



Over de waarde van preventieve vaccinatie bij dier-salmonellosen : tevens bijdrage tot de kennis van enkele dezer ziekten

<https://hdl.handle.net/1874/322329>

192, 1936

OVER DE WAARDE VAN
PREVENTIEVE VACCINATIE
BIJ DIER-SALMONELLOSEN
TEVENS BIJDRAGE TOT DE KENNIS
VAN ENKELE DEZER ZIEKTEN

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

C. A. VAN DORSSSEN

Diss Utrecht 1936

OVER DE WAARDE VAN
PREVENTIEVE VACCINATIE
BIJ DIER-SALMONELLOSEN
TEVENS BIJDRAGE TOT DE KENNIS
VAN ENKELE DEZER ZIEKTEN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD
VAN DOCTOR IN DE VEEARTSENIJKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT
OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS
Dr. C. W. VOLLGRAFF, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER UNIVERSITEIT
TEGEN DE BEDENKINGEN VAN
DE FACULTEIT DER VEEARTSENIJKUNDE
TE VERDEDIGEN OP DONDERDAG 30 JANUARI 1936
DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

CORNELIS ANTHONIE VAN DORSSEN
GEBOREN TE WINSCHOTEN.

H. J. SMITS — UTRECHT
Senatus U.S.R. typographus et librorum editor

1936

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

*Dit proefschrift is bewerkt aan
de Afdeeling Infectieziekten van
het Instituut voor Parasitaire en
Infectieziekten van de Rijks
Universiteit te Utrecht, directeur
Prof. Dr. L. de Blicq.*

*Aan allen, die mij bij mijn onder-
zoekingen steun en voorlichting
hebben gegeven, betuig ik mijn
oprechten dank.*

HOOFDSTUK I.

TER INLEIDING.

One cannot possibly write „all about“ even backgammon in one or even twenty volumes.....

P. SANTINI, Riding Reflections (1932).

Het uitgangspunt van deze studie is geweest een onderzoek naar de waarde van preventieve vaccinatie bij de bestrijding van *Salmonella* infectie. In het bijzonder zijn bestudeerd de subcutane en de perorale methode, aangezien de toepassing van deze in de diergeneeskundige praktijk het meest voor de hand ligt.

Gedurende het onderzoek bleek het gewenscht zoo mogelijk gegevens te verzamelen betreffende het spontaan voorkomen van de infectie bij de te gebruiken diersoorten. Toevallig optredende *Salmonella* infectie onder katten vestigde zelfs de aandacht op deze diersoort als proefdier. Tal van aan het Instituut ingezonden duiven boden de gelegenheid het inzicht in de duivensalmonellosen te verruimen.

Waar op het gebied van *Salmonella* door verscheidene vakgeleerden van den eersten rang jarenlange moeizame arbeid is verricht, was het niet wel doenlijk voor den beginner alles wat voor zijn persoonlijke studie van belang was zelf te controleeren of te herhalen. Zoo zullen vele zaken, die het dieper wezen der vaccinatie betreffen, alleen aan de hand van de literatuur worden besproken.

Tevens kon dankbaar worden gebruik gemaakt van tal van waarnemingen en experimenten, die door andere onderzoekers zijn beschreven. Van groote waarde immers is na te gaan in hoeverre op dit gebied, zoo vol schijnbare tegenstrijdigheden, een eenheid is te construeeren en deze te toetsen aan de eigen verkregen resultaten.

De verschillende wijzen, waarop vroegere onderzoekers experimenteerden, dan wel hun praktijkwaarnemingen subjectief interpreterden, maakten het noodzakelijk hier niet zoo zeer gebruik te maken van de in de literatuur te vinden meeningen en conclusies, maar zelf het uitgebreide materiaal nieuw te rangschikken, volgens mathe-

matische methoden te controleeren en naar beste weten opnieuw te interpreteeren.

