoefend wordt.

De resultaten van proef 8 doen zien, dat bij een verhouding van $Ca : P = 3 : 1$ 100 I.E. niet instaat zijn kuikens, die van hun 1ste tot 5de week op dit voedsel in donker gehouden worden, tegen rachitis te beschermen. Er is ook hier geen invloed op de groei waar te nemen.

Uit proef 6 blijkt, dat bij een verhouding van Ca : P = 5 : 1 220 I.E. in staat zijn kuikens tegen rachitis te behoeden, wanneer de proef begonnen wordt met dieren van 1 week oud en voortgezet wordt gedurende 7 weken. Hoeveelheden van 50 en 125 I.E. zijn daartoe niet in staat, hoewel een hoeveelheid van 125 I.E. wel een duidelijke invloed heeft op de ernst der processen. Van geen der gegeven hoeveelheden kon eenige invloed op de groeisnelheid worden opgemerkt.

Bij deze zelfde verhouding zijn, zooals proef 10 laat zien, 100 en 200 I.E. niet in staat rachitis te voorkomen, bij kuikens, die van hun 1ste tot 5de week op dit voedsel in donker gehouden worden. Ook in deze proef werd de groei door de gegeven hoeveelheden Dohyfralolie niet beïnvloed. Tusschen de twee gebruikte doseeringen kon geen verschil worden opgemerkt, wat betreft de ernst der processen en de groeisnelheid.

Therapeutisch.

Uit proef 7 blijkt, dat bij een Ca : P verhouding = 1 : 1 100 I.E. niet in staat zijn, 5 weken oude rachitische kuikens in een tijdsverloop van 5 weken te genezen. Deze proef werd daarna voortgezet samen met rachitische dieren uit proef 8, gedurende 6 weken, waarbij ook het voedsel het zelfde was als in proef 7, terwijl aan dit voedsel per dier per dag 371 I.E. werden toegevoegd. Aan het einde dezer 6 weken is wel een belangrijke verbetering ingetreden, maar nog geen volkomen herstel. Daar er bij deze proef geen contrôle-groep aanwezig was, is het niet mogelijk na te gaan of er een gunstige invloed op de groei werd uitgeoefend.

Ook in het therapeutische deel van proef 8 werd een groep dieren gevoed met een dieet met een Ca : P verhouding = 1 : 1. De dieren waren bij de aanvang van deze proef 5 weken oud. In een tijdsverloop van 5 weken trad geen herstel op van de rachitische verschijnselen, terwijl ook geen gunstige invloed op de groei werd uitgeoefend, wanneer aan dit dieet 100 I.E. Dohyfralolie waren toegevoegd.

Bij een verhouding van Ca : P = 3 : 1 werd geen genezing verkregen in 5 weken, wanneer aan het voedsel van rachitische kuikens van 5 weken oud, 200 I.E. werden toegevoegd, zooals in proef 8 het geval was. Wel werd door deze hoeveelheid een gunstige invloed op de groei uitgeoefend.

Uit proef 10 blijkt, dat 100 en 350 I.E. bij een Ca : P verhouding = 5 : 1 niet in staat zijn 5 weken oude rachitische kuikens, die buiten geplaatst waren in 8 weken te genezen. In dit tijdsverloop werden 358 uren zon en een gemiddeld vochtigheidsgehalte van 68 % geregistreerd. Op de groei werd door deze hoeveelheden wel een gunstige invloed uitgeoefend. Tusschen de beide doseeringen was geen belangrijk verschil waar te nemen. Deze hoeveelheden vitamine D, gevoegd bij de antirachitische werking der zombestraling zijn dus niet in staat de rachitogene werking van dit dieet op te heffen.

VIGANTOL.

Prophylactisch.

100 en 200 I.E. Vigantolie blijken in proef 11 in staat te zijn kuikens tegen rachitis te beschermen. De dieren waren bij de aanvang der proef 1 week oud en de proef werd gedurende 6 weken voortgezet. De verhouding van Ca : P in deze proef was 1 : 1. De bescherming, die door deze hoeveelheden Vigantol verkregen werd, was geen volledige. In beide groepen traden enkele lichte gevallen van rachitis op. Wel oefenden deze hoeveelheden een invloed ten goede op de groei uit. Tusschen de beide doseeringen is wel eenig verschil waar te nemen; in de groep, die 100 I.E. ontvangt, is de gemiddelde graad van rachitis, die optreedt, iets hooger dan in de groep, die 200 I.E. verstrekt werd. Ook is de groei in deze laatste groep iets beter dan in de eerste.

Uit proef 9 blijkt, dat bij een Ca : P verhouding = 3 : 1 1500 I.E. bij kuikens, die van hun 1ste tot hun 7de week in donker op dit voedsel gehouden worden, in staat zijn rachitis te voorkomen. Ook 750 I.E. geven onder dezelfde omstandigheden bescherming tegen rachitis, al is ook hier de bescherming niet volledig. In beide groepen treden enkele gevallen van rachitis op. Door beide doseeringen wordt wel een gunstige invloed op de groei uitgeoefend.

Bij een verhouding van Ca : P = 5 : 1, zoals in proef 10, geven 100 en 200 I.E. in een tijdsverloop van 4 weken geen beschutting bij kuikens, die van hun 1ste tot hun 5de week op dit voedsel gehouden werden. Ook op de groei wordt door deze hoeveelheden geen invloed uitgeoefend.

Therapeutisch.

Is de verhouding van Ca : P = 1 : 1, dan blijkt uit proef 12, dat 50 I.E. niet in staat zijn, 5 weken oude rachitische kuikens te genezen in een tijdsverloop van 4 weken. Geeft men daarna gedurende 7 weken 200 I.E., dan ziet men evenmin herstel optreden. Ook op de groei wordt noch in de eerste, noch in de tweede periode eenige gunstige invloed uitgeoefend.

Proef 9 laat zien, dat bij een verhouding van Ca : P = 3 : 1 3000 I.E. bij 7 weken oude rachitische kuikens in 6 weken wel een groote verbetering tot stand brengen, echter nog geen volledig herstel. Bij deze proef is door het ontbreken van een contrôle-groep niet vast te stellen of er ook een gunstige invloed op de groei plaats had.

Uit proef 10 blijkt, dat bij een verhouding van Ca : P = 5 : 1 100 en 350 I.E. niet in staat zijn, 5 weken oude rachitische kuikens, die buiten geplaatst waren, in een tijdsverloop van 8 weken te genezen. In deze tijd werden 358 uren zon bij een gemiddeld vochtigheidsgehalte van 68 % geregistreerd. Wel is hier een gunstige invloed op de groei merkbaar, het duidelijkst in de groep, die 350 I.E. ontving. Ook hier zijn de gegeven hoeveelheden Vigantolie samen met de ultraviolette bestraling van het zonlicht, niet voldoende om de rachitische werking van het dieet op te heffen.

LEVERTRAAN.

Prophylactisch.

Bij het beoordeelen der resultaten moet men rekening houden met het feit, dat in de proeven van twee soorten levertraan gebruik gemaakt werd; in proef 12 namelijk werd Jecovitol gebruikt, een levertraansoort, die 125 I.E. per cc. bevat, terwijl in de andere proeven een levertraansoort werd gebruikt, die 1000 I.E. per gram bevatte.

Uit proef 11 blijkt, dat bij een verhouding van $\text{Ca} : \text{P} = 1 : 1$ 100 I.E. in staat zijn jonge kuikens tegen rachitis te beschermen, wanneer deze van hun 1ste tot 7de week op dit voedsel in donker gehouden worden. Van deze hoeveelheid kon echter geen gunstige invloed op de groei opgemerkt worden. Ofschoon deze dieren geen rachitische verschijnselen vertoonden, was de groei iets minder snel, dan die der rachitische contrôle-dieren. Ook klinisch waren de dieren uit deze groep minder krachtig ontwikkeld, dan die uit de andere groepen, die eveneens een vitamine-preparaat ontvingen.

Uit de resultaten van proef 8 blijkt, dat bij een verhouding van $\text{Ca} : \text{P} = 3 : 1$ in het voedsel, 100 I.E. niet in staat zijn kuikens, die van hun 1ste tot hun 5de week op dit voedsel in donker gehouden worden, tegen rachitis te beschermen. Ook hier valt het op, dat de groei in deze groep weer belangrijk slechter is, dan die in de andere groepen. Daarnaast ziet men, dat de graad van rachitis minder ernstig is. Waarschijnlijk zal door de langzamer groei der dieren er niet zoo snel een te kort optreden aan, voor de op- en ombouw van het been benodigde hoeveelheid Ca en P-zouten.

Bij een $\text{Ca} : \text{P}$ verhouding $= 5 : 1$ blijken in proef 6 50 en 125 I.E. niet in staat te zijn, rachitis bij kuikens in donker gehouden te voorkomen. De dieren waren bij de aanvang der proef 1 week oud en de proef werd gedurende 7 weken voortgezet. 250 I.E. geven ook geen volledige bescherming, daar ook hier een lichte graad van rachitis optreedt. In de groepen, die 125 en 250 I.E. krijgen, valt weer op dat de groei slechter is dan in de contrôle-groep.

Ook in proef 10 ziet men, dat bij deze verhouding van Ca en P in het voedsel, 100 en 200 I.E. niet in staat zijn kuikens, die van hun 1ste tot hun 5de levensweek op dit voedsel in donker gehouden worden tegen rachitis te beschermen. Tevens valt ook hier weer op de belangrijk slechtere groei van de dieren, terwijl ook de graad van rachitis, die optreedt, minder ernstig is dan in de andere groepen.

Therapeutisch.

In proef 12, waarin de verhouding van $\text{Ca} : \text{P} = 1 : 1$ is, wordt als therapeutikum gebruik gemaakt van Jecovitol. Het blijkt, dat bij deze verhouding 50 I.E. van dit preparaat in staat zijn rachitische kuikens van 4 weken oud in een tijdsverloop van 8 weken te genezen. In deze proef is de groei van de dieren, die deze levertraansoort ontvingen veel beter dan die der andere dieren.

Uit proef 8 blijkt, dat bij een verhouding van $\text{Ca} : \text{P} = 3 : 1$ 200 I.E. niet in staat zijn in 5 weken, 5 weken oude rachitische kuikens te genezen. De groei van deze dieren was even goed als die der andere dieren in deze proef.

Bij een verhouding van $\text{Ca} : \text{P} = 5 : 1$ zijn 100 en 350 I.E. niet in staat, 5 weken oude rachitische kuikens, die buiten geplaatst zijn in een tijdsverloop van 8 weken te genezen, zooals blijkt uit proef 10. In deze periode werden 358 uren zon en een gemiddeld vochtigheidsgehalte van 68 % geregistreerd. Deze hoeveelheden oefenen ook geen merkbare invloed op de groei uit.

EEN VERGELIJKING TUSSCHEN DE PREPARATEN.

Prophylactisch.

Wanneer men bovenstaande proeven beschouwt, dan ziet men, dat bij een verhouding van $\text{Ca} : \text{P} = 1 : 1$ in het voedsel, 100 I.E. van alle gebruikte preparaten bescherming geven tegen rachitis. Deze hoeveelheid kan zelfs nog belangrijk kleiner zijn, zooals blijkt uit proef 5, waar 12,5 I.E. Davitamon D reeds voldoende beschutting geven.

Bij een verhouding $\text{Ca} : \text{P} = 3 : 1$ in het voedsel ziet men in proef 9 750 I.E. Vigantol bescherming geven, terwijl in proef 3 125 I.E. Davitamon D dit ook reeds doen. Deze bescherming is echter niet absoluut, in beide gevallen ontstaat een lichte graad van rachitis, die gemiddeld voor beide groepen even ernstig is. Hieruit volgt dus, dat de werking van Davitamon D zeker sterker moet zijn dan van een gelijk aantal internationale eenheden van Vigantol. Hetzelfde blijkt ook uit proef 11, waar bij een $\text{Ca} : \text{P}$ verhouding $= 1 : 1$ 100 en 200 I.E. Vigantol niet een absolute bescherming geven tegen rachitis, terwijl gelijke hoeveelheden der andere preparaten dit wel doen.