Noodwendig diende hiervoor een keuze te worden gedaan. Daarom zijn in de eerste plaats op deze wijze bewerkt tal van medische waarnemingen bij den mensch, waarvan de resultaten den dierenarts tot toepassing bij dieren prikkelen. Daarnevens zijn gerangschikt alle beschikbare gegevens betreffende vaccinatieproeven bij de huismuis uit de laatste vijftien jaar, waarbij het noodig bleek ook met het oog op eigen experimenten en tevens in verband met de vergelijkende waarde van deze epidemiologische observaties, iets mede te deelen over wat in de literatuur betreffende *Salmonella* infecties bij de huismuis is beschreven.

Evenzoo zijn de eigen proeven met andere dieren voorafgegaan door een literatuuroverzicht betreffende de natuurlijke infectie bij deze diersoorten.

Ter beperking van den omvang van deze studie is van dit principe afgeweken bij de bespreking van de *Salmonella* vaccinatie bij den mensch. Over deze infecties is van kundiger hand in de medische handboeken het noodige te vinden.

Evenzoo zijn de weliswaar minder talrijke beschreven laboratoriumproeven met andere dieren (cavia, konijn, rat, enz.), voor zover niet voor het logische verband strikt noodzakelijk, hier niet weergegeven.

De eigen proeven werden meerendeels verricht bij de huismuis, sommige echter ook bij andere dieren, om op deze wijze te trachten negatieve uitkomsten, bij de huismuis verkregen, te controleeren, en daardoor te omzeilen, dat deze resultaten alleen het gevolg zouden kunnen zijn van een mogelijk afwijkend verloop bij het eerstgenoemde proefdier.

Afgezien werd van het betrekken van zoogenaamde „grootte” huisdieren in deze proeven, omdat het gebruik van groepen van voldoende grootte van deze op moeilijkheden van financiële en technische aard zou stuiten.

Het was noodig verschillende gebruikte en bij het onderzoek van spontane infecties geïsoleerde stammen aan een zoo volledig mogelijke determinatie te onderwerpen. In een der laatste hoofdstukken, dat het karakter van een aanhangsel draagt, zullen de resultaten van de determinatie worden samengevat, waarbij tevens iets over de systematiek dient te worden medegedeeld.

Tot slot nog de opmerking, dat, in tegenstelling met wat in deze

gebruikelijk is, afgezien is van het rangschikken van de literatuur in één groote lijst. In verband met den omvang, leek het, tevens met het oog op het raadplegen, handiger, deze, onderwerp voor onderwerp, te rangschikken en onmiddellijk aan de betreffende hoofdstukken te doen volgen; enkele van het eigenlijke onderwerp losstaande opgaven zijn in noten aan de voet van de bladzijden vermeld.

HOOFDSTUK II.

GENUS *SALMONELLA*; EIGENSCHAPPEN; ANTIGEEN- STRUCTUUR IN VERBAND MET DE IMMUNISATIE.

Literatuuroverzicht.

There would seem to be a reasonable hope that we may be able to replace some of our crude immunizing extracts and suspensions by known chemical entities, and so doing gain an added precision in our experimental work, and perhaps in practical prophylaxis.

H. RAISTICK en W. W. C. TOPLEY (1934).

a. **Inleiding.**

Voor een uitgebreid en volledig overzicht betreffende het genus *Salmonella* dient verwezen te worden naar de handboeken, meer in in het bijzonder naar P. BRUCE WHITE A System of Bacteriology Vol. 4 (1929) en naar G. ELKELES en R. STANDFUSZ in KOLLE en WASSERMANN's handboek bd. 3 II (1931); verder ook naar het rapport van het *Salmonella* subcomité van het nomenclatuurcomité van de International Society of Microbiology. Hier zal aan de hand van de literatuur alleen getracht worden een overzicht te geven van de feiten, die meer in verband met ons onderwerp van belang zijn. Bij hoofdstuk X zal, in verband met de determinatie van eigen stammen op de systematiek worden teruggekomen.

b. **Definitie.**

Genus *Salmonella* LIGNIÈRES (1900).

Een uitgebreid genus van serologisch verwante gram-negatieve niet sporulerende bacillen met afmetingen van 0.4μ tot 0.6μ bij 1μ tot 3μ , die soms korte ketens vormen, die behoudens enkele uitzonderingen normaal voorkomen in een bewegelijke peritriche fase en die in wezen wat betreft kleuringseigenschappen en morfologie met de typhus bacil overeenkomen. Zij vergisten lactose en saccharose niet, stollen de melk niet, vervloeien geen gelatine en vormen geen indol, zij ontleiden glucose, gewoonlijk met, soms echter zonder gas-

vorming. Alle bekende species zijn pathogeen voor den mensch of voor dieren, dan wel voor mensch en dieren. (BRUCE WHITE (1929). *Salmonella* subcommittee International Society of Microbiology (1934)).

Deze definitie biedt voordeelen boven die van KAUFFMANN (1934).

Salmonella-bacillen zijn gram-negatieve sporen- en kapsellooze meest bewegelijke bacillen, die op de gewone voedingsbodems groeien, die steeds dextrose met of zonder gasvorming splitsen, die daarentegen adonit(ol), lactose en saccharose bij 30 dagen bebroeden bij 37° C. niet aantasten, die gelatine niet vervloeden, geen indol vormen, en antigenen van de *Salmonellagroep* bevatten".

Immers niet alleen het feit, dat MALTANER (1934) kapselvorming bij *Salmonella* heeft meenen te kunnen vaststellen, is een bezwaar tegen deze definitie, doch er ligt een gevaar in opgesloten, dat nieuwe verwante vormen, die geen enkele antigeencomponent met reeds bekende soorten gemeen hebben daardoor automatisch dienen te worden uitgesloten, aangezien het niet objectief is vast te stellen, wat onder „antigenen van de *Salmonellagroep*” dient te worden verstaan.

In verband met de tegenwoordig geldende definitie dient nog te worden opgemerkt, dat GORINI (1932), heeft aangetoond, dat *S. typhi* in staat zou zijn melk te stollen, mits de bacillen in een groot aantal aan de melk worden toegevoegd¹⁾.

Het ware daarom duidelijker geweest, indien bij de definitie was opgegeven, met welke techniek deze eigenschappen zijn vast te stellen; een euvel waaraan veel bacteriologische literatuur mank gaat, men denke b.v. aan BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology.

c. Pathogeniteit.

Alvorens over te stappen op het zuiver bacteriologisch-serologische gedeelte, zij een oogenblik stil gestaan bij de pathogene eigenschappen. Tot dusverre zijn in het genus *Salmonella* alleen met zekerheid ziekteverwekkers van *Mammalia* en *Aves* vastgesteld. De „*paratyphus Alvei*” van BAHR, vastgesteld bij de honingbij is gebleken een saccharosevergister te zijn, KAUFFMANN en SILBERSTEIN (1934), KOCJAN (1934).

Wat betreft de ziekteverschijnselen van den mensch onderscheidt BRUCE WHITE (1929):

- a. Koortsachtige ziekten met subacuut verloop als typhus, die echter septische localisatie kunnen geven.
- b. Gastroenteritis (voedselvergiftiging).

¹⁾ Het is mij met de typhusstammen uit de verzameling van het Instituut niet gelukt deze mededeeling te bevestigen. Lakmoesmelk, waarin een geheele typhus-agarcultuur werd afgeschud en welke daarop enkele dagen werd bebroed vertoonde geen stolling.

c. Gelocaliseerde pyogene infecties.

Ook voor de dieren is deze indeeling over te nemen, al dient te worden vooropgesteld, dat hierbij de groep b een veel geringere rol zal spelen dan bij den mensch. Bij de gelocaliseerde pyogene infecties dienen dan in de eerste plaats te worden genoemd arthritiden en verder meningitiden. Als groep d diende te worden toegevoegd de localisatie in het geslachtsapparaat zoowel het mannelijke als het vrouwelijke, die aanleiding kan geven tot abortus bij zoogdieren (paard, schaaap, konijn) en tot de merkwaardige cyclus via het ei bij vogels (kip, duif, eend, kanarievogel), bij beide met daaraan gepaard gaande ziekte van het jonge dier.

d. Antigeen structuur.