Vergelijkt men de werking van Davitamon D met Dohyfral en levertraan, dan ziet men, dat 125 I.E. Davitamon D wel en 75 I.E. Davitamon D géén bescherming geven tegen rachitis, 100 I.E. Dohyfral en 100 I.E. Levertraan geven ook geen bescherming. De werkzaamheid van deze laatste twee preparaten zal dus in geen geval belangrijk sterker zijn, dan die van Davitamon D. De verhouding $\text{Ca} : \text{P}$ is hier 3 : 1.

Is de verhouding in het voedsel van $\text{Ca} : \text{P} = 5 : 1$ dan ziet men, dat 220 I.E. Dohyfral en 250 I.E. Levertraan bescherming geven, terwijl 200 I.E. of minder van deze preparaten dit niet doen. Ook 200 I.E. Davitamon D geven geen bescherming. Hieruit volgt, dat de werking van Davitamon D dus niet sterker is, dan die van Dohyfral of Levertraan, terwijl de werkzaamheid van deze laatste preparaten overeenkomt.

Uit deze gegevens volgt dus, dat de werkzaamheid van Davitamon D, Dohyfralolie en Levertraan bij een gelijk aantal internationale eenheden bevredigend met elkaar overeenkomt, terwijl de werkzaamheid van Vigantol daarentegen minder is.

Therapeutisch.

Daar het aantal proeven, dat therapeutisch genomen werd, minder groot was, is uit de verkregen cijfers, wat de vergelijkbare waarden der gebruikte preparaten betreft, minder af te lezen. Het eenige opvallende in de proeven is, dat bij een verhouding van $\text{Ca} : \text{P} = 1 : 1$ in het voedsel zooals in proef 12. 50 I.E. Jecovitol herstel geven, terwijl 50—200 I.E. der andere gebruikte preparaten dit niet doen. Men krijgt hier de indruk, dat deze traansoort werkzamer is, dan de andere gebruikte vitamine D preparaten. Verder valt het in deze proeven op, dat het alleen met groote hoeveelheden vitamine D gelukt is kuikens van rachitis te genezen.

Uit de proeven is dus af te lezen, dat er geen belangrijke verschillen gevonden werden tusschen de therapeutische werkzaamheid der verschillende vitamine D preparaten, uitgezonderd de Jecovitol, terwijl er bovendien uit blijkt, dat alleen zeer groote hoeveelheden vitamine D een therapeutische werkzaamheid uitoefenen.

Daar de therapeutische proeven dieren betroffen van zeer verschillende leeftijd en met een zeer verschillende voorgeschiedenis, is het niet mogelijk uit de therapeutische proeven conclusies te trekken over het verschil in werkzaamheid van de gebruikte preparaten.

DE INVLOED VAN DE HOEVEELHEID EN DE VERHOUDING VAN Ca EN P IN HET VOEDSEL.

Wanneer men de resultaten der verschillende proeven beschouwt, dan valt direct op, dat deze resultaten beheerscht worden door de verhouding van Ca en P in het voedsel. Deze verhouding wisselde in de verschillende proeven van 1 : 1 tot 5 : 1, terwijl steeds de beste resultaten verkregen werden met een lage Ca : P verhouding. Verder valt op, dat de hoeveelheid van deze beide stoffen, die in het voedsel voorkomt van veel minder belang is. Wanneer men ziet, dat de hoeveelheid van Ca en P bij een verhouding van 1 : 1, in de eerste proeven 0,33 % is en in de latere proeven 0,40 % en men vergelijkt deze cijfers met de door Wilgus (124) gevonden cijfers, die vond, dat 0,67 % Ca en 0,5 % P bij een optimale hoeveelheid vitamine D voldoende zijn om een normale beenontwikkeling bij het groeiende kuiken te waarborgen, dan volgt hieruit wel, dat de hoeveelheid Ca dan in elk geval te gering zou zijn, terwijl ook de hoeveelheid P aan de lage kant is geweest. Toch ziet men, dat bij deze verhouding en na toevoegen van 100 I.E. per dier per dag een normale beenontwikkeling optreden, terwijl bij een Ca : P verhouding = 5 : 1, waar de hoeveelheid Ca 1,98 % bedraagt en de hoeveelheid P 0,394 %, toevoegen van 100 I.E. niet in staat is, een normale beenontwikkeling te bewerkstelligen. (Vergelijk de proeven 10 en 11).

Hetzelfde kan men ook in proef 5 waarnemen. Ook zonder toevoegen van vitamine D is de graad van rachitis, die optreedt in de groep, die een voedsel ontvangt met een verhouding van $\text{Ca} : \text{P} = 1 : 1$,

belangrijk minder, dan in de groep, die een voedsel ontvangt met een verhouding van Ca : P = 5 : 1. De hoeveelheid P in deze proeven was vrijwel gelijk.

Ook wanneer men de gewichten der contrôle-dieren in de proeven 10 en 11 vergelijkt, dan ziet men, dat de dieren, die een rantsoen krijgen met een verhouding van Ca : P = 1 : 1, ondanks de geringe hoeveelheid Ca, die het voedsel bevat toch beter groeien en een minder ernstige graad van rachitis vertoonen, dan de dieren, die een dieet krijgen met een verhouding Ca : P = 5 : 1.

Uit het bovenstaande volgt, dat bij het ontstaan van rachitis de verhouding van Ca : P de belangrijkste factor is, terwijl de absolute hoeveelheid van minder belang is.

Bij de therapeutische proeven valt dit niet zoo direct op, daar in de meeste proeven de gegeven hoeveelheden vitamine D te gering waren om genezing te verkrijgen. Vergelijkt men echter de dieren, die buiten geplaatst werden, dan ziet men bij een verhouding van Ca : P = 1 : 1 en van Ca : P = 3 : 1 steeds herstel optreden, terwijl bij een verhouding van Ca : P = 5 : 1 geen genezing tot stand komt. Ook hier bepaalt de verhouding van Ca en P in het voedsel weer de rachitogene werking van het dieet.

Bij het voorkomen van rachitis in de practijk zal men de oorzaak dus gewoonlijk moeten zoeken in een, voor de kuikens ongunstige verhouding van Ca en P in het voedsel.

De invloed der gebruikte vitamine D preparaten op de groei.

TABEL. 1.

Prophylactisch.

Betere groei	Ca: P = 1 : 1		Ca: P = 3 : 1		Ca: P = 5 : 1	
	wel	geen	wel	geen	wel	geen
Davitam D	3*		50-125	5		
	4		50-75	6,25-37,5		
	5	12,5-125				12,5-125
	8			25		
	10					100-200
	11	100				
Dohyfral	6					50-220
	7	100				
	8			100		
	10					100-200
	11	100-200				
Levertraan	6				50	125-250
	8			100		
	10					100-200
	11		100			
Vigantol	9		750-1500			
	10					100-200
	11	100-200				

*) Nummers der proeven.

TABEL 2.

Therapeutisch.

Betere groei	Ca : P = 1 : 1		Ca : P = 3 : 1		Ca : P = 5 : 1	
	wel	geen	wel	geen	wel	geen
Davitamon D	4 10 5		500-750	125-250	100-350	
Dohyfral	8 10	125			100-350	
Levertraan	10 12	100				100-350
Vigantol	10 12	50 (J)**			100-350	
		50-200				

**) Jecovitol.

Prophylactisch.

Uit deze tabellen is af te lezen, dat bij een verhouding van Ca : P = 1 : 1 in het voedsel, Davitamon D, Dohyfral en Vigantol in de gegeven hoeveelheden steeds een gunstige invloed op de groei uitoefenden. Alleen levertraan had in de gegeven hoeveelheid van 100 I.E. geen groeibevorderende invloed. Men moet er bij het beoordeelen van deze proeven echter rekening mee houden, dat men hier een vergelijk maakt tusschen gezonde en rachitische dieren. Alleen voor de levertraan geldt, dat ondanks de normale beenontwikkeling onder invloed der gegeven hoeveelheid vitamine D, de groei minder snel is, dan bij de rachitische contrôle-dieren.

Bij een Ca : P verhouding = 3 : 1 ziet men wisselende resultaten. Deze resultaten zijn afhankelijk van het al of niet ontstaan van rachitis bij de dieren. De eenige uitzondering hierop vormen de proeven 3 en 4. De gevonden cijfers in deze proeven zijn echter niet van groote waarde, door de groote sterfte, die in de contrôlegroepen optrad.

Toch valt het op, dat het hier alleen de grootste hoeveelheden Davitamon D zijn, die een duidelijke invloed op de groei te zien geven.

Bij een verhouding van Ca : P = 5 : 1 ziet men, dat slechts in één geval een gunstige invloed op de groei valt waar te nemen. Het betreft hier proef 6, waar men eenige invloed kan vaststellen van de gegeven hoeveelheid van 50 I.E. Levertraan, terwijl grotere hoeveelheden van dit preparaat geen gunstige invloed hadden. Ook van de andere preparaten kon bij deze verhouding in het voedsel geen duidelijke invloed op de groei worden waargenomen.

Therapeutisch.

Hier ziet men, dat bij een verhouding van $\text{Ca} : \text{P} = 1 : 150$ I.E. Jecovitol een gunstige invloed op de groei uitoefenen.

Hetzelfde ziet men bij een verhouding $\text{Ca} : \text{P} = 3 : 1$ van 500—750 I.E. Davitamon D. In beide gevallen waren de gegeven hoeveelheden in staat genezing der rachitische processen te geven.

In proef 10 ziet men een gunstige invloed van 100—350 I.E. van Davitamon D, Dohyfral en Vigantol. Gelijke hoeveelheden Levertraan hebben geen invloed op de groei. In deze proef bleven de dieren rachitische verschijnselen vertoonen.

Samenvatting.

Alleen dan wordt door de preparaten Davitamon D, Dohyfral en Vigantol een gunstige invloed op de groei uitgeoefend, wanneer de gegeven hoeveelheden tevens een gunstige invloed op het voorkomen of genezen van rachitische processen hebben. Hetzelfde geldt niet voor de gebruikte levertraan, deze oefent geen gunstige invloed op de groei uit, ook niet wanneer wel een gunstige invloed op de rachitische processen wordt uitgeoefend.

Op deze regel komen echter vrij veel uitzonderingen voor, daarom is het niet mogelijk de groeisnelheid te gebruiken als criterium voor het al of niet ontstaan van rachitis.

DE INVLOED DER ZONBESTRALING.

In vier proeven werd gebruik gemaakt gedurende langere of kortere tijd van de bestraling met zonlicht om rachitische processen tot genezing te brengen.

In proef 1 betrof het twee groepen rachitische kuikens, die 13 weken oud waren en waarvan de eene groep gevoed werd met de rachitogene kost met een verhouding van $\text{Ca} : \text{P} = 3 : 1$ en de andere groep met een voedsel, dat uit de handel betrokken was en waarvan de samenstelling niet bekend was. In de voorproefperiode van deze proef was wel gebleken, dat deze kost voldoende antirachitische werkzaamheid bezat om kuikens tegen rachitis te beschermen, wanneer deze vanaf hun geboorte tot hun 4de week op dit voedsel binnen gehouden werden. De tijd, gedurende welke de dieren buiten gehuisvest waren, viel in de maanden Juli en Augustus. In deze tijd werden door het Kon. Ned. Meteorologisch Instituut te de Bilt 202 uren zon genoteerd en een gemiddeld vochtigheidsgehalte van 75 %. In deze periode groeiden de dieren snel en ook in de rachitische processen trad spoedig verbetering op. De antirachitische werking van de bestraling met zonlicht was dus groot genoeg om de rachitogene werking van het dieet op te heffen en bovendien werd een gunstige invloed op de groei uitgeoefend. De dieren, die de uit de handel betrokken kost ontvingen, herstelden nog sneller, terwijl ook de groei in deze groep nog beter was. Dit voedsel

bevatte behalve een hoeveelheid vitamine D, mogelijk nog andere bestanddeelen, die een gunstige invloed op de groei hadden.