In verband met het hier behandelde onderwerp dient te worden nagegaan, wat de literatuur ons kan mededeelen betreffende de antigeen structuur van *Salmonella*. Het meerendeel hiervan is beschreven in verband met agglutinatie. Echter merkt TOPLEY (1933) op, dat een zelfde anti-lichaam kan werken als agglutinine, lysine, praecipitine en opsinine en het corresponderend antigeen evenzoo als agglutinogeen, praecipitinogeen of opsoninogeen, en dat het daarom voorkeur verdient den algemeenen naam antigeen te gebruiken.

Bij de zoogenaamde uitvoerige agglutinatie (buisjesmethode) vallen verschillende vormen van agglutinatie waar te nemen. Sinds WEIL en FELIX (1917) deze vormen het eerst bij *Proteus X 19* bestudeerden, worden twee typen onderscheiden, de grofvlokkige of flocculaire en de fijnkorrelige of granulaire agglutinatie. De eerste blijkt samen te hangen met de bacteriegeesels, de tweede met het bacterielichaam. Antigeen en antilichaam van de eerste duidt men in navolging van WEIL en FELIX aan met H, van de tweede met O.

Dat het aangrijpingspunt van deze agglutinaties werkelijk zoodanig is, toonde ARKWRIGHT (1927) aan door agglutinaties met levende bacillen onder het microscoop. Bij deze methode, die in de literatuur naar MANDELBAUM (1931) ook wel onder den naam van reactie van MANDELBAUM bekend staat, beschouwt men bij sterke vergrooting een hangende druppel bouilloncultuur, waaraan serum is toegevoegd, dat verdund is met physiologische keukenzoutoplossing. Bevat het serum alleen H-agglutinininen, dan wordt de bewegelijkheid onmiddellijk geremd en leggen de bacillen zich gelei-

delijk aaneen; bevat het alleen O-agglutinenen, dan vormen zich zeer spoedig kleine klompjes bacillen, die met de uiteinden tegen elkander liggen. MANDELBAUM verbond hieraan de termen immobilisatie en poolagglutinatie.

GRAIGIE (1931) geeft mooie microfoto's, waarbij het sponzige karakter der geeselagglutinatie zich duidelijk onderscheidt van de compacte aaneensluiting der lichaamsagglutinatie.

Treden deze agglutinatievormen gelijktijdig op, dan is het beeld van de agglutinatie gemengd.

De H-agglutinatie is tegen te gaan door verhitting bij 100° C., behandeling met alcohol of verwijderen langs mechanischen weg van de geesels in een schudapparaat. GRAIGIE beeldt in zijn publicatie af, hoe in de eerste twee gevallen de geesels worden gedestruueerd. Het H-antigeen zelf gaat daarbij echter niet verloren, maar is door praecipitatie reacties aan te toonen. KAUFFMANN (1934) toonde dit ook aan door H-agglutininevorming na injectie van bij 100° C. verhitte cultuur.

De O-agglutinatie wordt door dit ingrijpen niet verhinderd, echter wordt het O-antigeen wel kwalitatief veranderd door de verhitting (TIMMERMAN 1930), DAVID (1928)). TIMMERMAN toonde aan, dat een immuun serum verzadigd met bij 100° C. verhit antigeen nog O-agglutinenen voor levende bacillen en met alcohol behandelde bacillen bevat. Volgens KAUFFMANN (1935) zouden mogelijk dergelijke verschijnselen te verklaren zijn met het Vi-antigeen (zie verder). BRUCE WHITE nam waar, dat bij hoogere verhitting of langdurig bewaren de bacteriesuspensies minder gevoelig worden voor de O-agglutinatie, terwijl na wasschen deze bacillen nog wel gevoelig blijken te zijn. Dit zou komen, doordat een deel van het O-antigeen dan vrij in oplossing zich in de vloeistof zou bevinden en de antilichamen zou binden.

Sterker is de O-agglutinatie ongunstig te beïnvloeden door behandeling van de bacillen met carbol, formol of chloroform. FELIX en OLITZKI (1929) namen waar, dat dan alleen bij geeseldragende bacillen de O-agglutinatie hierdoor wordt geremd, bij geesellooze vormen (O-vormen) niet; ook met alcohol behandelde bacillen ondervinden geen nadeel van b.v. carbol (duurzaam antigeen volgens BIEN-GARDNER). Zij stellen zich voor, dat door deze behandeling niet zoozeer het antigeen wordt aangetast, dan wel de reactie geremd. Zij voegden aan een suspensie van bacteriën in een oplossing van carbolzuur in physiologische keukenzoutoplossing serum

toe, en waschten daarna het carbolzuur weg; de aanvankelijk geremde O-agglutinatie trad dan wel op. GRAIGIE daarentegen verklaart het verschijnsel mechanisch. Door fixatie van de geesels met formaline enz. zouden deze de bacterielichamen beletten zich aaneen te leggen. Na schudden, waardoor de geesels werden verwijderd, trad in zijn experimenten wel agglutinatie op.

Het is gebleken, dat de antigeenstructuur van het bacterielichaam veranderingen kan ondergaan, waardoor van den normalen toestand afwijkende vormen kunnen optreden, die men gewoonlijk als degeneratievormen pleegt op te vatten.

Sinds ARKWRIGHT (1921) onderscheidt men bij *Salmonella* (en ook bij andere bacteriën), 2 kolonievormen, de „smooth”-vorm (S) en de „rough”-vorm (R). MALTANER (1935) beschrijft deze vormen als volgt. De smooth-kolonies zijn klein, convex met gave randen en volkomen glad oppervlak. De rough-kolonies zijn grooter en vlakker met een ruw oppervlak en onregelmatige randen. Niet altijd echter is de tweede kolonievorm even duidelijk waar te nemen. Volgens BRUCE WHITE (1922) zouden op carbolagar de uiterlijke teekenen van roughgroei worden onderdrukt.

ARKWRIGHT en PITT (1929) stellen de volgende eigenschappen vast. Voor de smooth-bacillen de typische kolonievorm op agar, de gelijkmatige groei in bouillon en het niet spontaan agglutinabel zijn in 0.85% keukenzoutoplossing. Voor de rough-bacillen de typische kolonievorm op agar, de korrelige groei in bouillon met bezinksel en vliësvorming en de spontane agglutinabiliteit in 85% keukenzoutoplossing.

ARKWRIGHT (1921) reeds constateerde, dat bij lagere zoutconcentratie b.v. 0.2% deze spontane agglutinabiliteit niet tot uiting komt.

BRUCE WHITE (1927) onderzocht de factoren, waarmede de spontane agglutinabiliteit in zouthoudend medium van de R-stammen samenhangt. Het bleek hem, dat extractie met geconcentreerde alcohol, met aether of met chloroform, bij 50 en 56° C. deze toestand opheft. Het extract toegevoegd aan de geëxtraheerde bacillen maakte deze weer gevoelig voor de zoutagglutinatie. Ook toevoeging van smooth-bacillen deed dit. Door deze extractie wordt de agglutinabiliteit met serum verminderd. Verhit men geëxtraheerde R-bacillen bij 100° C., dan worden zij opnieuw spontaan agglutinabel; deze toestand is niet meer op te heffen.

De R-vorm is een verliesvorm van de S-vorm, die blijkt gepaard te

gaan met verloren gaan van het aan het „reactieve oppervlak” der smooth-bacillen gelegen O-antigeen, dat een polysaccharide karakter draagt (zie verder). De aanvankelijke meening, dat R-bacillen geen polysaccharide antigeen zouden bezitten (zie o.a. TOPLEY (1929)) is vervangen door de overtuiging, dat polysacchariden gelegen beneden het reactieve oppervlak van de smooth-bacil de taak van O-antigeen bij de R.-bacillen overnemen.