Ook in proef 4 werd de bestraling met zonlicht als therapeuticum voor rachitische processen toegepast. Het betrof hier kuikens van 15 weken oud, die gehouden werden op het rachitogene voedsel met een verhouding van $Ca : P = 3 : 1$. De dieren werden buiten geplaatst in de maand Juni, terwijl gedurende deze periode 177 uren zon werden geregistreerd en het gemiddelde vochtigheidsgehalte 66 % bedroeg. In deze tijd trad bij de dieren, die 125—750 I.E. Davitamon D per dier per dag toegevoegd kregen, herstel op, terwijl de groep, die alleen de rachitogene kost ontving wel verbeterde, maar in dit tijdsverloop niet geheel herstelde. De bestraling met ultraviolet licht alleen was dus niet niet in staat in de drie weken, die de proef duurde, volledig herstel te geven.

In proef 5 kan men zien, dat ook hier de zonbestraling als therapeuticum aangewend werd. Het betrof hier twee groepen rachitische dieren van 6 weken oud, die in de maanden Juni en Juli buiten geplaatst werden. Er werden in deze tijd 239 uren zon en een gemiddeld vochtigheidsgehalte van 65 % genoteerd. De eene groep ontving de rachitogene kost, die een verhouding van $Ca : P = 1 : 1$ had, zonder eenige toevoeging en de andere groep ontving deze kost met 125 I.E. Davitamon D. Op de groei werd door de bestraling met ultraviolet licht geen merkbare invloed uitgeoefend, zooals blijkt uit een vergelijk met de gewichten van de andere groepen kuikens uit deze proef, die binnen gehuisvest bleven. In 5 weken tijds trad in beide buiten geplaatste groepen herstel op, maar in de groep, die Davitamon D kreeg, geschiedde dit iets sneller, dan in de andere groep.

Ook in proef 10 werd de zon als therapeuticum voor rachitische processen gebruikt. Het betrof hier 5 weken oude rachitische dieren, die buiten gehuisvest werden in de maanden Mei en Juni. Als voedsel ontvingen ze de rachitogene kost, die een $Ca : P$ verhouding $= 5 : 1$ had. In de 8 weken, die de proef duurde werden 358 uren zon geregistreerd en een gemiddeld vochtigheidsgehalte van 68 %. De proef betrof 9 groepen van dieren, die 100 en 350 I.E. ontvingen, respectievelijk van Davitamon D, Dohyfral, Vigantol en Levertraan, met daarnaast een contrôle-groep, die geen vitamine D preparaat ontving. In 8 weken was in geen der groepen een volledig herstel opgetreden. Alleen de groep, die 350 I.E. Vigantololie ontving en de contrôle-groep vertoonden nog slechts een lichte graad van rachitis. Wel was in alle groepen in dit tijdsverloop eenige verbetering opgetreden. Een gunstige invloed op de groei kon men opmerken in de groepen, die Davitamon D, Dohyfral en Vigantol kregen, de levertraangroepen en de contrôle-groep groeiden minder snel.

De zon was dus met en zonder toevoeging van vitamine D niet in staat de rachitogene werking van dit dieet op te heffen in de tijd van 8 weken, hoewel er in dit tijdsverloop wel een verbetering was te constateeren.

Samenvatting.

Door de bestraling met zonlicht wordt steeds een gunstige werking op de rachitische processen waargenomen.

Bij een verhouding van $Ca : P = 3 : 1$ en van $Ca : P = 1 : 1$ in het voedsel is de antirachitische werkzaamheid der zonbestraling groot genoeg om in 5 weken de rachitogene werking van het dieet op te heffen.

Bij een verhouding van $Ca : P = 5 : 1$ in het voedsel treedt in een tijdsverloop van 8 weken, gedurende welke tijd de dieren buiten gehuisvest zijn, geen volledig herstel op; de antirachitische werkzaamheid der ultraviolette stralen in het zonlicht is hier dus niet groot genoeg om de rachitogene werking van het dieet op te heffen.

Toevoegen van vitamine D preparaten ondersteunt de werking van het zonlicht en versnelt het herstel der rachitische processen.

DE MOGELIJKHEID VAN HET STANDAARDISEEREN VAN VITAMINE D PREPARATEN MET BEHULP VAN KUIKENS.

De tweede vraag, die bij het bewerken van dit proefschrift gesteld werd, luidde: Is het mogelijk met behulp van kuikens vitamine D preparaten te standaardiseeren en zoo ja, levert deze methode belangrijke voordeelen boven de tot nu toe algemeen gebruikelijke methode met ratten?

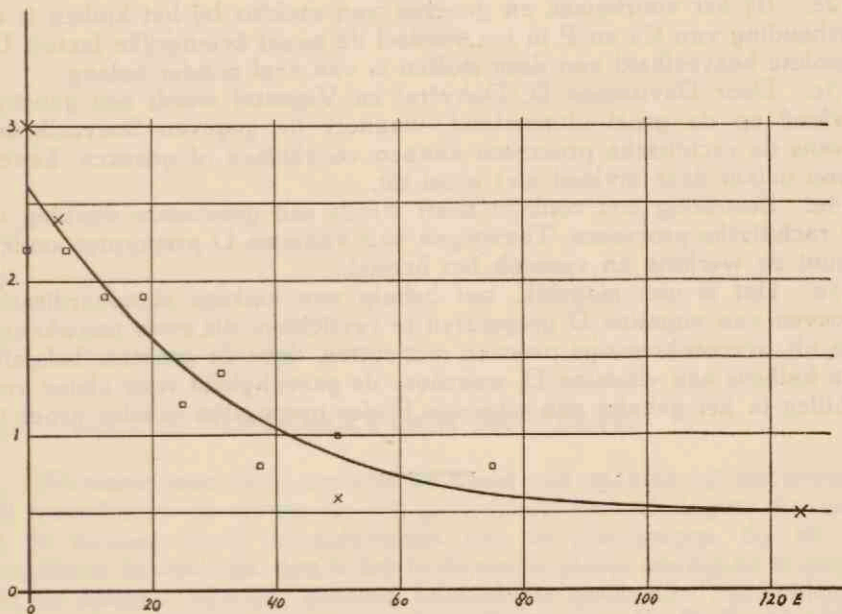
Om deze vraag te kunnen beantwoorden werd nagegaan, welke resultaten in de verschillende proeven met een bepaald middel bij een bepaald voedsel en in een bepaalde tijd verkregen werden.

In de onderstaande curve ziet men de resultaten, die bereikt werden met Davitamon D, bij een verhouding van $Ca : P = 3 : 1$ in het voedsel in de tijd van 4 weken.

Met de andere vitamine D preparaten en bij andere verhoudingen van $Ca : P$ in het dieet werden minder uitgebreide proeven genomen, waardoor het niet mogelijk was hiervan een curve te construeeren, die voldoende nauwkeurigheid geeft.

Uit deze curve is af te lezen, dat er wel een duidelijk verband is tusschen de gegeven dosis van het preparaat en de graad van rachitis, die optreedt, maar tevens komen vrij groote afwijkingen van deze kromme voor. Wanneer 37,5 I.E. en 75 I.E. in 4 weken een gelijke graad van rachitis doen ontstaan, is het duidelijk dat op deze wijze gemakkelijk fouten van 100 % gemaakt kunnen worden.

De oorzaak van deze groote fout is gelegen in de snelle groei der dieren, waardoor de behoefte aan vitamine D, noodig om bij een ongunstige verhouding van Ca en P in het voedsel zoodanig regelend op te treden, dat nog een normale beenontwikkeling tot stand komt, zeer groot is. Door deze grootere behoefte aan vitamine D is de gevoeligheid voor kleine verschillen in de verstrekte dosis, gering.



De röntgenologische afwijkingen na 4 proefweken bij een verhouding van Ca: P = 3 : 1 in het voedsel en bij verschillende doseeringen van Davitamon D.

Ook bij de therapeutische proeven ziet men hetzelfde, daar de hoeveelheid vitamine D, die herstel der rachitische processen geeft, nog veel grooter moet zijn.

Uit deze resultaten volgt, dat de voordeelen, die het gebruik van kuikens voor standaardisatieproeven zouden opleveren en die bestaan uit het gemakkelijk fokken en huisvesten bij goedkope aanschaffing en het gemakkelijker fotografeeren der dieren, niet opwegen tegen de groote nadeelen. Deze nadeelen zijn gelegen in de mindere gevoeligheid der kuikens voor kleine verschillen in de doseering van het verstrekte preparaat en in de langere duur der proeven.

Wel is het mogelijk met behulp van kuikenproeven een indruk te krijgen over de werkzaamheid van een preparaat.

CONCLUSIE'S.

1e. Bij een gelijk aantal internationale eenheden komt de werkzaamheid van Davitamon D, Dohyfral en Levertraan ter voorkoming van rachitische processen bij kuikens overeen. Vigantol is bij een gelijk aantal eenheden minder werkzaam.

2e. Bij het voorkomen en genezen van rachitis bij het kuiken is de verhouding van Ca en P in het voedsel de meest belangrijke factor. De absolute hoeveelheid van deze stoffen is van veel minder belang.

3e. Door Davitamon D, Dohyfral en Vigantol wordt een gunstige invloed op de groei uitgeoefend, wanneer de gegeven hoeveelheden tevens de rachitische processen kunnen voorkomen of genezen. Levertraan oefent deze invloed niet altijd uit.

4e. Bestraling met zonlicht heeft steeds een genezende werking op de rachitische processen. Toevoegen van vitamine D preparaten ondersteunt de werking en versnelt het herstel.

5e. Het is niet mogelijk, met behulp van kuikens standaardisatieproeven van vitamine D preparaten te verrichten, die even nauwkeurig zijn als overeenkomstige proeven met ratten, door de grootere behoefte van kuikens aan vitamine D, waardoor de gevoeligheid voor kleine verschillen in het gehalte aan vitamine D der preparaten minder groot is.

MICROSCOPISCH GEDEELTE.

Wanneer men het histologische beeld van rachitis bij het kuiken wil bestudeeren en tevens na wil gaan of de veranderingen, die men bij de kuikens vindt, overeenkomen met de afwijkingen, die bij de zoogdieren bekend zijn, dan is het in de eerste plaats noodig na te gaan, hoe de opbouw van het normale kuikenbeen geschiedt. Verschillende onderzoekers hebben deze vraag bestudeerd, o.a. H. B. Fell (27), W. Dantschakoff (20), W. Lubosch (64) en L. Schöney (97). Door al deze onderzoekers is de ontwikkeling echter niet verder nagegaan dan tot enkele dagen na de geboorte. Van de structuur en ontwikkeling van het been van het oudere kuiken wordt in de literatuur weinig vermeld.

Wat de rachitische afwijkingen bij de mensch betreft, deze vindt men uitvoerig beschreven o.a. door Von Recklinghausen, terwijl Marek en Wellmann (65) een onderzoek hebben ingesteld naar de veranderingen, die bij rachitis der zoogdieren optreden.

De voornaamste afwijkingen, die men zoowel bij de mensch als bij de zoogdieren zag optreden in het histologische beeld bij rachitis zijn: een in overmaat plaats vindende vorming van osteoïde weefsel, een typische storing in de enchondrale verbeening en als begeleidingsverschijnselen subperiostale verdikkingen, een ombouw van het beenmerg en het optreden van bloedinkjes.

De vorming van een overmatige hoeveelheid osteoïd werd ook door Marek en Wellmann gevonden bij de zoogdieren. Zij vonden steeds osteoïdzoomen aan de beenbalkjes, waarvan de breedte schommelde, afhankelijk van de snelheid der beenontwikkeling. Zelfs op plaatsen met bijzonder snelle groei komt het tot vorming van uitsluitend osteoïde balkjes. Zoowel de zuiver osteoïde, als de met osteoïd omzoomde balkjes vertoonen vaak osteoblasten en laten daardoor het osteoïd als een, zich in ontwikkeling bevindend, nieuwgevormd nog onverkalkt gebleven beenweefsel herkennen.

Wat de afwijking in de enchondrale beenvorming betreft, ook hierin vonden de bovengenoemde schrijvers geen belangrijk onderscheid tusschen de rachitis bij mensch en dier. Op de plaats der verkalkingszône geschiedt de verkalking van de overgebleven kraakbeengrondsubstantie niet regelmatig. De niet-verkalkte kraakbeengrondsubstantie verdwijnt, waardoor onregelmatige richtingsbalken ontstaan. Deze zeer onregelmatig gerangschikte resten van grondsubstantie worden door een vrij breede osteoidzoom omgeven en hierdoor ontstaan nu zeer onregelmatig gerangschikte enchondrale beenbalken.

Een storing in de periostale beenvorming komt hierin tot uiting, dat het periost op plaatsen waar schijnbaar bijzondere mechanische eischen aan het been gesteld worden, woekeringen doet ontstaan, doordat het periost op die plaats onregelmatig gerangschikte beenbalkjes gaat vormen.

Een ander verschijnsel is de verandering in de histologische structuur van het beenmerg. *Marek* en *Wellmann* verklaren dit als volgt: onder invloed der mechanische eischen raakt het bindweefselreticulum van het merg aan het woekeren, waardoor de vorming van specifieke mergcellen op de achtergrond treedt.

Een ander verschijnsel is de toename van het aantal osteoclasten. Bij gezonde dieren vindt men osteoclasten in de lakunen der beenbalkjes en in het merg, dat aan de beenbalkjes grenst, zeer zelden in de diepere lagen van het merg. Bij rachitische dieren is het aantal osteoclasten in het merg veel grooter. Het bleek echter, dat ook bij jonge snel groeiende dieren in het beenmerg in de eerste levensweken evenveel osteoclasten voorkomen.

Dikwijls ziet men ook het optreden van kleine bloedinkjes, vooral in de epiphysairlijn.

Uit het bovenstaande volgt dus, dat de veranderingen, die men in het histologische beeld van rachitis bij de mensch en bij de zoogdieren ziet optreden groote overeenkomst vertoonen, wanneer men rekening houdt met de verschillende graad van ontwikkeling van het skelet bij de aanvang der ziekte.

Wil men nagaan, welke veranderingen er in het histologische beeld van rachitis van het kuiken optreden, dan is het noodzakelijk, dat men nagaat hoe de normale beenopbouw van het kuiken plaats heeft, daar deze belangrijke afwijkingen vertoont met de beenarchitectuur der zoogdieren.

Hoewel in de literatuur over dit onderwerp weinig te vinden is, danken we aan *Miss Fell* (27) een studie over de fijnere histologische structuur van het been van het kuikenembryo, terwijl *Lubosch* (64) een meer vergelijkende studie gemaakt heeft over de beenopbouw van zoogdieren, vogels en lagere dieren.

De beenaanleg van een kuikenembryo van 52 uur bestaat uit een massa ongedifferentieerde mesenchylcellen, uitwendig bedekt door de epidermis, waaruit zich het kraakbeenige model van het been ontwikkelt.

De volgende stap in de ontwikkeling wordt gekarakteriseerd door de vorming van drie zônes van kraakbeencellen. De cellen in het midden, in de toekomstige diaphyse, vergrooten zich, worden veelhoekig en gaan degenereren. De tweede zône ligt aan beide zijden van de eerste en bestaat uit in de lengterichting afgeplatte cellen. De derde zône is de plaats waar de epiphyse gevormd wordt en ze bestaat uit ronde of veelhoekige cellen, die naar de oppervlakte meer afgeplat worden en het gewrichtskraakbeen gaan vormen. Er is geen scherpe scheiding tusschen de drie zônes.

In dit stadium gaan veranderingen in het mesenchym, dat het kraakbeenige model van het toekomstige been omgeeft, optreden. Men ziet het ontstaan van een perichondrium met een twee-lagige structuur, de buitenste de fibroblasten-laag en de binnenste de ostoblasten-laag. Vooral in de buitenste laag gaan bloedvaten optreden, terwijl het perichondrium, dat eerst alleen de diaphyse omsloot, zich nu tot de epiphyse gaat uitstrekken. Als de epiphyse zijn karakteristieke vorm gaat ontwikkelen, gaat het perichondrium zich afscheiden van het ongedifferentieerde weefsel en zet zich voort in de kap van platte cellen, die het gewrichtskraakbeen gaan vormen. De osteoblasten-laag eindigt op de overgang van epi naar diaphyse.

De beenvorming der vogels begint op dezelfde wijze als bij de lange beenderen der zoogdieren en zet in met een periostale beenvorming, waardoor een manchet van been om het midden der diaphyse gevormd wordt.

Op dit tijdstip is het eerste spoor van aantasten van het kraakbeen op te merken. Bloedvaten gaan de beenmanchet doorboren, terwijl osteoblasten en mesenchymweefsel megevoerd worden. De vaten gaan zich snel vertakken en vormen een groote holte in het midden der diaphyse binnenin de centrale beencylinder. Een groot aantal osteoblasten liggen verspreid in het mergweefsel of liggen tusschen het mergweefsel en het aangetaste kraakbeen. Ook reuzencellen ziet men optreden, die of vrij in het merg liggen of tegen de oppervlakten van het periostale been en het vervallende kraakbeen. De uitholling, die in het kraakbeen is ontstaan gaat zich spoedig uitbreiden in de richting der epiphyse. Echter breidt de mergholte zich epiphysewaarts niet uit door gelijkmatige afbraak van het kraakbeen, maar het merg vormt, in het begin vooral langs de rand, dus tusschen het periostale been en het centrale kraakbeen, uitloopers, die ver epiphysewaarts zich uitstrekken. Hierin vindt men bloedvaten met begeleidend mergweefsel. Miss Fell neemt aan, dat alle elementen van de vingervormig in het kraakbeen doordringende mergspruiten een chondrolytische werking hebben. De reuzencellen kunnen een destructieve werking hebben, maar in de vroege stadia der ontwikkeling zijn ze niet talrijk genoeg om de eenige of voornaamste oorzaak der erosie te zijn.

Terwijl de mergholte in de diaphyse gevormd wordt, treden ook mergspletten op in de epiphyse. De bloedvaten, die in het kraakbeen

doordringen, zijn niet afkomstig van de diaphyse, maar dringen zelfstandig in het kraakbeen der epiphyse in.

Op dit tijdstip wordt de laag van platte cellen duidelijker afgescheiden van de epiphyse en van het overgebleven kraakbeen der diaphyse. De cellen gaan in rijen liggen evenwijdig aan de lengte-as van het been. Bij het ééndagskuiken is dit duidelijk te zien.

Zooals reeds gezegd werd, veroorzaken de, in het kraakbeen der diaphyse doordringende mergspruiten, in de lengte van het been gerichte mergkanalen, die bloedvaten, mergcellen, reuzencellen en osteoblasten bevatten. Een dunne beenlaag wordt nu afgezet tegen de grondsubstantie van het aangetaste kraakbeen. Deze beenlaag is zeer incompleet, daar ze op vele plaatsen door uitbochtigen van het merg doorbroken en verwijderd wordt.

Het meest typische van deze enchondrale verbeening, vergeleken met die der zoogdieren is wel, dat in dit vroege stadium van enchondrale verbeening de ossificatie-zône en de groeizône van het kraakbeen nogal ver uiteen liggen (L u b o s c h).

Een ander typisch verschil betreft de afbraak van het kraakbeen, die grover geschiedt, waardoor groote stukken kraakbeen met nog intacte kraakbeencellen erin door been ingemetseld worden. S c h a f f e r zegt daarom dat er bij zoogdieren, waar bijna alle kapsels der kraakbeencellen geopend worden een „Einlagerung” van been plaats heeft, terwijl men bij de vogels, waar dit niet het geval is, meer van een „Auflagerung” kan spreken. Het is natuurlijk een graadsverschil en geen principieel verschil, want ook bij de zoogdieren vindt men vaak nog enkele intacte kraakbeencellen in de, door afgezet been ingesloten kraakbeengrondsubstantie. L u b o s c h raadt aan bij de zoogdieren van „intracartilagineuse” verbeening en bij vogels van een „intramedullaire” verbeening te spreken.

TECHNIEK VOOR HET MAKEN DER HISTOLOGISCHE PREPARATEN.

Direct na het dooden der dieren werden de beenderen ontdaan van de huid en de spieren en gefixeerd in 12 % neutrale formaline.

Voor de ontkalking werd gebruik gemaakt van salpeterzuur vlg. R o m e i s § 1291 en van trichloorazijnzuur. De ontkalking in trichloorazijnzuur geschiedde in een mengsel van gelijke deelen 10 % trichloorazijnzuur en 20 % formaline. De duur der ontkalking varieerde van enkele dagen tot enkele weken.

Het bleek, dat een ontkalking met trichloorazijnzuur verreweg de voorkeur verdiende, daar het weefsel nu veel beter kleurbaar was, terwijl bij ontkalking met salpeterzuur de kleur altijd eenigszins groezelig werd.

Wanneer de ontkalking ver genoeg voortgeschreden was, werden de preparaten ingesloten in olie-celloidine-paraffine, gesneden en ge-

kleurd met haematoxyline (volgens Weigert) en Van Gieson of met haemaluin en eosine. Enkele preparaten werden ook in paraffine ingesloten en hoewel het insluiten in celloidine-paraffine de voorkeur verdiende door het beter intact blijven van het weefsel, gelukte het toch wel, ook hiermede bruikbare preparaten te vervaardigen.

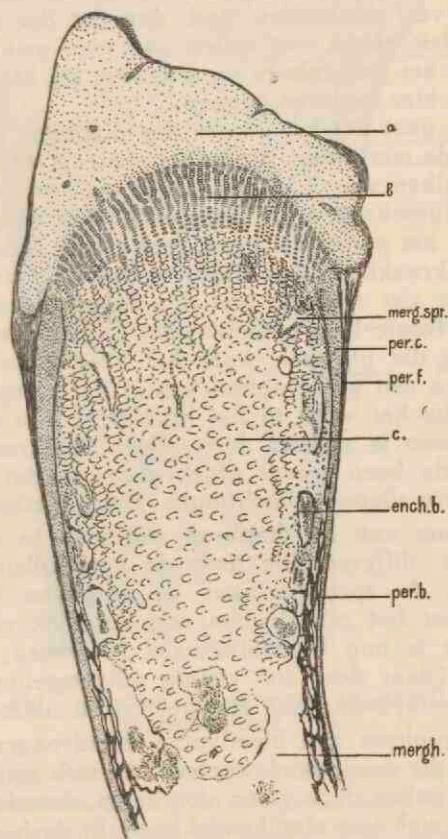


Fig. 1 Kuiken 2 dagen oud (Normaal)
proximale einde tibia.

DE NORMALE BEENONTWIKKELING VAN HET KUIKEN.

Bij het beschouwen van de coupe van de tibia van het kuiken van 2 dagen oud, fig. 1, ziet men dat dit beeld nog geheel overeenkomt met de beschrijving, die Miss Fell geeft van haar oudste kuikenembryonen. Heel duidelijk is nog de verdeling in drie zônes van cellen te zien, namelijk een kap van kraakbeencellen, die als epiphyse wordt be-

schouwd en die bestaat uit kleine cellen, met duidelijke kernen, daaronder een laag platte cellen, die in rijen evenwijdig aan de lengte-as van het been gerangschikt zijn en vervolgens het kraakbeen der diaphyse, waarvan de cellen meer gezwollen zijn en groote blazige kernen hebben. Opvallend hierbij is de verschillende kleurbaarheid in epi- en diaphyse. Het kraakbeen der epiphyse kleurt zich in de haematoxyline- van Gieson coupe veel donkerder rood, dan dat der diaphyse. De verdeling in deze drie zônes van cellen kan men gedurende de geheele ontwikkeling van het kuikenbeen waarnemen, bij het volwassen dier is deze verdeling echter verloren gegaan.

Geleidelijk aan gaat het kraakbeen der diaphyse plaats maken voor de voortschrijdende mergholte, die in het centrum der diaphyse is opgetreden. Bij dit kuiken van 2 dagen oud is de enchondrale verbeening nog niet ver voortgeschreden. De mergholte zendt mergspruiten tusschen het kraakbeen en het periostale been, terwijl ook enkele kanalen in het centrum van het kraakbeen der diaphyse doordringen. Tegen het aangetaste kraakbeen ziet men nu een dun laagje been afgezet, meestal bedekt door een fraaie laag osteoblasten. Ook reuzencellen zijn opgetreden, vooral op die plaatsen waar het kraakbeen aangetast wordt, maar ook ziet men een groot aantal vrij in het merg liggen, vooral in de mergspletten, die het verst in het kraakbeen zijn doorgedrongen en waar nog geen been is afgezet. Niet alleen het kraakbeen, maar ook het nieuwgevormde been wordt afgebroken, zoodat men vaak beenbalkjes ziet, waarin diepe uitbochtungen zijn opgetreden.

In het centrum van de diaphyse ziet men in dit stadium reeds celrijk merg met differentiatie naar de verschillende soorten mergcellen, terwijl in de spruiten naar de epiphyse het beeld minder celrijk is, waardoor het celreticulum nog duidelijk voor de dag komt. Op deze plaatsen is nog duidelijk waar te nemen, in de celloidineparaffine coupes (daar deze zoo weinig schrompeling vertoonen), dat de reuzen-cellen cytoplasmatisch met het celreticulum samenhangen.

Ook in de epiphyse zijn bloedvaten ingedrongen, zelfstandig van de peripherie uit, die omringend weefsel met zich mee gevoerd hebben. In de preparaten vallen deze vaten vooral op, doordat het omringende kraakbeenweefsel zich iets afwijkend kleurt. In de haematoxyline- van Gieson preparaten is de kraakbeengrondsubstantie duidelijker rood gekleurd. Het valt op, dat men in deze uithollingen wel bloedvaten en mergcellen vindt, maar dat osteoblasten nooit voorkomen.

De geheele diaphyse is omgeven door een laag van periostaal been, die zich tot de epiphyse voortzet. Buiten deze laag ziet men het periost, dat nog zeer duidelijk een twee-lagige bouw te zien geeft. De buitenste laag, die weinig celrijk is en een collageen-vezelige structuur heeft, zet zich voort in de epiphyse, vooral in de laag onder het articulerende kraakbeen, terwijl de binnenste celrijke laag ophoudt op de overgang naar de epiphyse.

Gaat men de ontwikkeling van het been bij een kuiken van 10

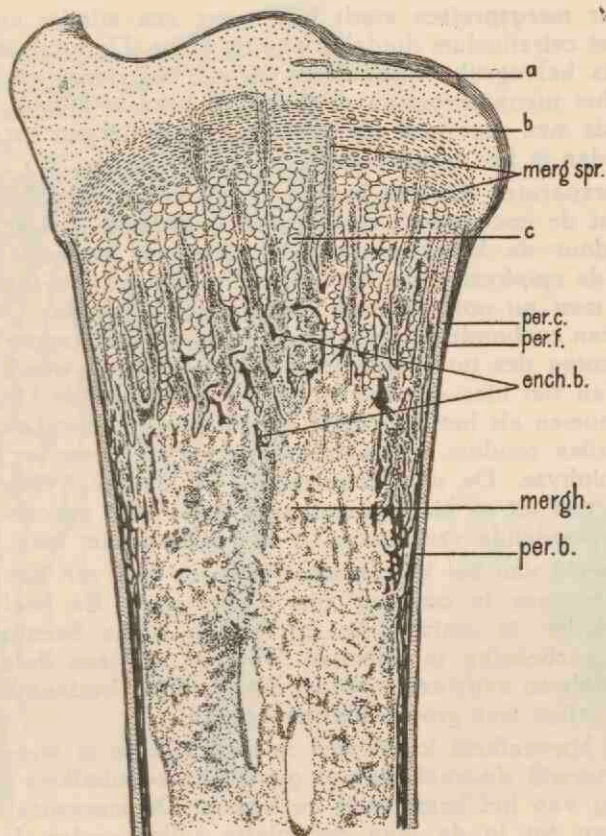


Fig. 2 Kuiken 10 dagen oud (Normaal)
proximale einde tibia.

dagen oud verder na, dan ziet men in fig. 2, dat de mergholte zich steeds verder epiphysewaarts uitstrekt. In dit beeld is te zien, dat het voortschrijden der mergspruiten niet geleidelijk gaat, maar dat enkele uitloopers als lange kanalen zeer ver epiphysewaarts reiken. Tusschen deze kanalen blijven vrij breede kraakbeenstrooken staan, waartegen vanuit het merg been wordt afgezet. Het gevolg is dus, dat in het zoo gevormde enchondrale been vrij veel kraakbeen met intacte kraakbeencellen ingesloten in hun kapsels, wordt ingesloten. De enchondrale verbeening heeft dus reeds belangrijke vorderingen gemaakt. Ook ziet men in dit stadium reeds, dat de zelfstandig in de epiphyse ingedrongen bloedvaten secundair verbinding hebben gekregen met enkele mergspruiten der diaphyse.

In het centrum van de diaphyse is het merg reeds zeer vetrijk geworden; daarbuiten volgt een zône, die veel mergcellen bevat en in de

uiteinden der mergspruiten vindt men weer een minder celrijk merg, waardoor het celreticulum duidelijk te zien komt. De totale hoeveelheid kraakbeen is belangrijk verminderd, terwijl ook weer een groot gedeelte van het nieuwgevormde enchondrale been is afgebroken. In dit stadium vindt men zeer veel reuzencellen, zoowel tegen het kraakbeen aan, als midden in het mergweefsel.

In de preparaten van het been van een kuiken van 21 dagen oud ziet men, dat de enchondrale verbeening geleidelijk aan verder is gegaan, waardoor de kraakbeenrest der diaphyse veel kleiner is geworden. In de epiphysen, die het gewricht vormen van tibia en metatarsus, ziet men nu ook duidelijk beenbalkjes optreden. Dit is echter geen vorm van enchondrale verbeening der epiphysen, maar de enchondrale verbeening der tarsaalbeentjes. Periostaal been wordt hier nooit gevormd. Men ziet hier, dat het kraakbeen ook dezelfde kleur en vorm heeft aangenomen als het kraakbeen der diaphyse, terwijl een laag van afgeplatte cellen rondom, een afscheiding vormt tegenover het kraakbeen der epiphyse. De mergkanalen, die in de epiphyse voorkomen breiden zich niet uit en hierin wordt ook nooit been gevormd. Dus een zelfstandig optredende verbeening in de epiphyse ziet men niet.

In het beeld van het kuiken van 56 dagen oud valt het op, dat de tarsaalbeentjes zeer in omvang zijn toegenomen. Er heeft zich een flinke mergholte in ontwikkeld en er zijn flinke beenbalkjes door enchondrale verbeening in ontstaan. Toch is nog een duidelijke hoeveelheid kraakbeen aanwezig rondom deze balkjes, bestaande uit groote veelhoekige cellen met groote blazige kernen.

Ook de hoeveelheid kraakbeen in de diaphyse is weer belangrijk afgenomen, terwijl de enchondraal gevormde beenbalkjes meer in de lengterichting van het been gaan verlopen. De mergspruiten zijn nu doorgedrongen tot in de laag der platte cellen onder de epiphyse. Vooral tegen het aangetaste kraakbeen aan vindt men nog een groot aantal chondroclasten, verder vindt men ze ook in inbochtigen tegen het enchondraal gevormde been aan en midden in het merg.

Bij het beschouwen van het beeld van het dier van 126 dagen oud, fig. 3, is het noodig de voorgeschiedenis van dit dier in aanmerking te nemen. Dit kuiken kwam in proef op de leeftijd van 4 weken en vertoonde toen op de röntgenfoto geen rachitische afwijkingen. Na 9 weken op het rachitogene dieet geplaatst te zijn geweest, kon een ernstige graad van rachitis geconstateerd worden. Het dier werd daarna buiten geplaatst en na verloop van 5 weken waren röntgenologisch geen rachitische afwijkingen meer vast te stellen. De röntgenfoto geeft het beeld te zien van een bijna volgroeid been, een beeld dat overeenkomt met de foto, die men bij een normaal kuiken reeds na 13 weken ziet optreden. De beenontwikkeling is hier dus als gevolg der rachitische processen enkele weken vertraagd.

Wanneer men het beeld van het ondereinde der tibia van dit dier ziet, dan valt direct op, dat de mergholte zich nog verder uitgebreid

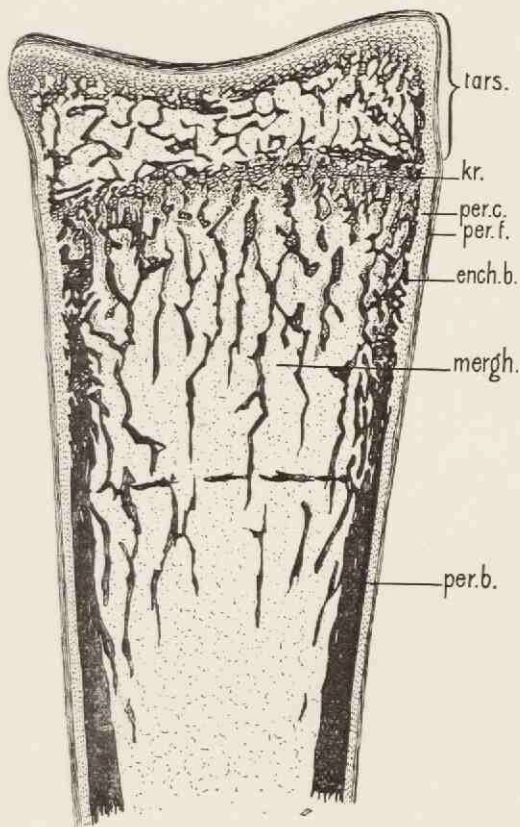


Fig. 3 Kuiken 126 dagen (Normaal)
distale einde tibia.

heeft ten koste van het kraakbeen der diaphyse. In dit stadium zijn de uitspruitsels der mergholte zoover naar de epiphyse doorgedrongen, dat er alleen een heel onregelmatig kraakbeenlaagje overgebleven is, tusschen het been van de eigenlijke tibia en het been van de tarsaalbeentjes. Bijna om alle resten van het kraakbeen ziet men een onregelmatige laag been afgezet. In deze zône ziet men nog een celrijk merg en een groot aantal reuzencellen, terwijl de beenbalkjes met een mooie laag osteoblasten bedekt zijn. Meer naar de mergholte toe ontbreekt deze laag osteoblasten langs de beenbalkjes, terwijl men daar ook geen osteoclasten meer vindt. Men krijgt de indruk, dat men hier met een afgeloopen proces te doen heeft. Ook in de epiphyse zijn belangrijke veranderingen opgetreden. De tarsaalbeentjes hebben zich sterk vergroot en er is een verbinding ontstaan tusschen de mergholte hierin en

de mergholte in de diaphyse. De hoeveelheid kraakbeen in de epiphyse is tot een smal randje onder het articuleerende kraakbeen gereduceerd. De beenbalkjes der tarsaalbeentjes gaan een geheel vormen met die der diaphyse. De beenbalkjes gaan in de lengterichting van het been verlopen en maken een massieve indruk. Wanneer men coupes ziet van beenuiteinden, waar geen samengesteld been aanwezig is, dan ziet men, dat hier de laag van platte cellen verdwijnt en de beenbalken doordringen in de epiphyse, zoodat ten slotte slechts een dunne laag kraakbeen onder het articuleerende kraakbeen is overgebleven. De verbeening van die epiphyse is dus direct vanuit de diaphyse geschied. Het valt op, dat naar verhouding het netwerk der beenbalkjes, bij het ouder worden veel ijler wordt, waardoor de mergholten er tusschen veel grooter zijn.

In de dwarscoupe van dit been (fig. 5) ziet men, dat het been der diaphyse bestaat uit een dikke beenlaag, waarin heel fijne kanaaltjes verlopen. Deze kanalen zijn niet meer met osteoid bekleed, maar zijn door verkalkt been omgeven. Naar de mergholte toe ziet men nog enkele grootere kanalen, die gedeeltelijk met de mergholte in verbinding staan. Men ziet duidelijk, dat het been niet lamellair gebouwd is, maar dat de collagene vezels, in bundels tusschen de cellen gerangschikt, in de lengterichting van het been verlopen. Ook in de enchondraal gevormde beenbalkjes ziet men geen lamellaire structuur. Vergelijkt men de dwarscoupe van deze leeftijd met die van een jonger kuiken, dan ziet men, dat de kanalen nu veel nauwer geworden zijn en dat er veel minder of in het geheel geen osteoidzoom meer om te zien is.

In alle coupes van dit dier krijgt men de indruk, dat men met een bijna volwassen dier te doen heeft, waarbij de lengtegroei is afgelopen. Daar dit dier echter een rachitische periode doormaakte, is het waarschijnlijk, dat dit stadium bij normale dieren reeds eerder bereikt wordt.

Samenvatting en Bespreking.

Het grootste verschil in de beenvorming van het kuiken tegenover die der zoogdieren, is gelegen in de verschillende wijze van enchondrale verbeening. Het oplossen van het kraakbeen geschiedt, doordat vanuit het centrum der diaphyse, waar de eerste mergholte optreedt, door bloedvaten, die hier van buiten af indringen, mergspruiten als kanalen tot ver in het kraakbeen epiphysewaarts doordringen. Men krijgt zoo een grove afbraak van het kraakbeen, terwijl bij de zoogdieren de mergholte veel meer geleidelijk naar de epiphyse voortschrijdt. Er blijven bij het kuiken dus groote balken kraakbeen bestaan, waartegen been wordt afgezet, waardoor men in het binnenste van een enchondraal beenbalkje nog vrij veel intacte kraakbeencellen kan vinden. Dit is weer in tegenstelling met het proces bij de zoogdieren, waar de ossificatiezône door het voortdringende merg de kapsels van bijna al de, in rijen gerangschikte, kraakbeencellen opent, waardoor smalle balkjes

van kraakbeengrondsubstantie overblijven, waartegen been wordt afgezet. Bij de zoogdieren vindt men dus in het binnenste van een enchondraal gevormd beenbalkje zeer weinig kraakbeengrondsubstantie, met sporadisch erin een ongeopende kraakbeenkapsel met kraakbeencel. Het is dus een graadsverschil en geen principieel verschil in de wijze van enchondrale verbeening bij het kuiken, vergeleken bij die der zoogdieren. Het beste is dan ook dit verschil aangegeven door de wijze waarop Schaffner zich uitdrukt, die spreekt bij het kuiken van „Auflagerung” van been en bij de zoogdieren van „Einlagerung”. Minder gelukkig lijken de door Lubosch gegeven namen, voor deze wijze van verbeening, die bij zoogdieren wil spreken van een „intracartilagineuse” verbeening en bij de vogels van een „intramedullaire”. Deze benamingen zijn niet sprekend genoeg en behoeven een duidelijke uiteenzetting van de begrippen, die eraan ten grondslag liggen. Vindt men deze namen gebruikt in een leer- of handboek, waar het proces der verbeening verder slechts zeer beknopt wordt aangegeven, dan zijn ze, voor een niet terzake kundige lezer, onbegrijpelijk en nietszeggend.

Een ander punt van verschil met de zoogdieren is, dat er geen zelfstandig beginnende verbeening van de epiphysen bij vogels voorkomt. De verbeening van de epiphyse geschiedt continu vanuit de diaphyse, door de voortschrijdende enchondrale verbeening. Men kent dan ook geen stadium bij vogels, waarop men een epiphysairkraakbeen heeft met aan de eene zijde de verbeening in de diaphyse en aan de andere zijde die in de epiphyse. De enchondrale verbeening van de diaphyse schrijdt voort tot vlak onder de gewrichtsoppervlakte, waar nog een smal laagje kraakbeen overblijft. Een kwestie wordt het dus of men bij vogels dan wel van een epiphyse kan spreken. Aan het ondereinde van de tibia en bovineinde van de metatarsus lijkt het oppervlakkig beschouwd, of er wel een verbeening der epiphyse plaats heeft, maar dit is de verbeening der tarsaalbeentjes, die met deze uiteinden samengesmolten zijn.

RACHITISCHE BEENAFWIJKINGEN BIJ HET KUIKEN.

Om een antwoord te kunnen geven op de vraag, of men uit een oogpunt van histo-pathologie bij het kuiken van een echte „rachitis” spreken mag of dat men hier te doen heeft met een „ostitis fibrosa”, zal een uitgebreid histologisch onderzoek noodig zijn. Daar hier slechts van een beperkt materiaal gebruik gemaakt werd, slechts 14 rachitische kuikens, zal het zeker niet mogelijk zijn deze vraag hier bevredigend te beantwoorden. In deze studie is steeds gebruik gemaakt van de benaming „rachitis”, daar het klinische beeld van deze aandoening steeds met die naam aangeduid wordt; intusschen geven de veranderingen, die in het beenmerg optreden, beelden te zien, die meer bij de „ostitis fibrosa” (osteopatia fibrosa) thuis behooren. Daar deze ziekte-gebieden

bij jonge groeiende dieren zeer moeilijk te scheiden zijn en dit vraagstuk ook bij de zoogdieren nog niet bevredigend is opgelost, is hier volstaan met een beschrijving der veranderingen, die men bij deze aandoening in het histologische beeld van het kuikenbeen ziet optreden en waarbij dus wat de classificatie dezer beenveranderingen in de groep rachitis—ostitis fibrosa betreft, geen stelling is genomen.

De veranderingen, die in de histologische preparaten van rachitische kuikenbeenderen te zien zijn, toonen bij de verschillende leeftijden der dieren groote overeenkomst, wanneer men rekening houdt met de graad van rachitis en het stadium, waarin de beenontwikkeling zich bij normale kuikens van dezelfde leeftijd bevindt.

Wat in de eerste plaats opvalt is de toename van het aantal enchondraal gevormde beenbalkjes (fig. 4), die niet in de lengte-as van het been verlopen, maar een zeer onregelmatig netwerk vormen. Deze toename wordt veroorzaakt, doordat de mergholte zich belangrijk minder ver uitgebreid heeft, als bij een normaal dier het geval is. De afbraak van het been is hier dus vertraagd, waardoor de totale hoeveelheid been, die aanwezig is, is toegenomen. Deze vertraging is ook te zien op de plaatsen waar het kraakbeen aangetast wordt. De afbraak van kraakbeen geschiedt nog onregelmatiger, dan reeds normaal het geval is. Men ziet hier groote onregelmatige kraakbeengebieden, rondom afgescheiden door de voortdringende mergholte, reeds met een onregelmatig been- of osteoidzompje omgeven. Deze door been ingesloten kraakbeengebieden behouden nog lang hun normaal licht gekleurde (in haematoxyline-Van Gieson en haemaluin-eosine) grondsubstantie en bevatten vele volkomen intacte kraakbeencellen (fig. 7). Zooals reeds gezegd werd, is de afzetting van been tegen het kraakbeen aan zeer onregelmatig, zoodat men gebieden krijgt, waar men been afgezet ziet tegen kraakbeen met onverkalkte grondsubstantie en op andere plaatsen vindt men kraakbeenbalkjes met verkalkte grondsubstantie zonder dat hier been tegenaan is afgezet, terwijl deze zich vaak weer continu in beenbalkjes voortzetten. Men ziet op deze overgang hoe de groote blazige kraakbeencellen geleidelijk aan overgaan in de veel kleinere vertakte beencellen. Men ontkomt vaak zoo niet aan de gedachte, dat hier kraakbeen metaplastisch in been is overgegaan.

Ook in het been in het midden der diaphyse zijn veranderingen opgetreden. Normaal is een betrekkelijk dunne laag vrij massief been aanwezig (fig. 5), maar bij rachitis ziet men ook bij jonge kuikens reeds, dat de kanalen, die in dit been verlopen, zich belangrijk gaan verwijden. In de dwarscoupe van het midden der diaphyse (fig. 6) ziet men, dat groote holten zijn opgetreden, vooral naar de kant van het merg toe. Daarbuiten volgt een laag van been, waarin de kanalen minder wijd zijn, terwijl deze alle met een duidelijke laag osteoid

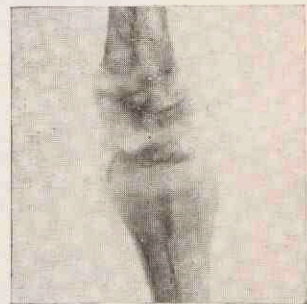
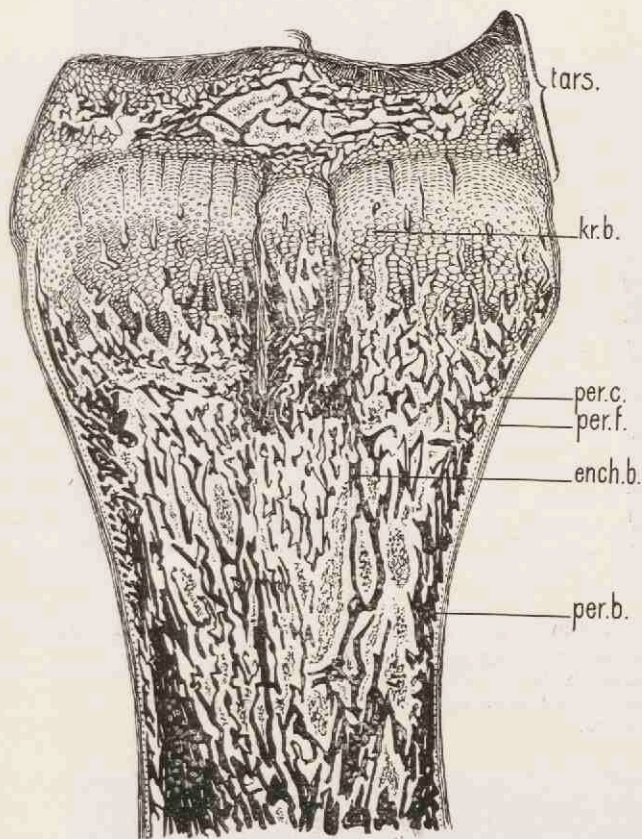


Fig. 4 Kuiken 126 dagen (Rachitis)
distale einde tibia.

Verklaring der teekens in de teekeningen.

Fig. 1—6

Kraakbeen	}	a. zône epiphyse
		b. „ platte cellen
		c. „ diaphyse
merg. spr.		mergspruiten
per. c.		perioost cambiumlaag
per. f.		perioost fibreuselaag
ench. b.		enchondraal been
per. b.		perioostaal been
mergh.		mergholte
tars.		tarsus, proximale deel in de tibia opgenomen.
kr.		kraakbeen

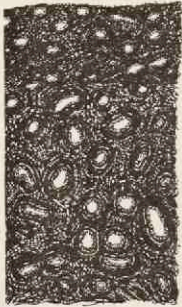


Fig. 5 Normaal

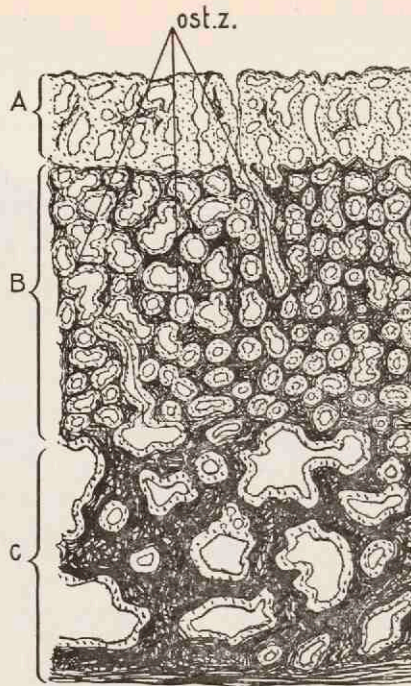


Fig. 6 Rachitis

Dwarsdoorsnede door het been in het midden der diaphyse van kuikens van 126 dagen.

- A. zône nieuwgevormd been onder het periost.
 - B. oorspronkelijke been der diaphyse.
 - C. zône nieuwgevormd been naar de mergholte toe gelegen.
- ost. z. osteoid zoomen.

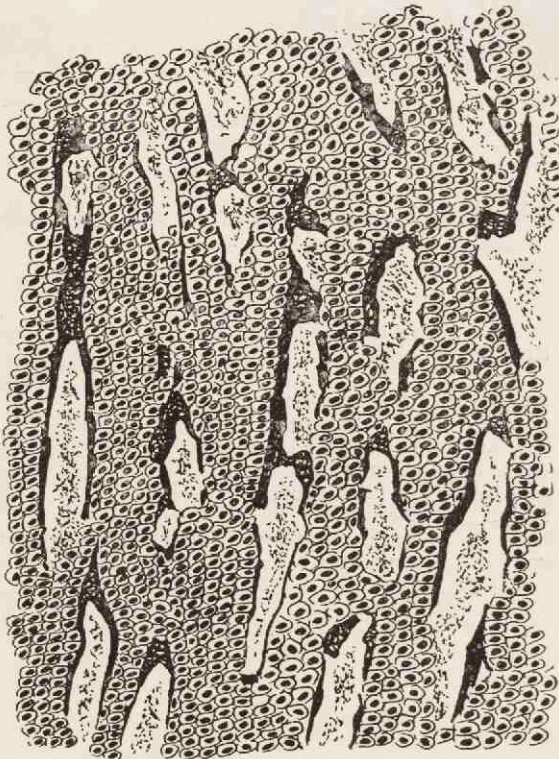


Fig. 7 Kuiken 49 dagen (Rachitis)
Enchondrale beenvorming met weinig afbraak van kraakbeen.

bekleed zijn. Op de dwarscoupe ziet men zeer duidelijk de dwarsdoorsnede der collagene vezels in die osteoidzoom. Aan de buitenzijde vindt men nog een smalle laag van beenbalkjes, waarin zich groote holten bevinden. Deze laag ligt buiten het oorspronkelijke periostale been. Hetzelfde beeld krijgt men ook bij het rachitische kuiken van 126 dagen oud. Wanneer men de bouw van het been van een normaal kuiken van dezelfde leeftijd met dit rachitische dier vergelijkt, dan vallen direct de geweldige veranderingen op, die in het been van de diaphyse zijn opgetreden. Nog duidelijker ziet men hier de drie-lagige structuur te voorschijn komen. Een groote overeenkomst vertoont dit beeld met de waarnemingen van Oberling en Guérin (80), die beenafwijkingen bij volwassen kippen bestudeerden, die zij de naam gaven van „osteomalacie-rachitisme”. Behalve de verwijding der beenkanalen en de verbreding van het been der diaphyse, is het vooral de sterke uitbreiding der buitenste laag, die op de voorgrond treedt. Deze laag ontstaat waarschijnlijk daardoor, dat het periost onder invloed der mechanische eischen, die aan het been ter plaatse gesteld worden, gaat woekeren, waardoor onregelmatig gerangschikte beenbalkjes gevormd worden. Hoe ernstiger de graad van rachitis is, hoe duidelijker deze laag gewoekerd periostaalbeen gaat optreden.

Ook in het beenmerg zelf treden veranderingen op in het verloop der rachitische procesen (fig. 8). Men ziet een op de achtergrond

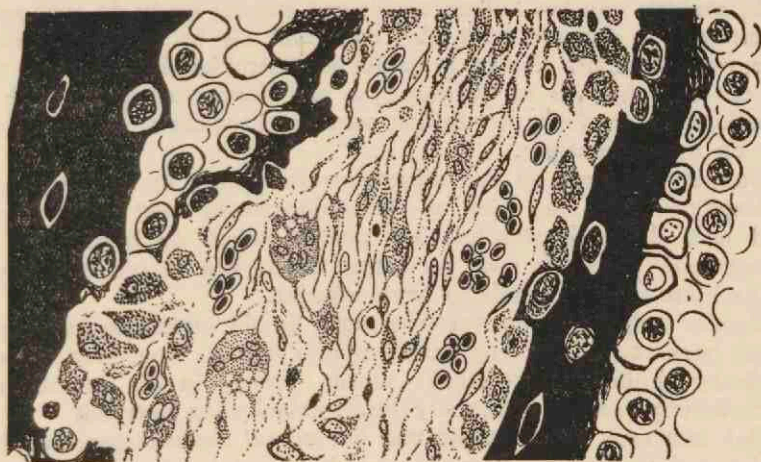


Fig. 8 Kuiken 49 dagen (Rachitis).

Merg met 2 begrenzende enchondrale beenbalkjes. Duidelijk verdicht celreticulum met veelkernige cellen, geen vorming van gedifferentieerde mergcellen.

komen der typische mergcellen en een woekering van het beenmergreticulum, waardoor men de groote reticulaire bindweefselcellen vrij nauw aaneengesloten ziet liggen. Vaak ziet men zelfs, dat het reticulaire bindweefsel eenigszins in collageen bindweefsel gaat veranderen, wat in de haematoxyline- van Gieson coupe opvalt door de roodere kleur. Juist op de plaatsen waar het sterk verdikte celreticulum gevonden wordt, ziet men vaak de veelkernige reuzencellen prachtig in cytoplasmatisch verband met het reticulum staan. Eventueel zou dit een aanwijzing kunnen zijn, dat deze veelkernige reuzencellen uit het reticulum ontstaan.

Bij het kuiken van 126 dagen oud is de hoeveelheid osteoid, die gevormd wordt belangrijk toegenomen, wat vooral in de dwarscoupe zeer duidelijk te zien is. Bij de jongere dieren valt dit niet zoo op, daar hier de beenbalkjes omgeven zijn met een laag osteoid, die in dikte weinig afwijkt van wat bij normale kuikens gevonden wordt.

Dezelfde veranderingen, die men in tibia en metatarsus ziet optreden, vindt men ook in de tarsaalbeentjes.

Een ander verschijnsel bij rachitis, dat men soms ziet optreden is het voorkomen van kleine bloedinkjes in het merg. Dikwijls ook ziet men groote bloeditstortingen, die reeds macroscopisch waarneembaar zijn. In het reticulum op de grens om die bloedinkjes ziet men het optreden van een groot aantal reuzencellen met dezelfde structuur als de osteo- en chondroclasten.

S a m e n v a t t i n g:

Bij rachitis van het kuiken treedt een storing op in de enchondrale verbeening, die daartoe leidt, dat men niet als in normaal been één groote, als één ruimte zich in de epiphyse uitstreckende mergholte vindt, maar dat men tot ver in de diaphyse een onregelmatig netwerk van beenbalkjes krijgt. Ook de afbraak van het kraakbeen geschiedt langzamer en onregelmatiger.

Daarnaast treedt op een structuurverandering in de beenmanchet der diaphyse, men ziet hier op dwarsdoorsnede zeer wijde kanalen, terwijl men duidelijk ziet hoe het periost tegen de buitenkant door buitengewone aanmaak van periostaal been, een laagje onregelmatig gerangschikte fijne beenbalkjes heeft afgezet.

Verder vallen op de veranderingen in de histologische structuur van het beenmerg. Dit merg wordt minder celrijk, waardoor de reticulaire bouw duidelijker zichtbaar wordt, terwijl in dit reticulum een vermeerdering van de reticulaire bindweefselcellen optreedt.

Ook ziet men een toename van het aantal osteoclasten, het duidelijkst bij oudere dieren, waar normaal het aantal osteoclasten niet zoo groot meer is.

Bij rachitis van het kuiken treden ook vaak grootere of kleinere bloedingen in het merg op.

Wanneer men deze verschijnselen vergelijkt met de afwijkingen, die bij de zoogdieren het meest op de voorgrond treden, dan ziet men,

dat het belangrijkste symptoom bij de zoogdieren, namelijk de sterk vermeerderde osteoid-vorming hier veel minder duidelijk is, maar dat de overige veranderingen zeer groote overeenkomst vertoonen.

Door de omvangrijkheid van het materiaal en door gebrek aan tijd, is het zeker niet mogelijk geweest een grondige studie te maken van de rachitische beenafwijkingen van het kuiken, mede door het ontbreken van goede literatuur-gegevens over de normale bouw van het kuikenbeen. Wil men inzicht krijgen in de processen, die zich onder normale en abnormale omstandigheden in het kuikenbeen afspelen, dan zal het noodig zijn een systematisch onderzoek in te stellen bij een groot aantal dieren van verschillende leeftijden. De bedoeling van deze studie was echter een indruk te krijgen omtrent de aard van de rachitische afwijkingen, die in het röntgenbeeld zulke groote veranderingen doen ontstaan.

LITERATUURLIJST.

1. Adams en Mc Collum Journal Biol. Chem. 1928. 78. 495.
2. Angus, Askew, Bourdillon, Proc. Royal Soc. of London B. 1931
Bruce, Callow, Fischmann, 108. 340.
Philpot, Webster.
3. Askew, Bourdillon, Bruce, Proc. Royal Soc. of London B. 1931,
Jenkins, Webster. 107. 76.
4. Askew, Bourdillon, Bruce, Proc. Royal Soc. of London B. 1932.
Callow, Philpot, Webster 109. 488.
5. Bacharach en Jephcott Journal Biol. Chem. 1928. 82. 751.
6. Bennet Brown en Shohl Journal Biol. Chem. 1930. 86. 245.
7. Berghheim Journal Biol. Chem. 1926. 70. 51.
8. Bethke, Steenbock, Nelson Journal Biol. Chem. 1923. 58. 71.
9. Bethke, Kennard, Kick, Poultry Science 1929. 8. 257.
Zinsalian.
10. Bethke, Record, Kennard Poultry Science 1931. 10. 355.
11. Bethke, Record Poultry Science 1934. 13. 29.
12. Bills, Honeywell, Cox Journal Biol. Chem. 1928. 80. 557.
13. Bills, Wirick Journal Biol. Chem. 1930. 86. 117.
14. Bills, Honeywell, Wirick, Journal Biol. Chem. 1931. 90. 619.
Nussmeier.

15. Bourdillon, Fischmann, Jenkins, Webster Proc. Royal Soc. of London B. 1929. 104. 561.
16. Branion, Smith Poultry Science 1932. 11. 261.
17. Buckner, Martin, Insko Poultry Science 1932. 11. 58.
18. Chick, Korenchevsky, Roscoe Bioch. Journal 1926, 20. 622.
19. Mc Collum, Simmonds, Shipley, Park. Journal Biol. Chem. 1922. 53. 41.
20. Dantschakoff Arch. f. Micr. Anatom. 1909. 74. 855
21. Demuth Bioch. Zeitschrift 1925. 159. 415.
22. Demuth Bioch. Zeitschrift 1925. 166. 162.
23. Dunn Journal Biol. Chem. 1924.
24. Everse Diss. Leiden. 1931.
25. Everse, Van Niekerk Ned.Tijdschr.v.Geneesk. 1931. 1. 75.
26. v. Euler, Rydbim Bioch. Zeitschrift 1931. 241. 14.
27. Fell Journal of Morph. and Physiol. 1925. 40. 417.
28. Forschner, Hottinger Münch. Med. Wschr. 1929. 76. 156.
29. Groeneveld Diss. Wageningen 1932.
30. Guest, Warkany Journal Biol. Chem. 1933. 100. 445.
31. György Klin. Wschr. 1929. 15. 684.
32. Hall, King Poultry Science 1931. 10. 132.
33. Hall, King Poultry Science 1931. 10. 259.
34. Hamilton, Kajdi, Mecker Journal Biol. Chem. 1930, 88. 331.
35. Hart, Steenbock, Lepkovsky, Halpin Journal Biol. Chem. 1923. 25. 579.
36. Heller, Hunter, Thompson Journal Biol. Chem. 1932. 97. 127.
37. Heller, Zimmerman, Thompson Poultry Science 1934. 13. 141.
38. Heilbron, Kamm, Morton Bioch. Journal 1927. 21. 78.
39. Herner, Robinson Poultry Science 1932. 11. 283.
40. Hess, Unger Am. Journal Dis. Child. 1921. 22. 186

41. Hess, Unger, Pappenheimer Journal Biol. Chem. 1922. 50. 77.
42. Hess, Weinstock, Rivkin, Gross. Journal Biol. Chem. 1930. 87. 37.
43. Heymann Bioch. Zeitschrift. 1930. 227. 1.
44. Holmes, Pigott, Campbell Journal Biol. Chem. 1931. 92. 187
45. Holmes, Pigott Indust. and Engineering Chem. 1931
46. Holmes, Pigott, Moore Poultry Science 1932. 11. 243.
47. Holt Journal Biol. Chem. 1925. 64. 579.
48. Holtz, Schreiber Hoppe-Seyler's Zeitschrift f. phys. Chem. 1930. 191. 1.
49. Holtz, Laquer, Kreitmair, Moll Bioch. Zeitschrift 1931. 237. 247.
50. Hunter, Dutcher, Knaudel Poultry Science. 1932. 11. 239.
51. Huldshinsky Deutsch. Med. Wschr. 1919. 45. 712
52. Irwin, Brandt, Nelson Journal Biol. Chem. 1930. 88. 449 en 460.
53. St. John, Kempf, Bond Poultry Science 1933. 12. 34.
54. Jones, Rapoport, Hodes Journal Biol. Chem. 1930. 88. 449 en
55. Jones, Robson Journal Biol. Chem. 1931. 91. 47.
56. King, Hall Bioch. Zeitschrift 1931. 229.
57. Koch, Koch, Ragins Journal Biol. Chem. 1929. 85. 141.
58. Korenchevsky Med. Research Council Spec. Rep. Series 71.
59. Kramer, Shear, Siegel Journal Biol. Chem. 1931. 91. 271.
60. Kramer, Shear, Siegel Journal Biol. Chem. 1931. 91. 723.
61. Kreitmair, Moll Münch. Med. Wschr. 1928. 637 en 1138.
62. Kruse, Orent, Mc Collum Journal Biol. Chem. 1932. 96. 519.
63. Van Leersum Ned. Tijdschrift voor Geneesk. 1929. 3997.
64. Lubosch Morphol. Jahrbuch 1923. 53. 49.
65. Marek, Wellmann Die Rachitis. Fischer Jena 1931.

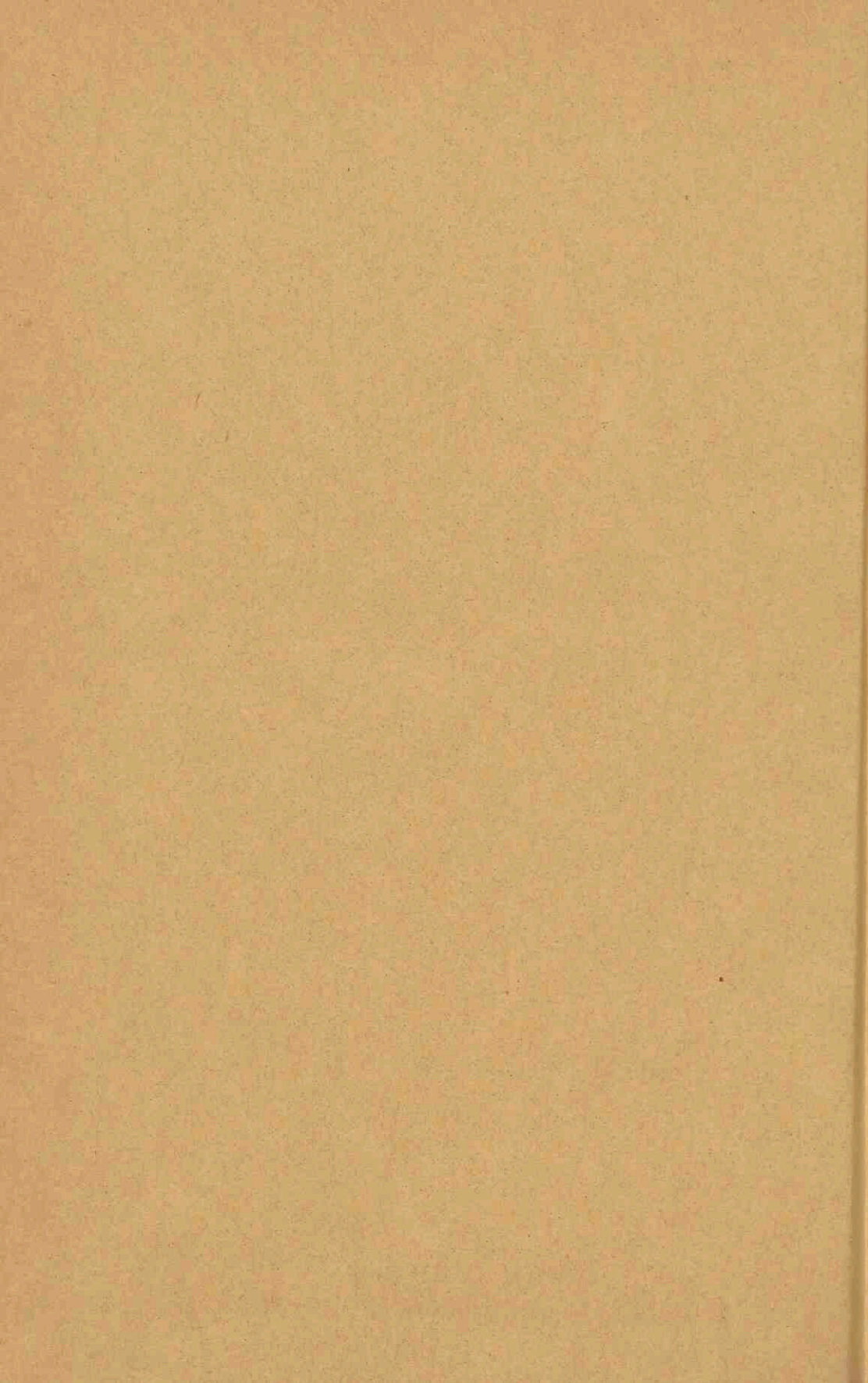
66. Massengale Poultry Science 1929.
67. Massengale, Nussmeier Journal Biol. Chem. 1930. 87. 415.
68. Massengale, Nussmeier Journal Biol. Chem. 1930. 87. 423.
69. Mayerson, Laurens Poultry Science. 1932. 11. 325.
70. Mellaby Med. Res. Council. Spec. Rep. 1919. 38.
71. Mellaby Med. Res. Council. Spec. Rep. 1921. 61.
72. Meyer zu Hörste Klin. Wschr. 1932. 1796.
73. Miller, Dutcher, Knaudel Poultry Science. 1929.
74. Miller, Bearse, Cushing Poultry Science. 1933. 12. 21.
75. Mussehl, Ackerson Poultry Science. 1931. 10. 68.
76. Mussehl, Ackerson Poultry Science. 1931. 10. 369.
77. Van Niekerk, Everse Bioch. Zeitschrift 1929. 215. 85.
78. Van Niekerk, Everse Strahlentherapie. 1929. 34.
79. Norris, Heuser, Wilgus, Ringrose Poultry Science. 1931. 10. 93.
80. Oberling, Guérin Ann. d'Anat. Patholog. 1934. 11. 97.
81. Payne, Hughes, Leinhardt Poultry Science 1932. 11. 158.
82. Pfannenstiel Münst. Med. Naturw. Gesch. 1927.
83. Van der Plank Tijdschr. v. Diergeneesk. 1927.
84. Pohl Nachr. Ges. d. Wiss. Göttingen. 1926. 142.
85. Pohl Nachr. Ges. d. Wiss. Göttingen. 1926. 185.
86. Rabl Deutsche Med. Wschr. 1929. 263.
87. Reerink, Van Wijk Strahlentherapie 1931. 40. 728.
88. Reerink, Van Wijk, Van Niekerk Chem. Weekblad. 1932. 29. 645.
89. Rosenheim, Webster The Biol. Journal 1927. 21. 389.
90. Russell, Massengale, Howard Journal Biol. Chem. 1928. 80. 155.

91. Russell, Howard Journal Biol. Chem. 1931. 91. 493.
92. Russell, Klein Poultry Science 1931. 10. 269.
93. Schechter Bioch. Zeitschrift 1929. 208. 443.
94. Scheunert, Schieblich Bioch. Zeitschrift 1929. 209. 290.
95. Scheunert, Schieblich Klin. Wschr. 1929. 21. 983.
96. Schmidtman Münch. Med. Wschr. 1929. 35. 1486.
97. Schöney Arch. f. Micr. Anatom. 1876. 12. 243
98. Schroeder Poultry Science 1933. 12. 256.
99. Schultz Zeitschr. f. Kinderheilkunde. 1929.
47. 449.
100. Schultz Klin. Wschr. 1933. 12. 114.
101. Schultzer Bioch. Zeitschrift 1927. 118. 409.
102. Schultzer Bioch. Zeitschrift 1927. 118. 427.
103. Schultzer Bioch. Zeitschrift 1927. 188. 435.
104. Schultzer Bioch. Zeitschrift 1929. 211. 445.
105. Seifried, Heidegger Tierärztliche Rundschau. 1933.
106. Sexton Journal Biol. Chem. 1928. 22. 1133.
107. Shear, Kramer Prof. of the Soc. for Exp. Biol. and
Med. 1925. 23. 548.
108. Sherman, Pappenheimer Proc. of the Soc. of Biol. and Med.
1921. 18. 193.
109. Sherman, Stiebeling Journal Biol. Chem. 1929. 83. 497.
110. Sherman, Stiebeling Journal Biol. Chem. 1930. 88. 683.
111. Shipley, Park, Mc Collum, Proc. of the Soc. for Exp. Biol. and
Simmonds Med. 1921. 18. 277.
112. Shohl, Bing Journal Biol. Chem. 1928. 79. 269.
113. Sloan, Wilgus Poultry Science 1930. 10. 10.
114. Solé Bioch. Zeitschrift 1931. 242. 349.
115. Steenbock, Black Journal Biol. Chem. 1925. 64. 263.
116. Steenbock, Hart, Jones, Journal Biol. Chem. 1923. 58. 59.
Black.

117. Stoeltzner Münch. Med. Wschr. 1928. 37. 1584.
118. Supplee, Flamigan, Kahlenberg, Hess Journal Biol. Chem. 1931. 91. 773.
119. Titus Poultry Science 1932. 11. 117.
120. Titus, Mc Nally, Hilberg Poultry Science 1933. 12. 5.
121. Tully, Hauge, Carrick, Roberts Poultry Science 1931. 10. 299.
122. Tully, Hauge, Carrick, Roberts Poultry Science 1931. 10. 310.
123. Warkany Klin. Wschr. 1930.
124. Wilgus Poultry Science 1931. 10. 107.
125. Windaus, Holtz Nach. Ges. d. Wiss. Göttingen. 1927 217.
126. Windaus Proc. of the Royal Soc. of London. B. 1931. 108. 568.
127. Van Wijk, Reerink, Morikofer Strahlentherapie 1931. 39. 80.
128. Van Wijk, Reerink. Stralenterapie 1931. 40. 739.

STELLINGEN.

1. Het blijkt hoe langer hoe meer, dat de hond in ons land een belangrijke schakel in het vraagstuk der Weilsche ziekte vormt.
2. De Fédération Internationale Cynologique dringt terecht aan op een bestudeering van een mogelijk verband tusschen zenuwafwijkingen en voedsel fouten.
3. Indien bij multipare dieren vele vruchten in de uterus aanwezig zijn en de geboorte van de absoluut of relatief te groote vruchten veel bezwaren met zich brengt, verdient het aanbeveling spoedig door laparotomie de partus te beëindigen.
4. Het zou gewenscht zijn, dat fabricanten van vitamine D preparaten verplicht werden, de waarde hunner preparaten in internationale eenheden aan te geven.
5. De uiteenlopende uitkomsten der refractie bepalingen bij paarden zijn te wijten aan verschillen in onderzoek-methoden.
6. Van de verschillende operatieve behandelingsmethoden van de chronische purulente luchtzakontsteking bij het paard, verdient die volgens Viborg de voorkeur.
7. Bij de bestrijding van de maag-darmtrichostrongylosis van de herkauwers zijn de hygiënische maatregelen van meer waarde dan de therapeutische.
8. Ten einde het fokken van landbouwtuigpaarden in Nederland te bevorderen, is samenwerking of combinatie der verschillende stamboeken, die op dit gebied werkzaam zijn, urgent.



U
19