Ook voor de R-bacillen is een O-serum te bereiden, waarmee zij in daartoe geschikt milieu een korrelige agglutinatie geven.

BRUCE WHITE (1932—1933) vestigde de aandacht erop, dat er behalve de gewone R-vorm nog een p-vorm bestaat, die niet door de R-O-sera is te agglutineeren. Deze mist de koolhydraten van de S- en R-vorm maar bezit wel een eigen koolhydraat. R-bacillen worden niet door p-sera geagglutineerd; p-sera zijn met intacte R-bacillen niet te verzadigen. De p-vorm is weer een verlies-variante van de R-vorm; terwijl de R-vorm wel, zij het beneden zijn reactief oppervlak het p-antigeen bezit, bezit de laatste het R-antigeen niet. De p-stammen zijn tot dusverre alleen gewonnen uit zeer lang op kunstmatige media gekweekte culturen.

De Rough-vormen treden op bij langdurigen groei in vloeibaar medium; dit kan worden bevorderd door kweken in bouillon met 0.1% carbol (MALTANER (1934)) of in bouillon, waaraan Smooth-O-serum is toegevoegd (ARKWRIGHT en PITT (1929)).

Men is het er niet over eens of R-stammen op hun beurt weer S-bacillen kunnen afsplitsen. ARKWRIGHT en PITT (1929) namen in R-culturen wel eens schijnbare S-kolonies waar, die ook de spontane agglutinabiliteit verloren hadden; het antigeen van deze bacillen bleek echter R- en geen S-antigeen te zijn. HABS en SEITZ (1935) deelden kortelings mede, door kweken in bouillon, waaraan door verhitting gedooide S-cultuur was toegevoegd, uit R-stammen S-stammen te hebben gekweekt, die door S-O-serum tot de titer werden geagglutineerd. Volgens WELCKER (1935) zouden muizen na subcutane of intraperitoneale injectie van de weinig virulente rough-culturen aan een infectie kunnen te gronde gaan, waarbij S-bacillen worden geïsoleerd. De virulentie van de R-bacillen n.l. is zeer gering; dit is reeds door ARKWRIGHT medegedeeld.

Van veel belang zijn deze verschijnselen, daar, mede in analogie met andere bacteriesoorten, de tegenwoordig geldende meening is, dat het O-polysaccharide de actieve rol bij de immunisatie vervult. Dat het Smooth-O-antigeen hierbij een gewichtige rol speelt, terwijl Rough-O-antigeen en H-antigeen weinig of geen werking hebben,

bleek ARKWRIGHT (1927) bij proeven met caviae. Verschillende proeven met muizen, die tot dezelfde conclusie leiden, zullen in een volgend hoofdstuk worden besproken.

De aanvankelijk door IBRAHIM en SCHÜTZE gedeelde meening van SPRINGUT (zie hoofdstuk VI), dat het H-antigeen ook noodzakelijk was voor de immunisatie, is door effectieve vaccinatie met van nature geesellooze stammen voldoende weerlegd. Deze meening baseerde zich op negatieve resultaten met kunstmatig verkregen O-vormen volgens het systeem van BRAUN (zie BRAUN en SALOMON (1919)), namelijk het kweken op carbolagar. Waar volgens MALTANER toevoeging van carbol rough-vorming in de hand werkt en BRUCE WHITE (1929) de onderdrukking van het ruwe uiterlijk van de Rough-kolonies op carbolagar mededeelt, bestaat er een vermoeden, dat in dit vaccin het O-antigeen in ieder geval had geleden evenals bij het te langdurig (2 uur lang) gekookte vaccin van IBRAHIM en SCHÜTZE. BRAUN en SALOMON zelve, die deze voedingsbodem met carbol bij *Proteus* toepasten, vermelden een verminderde stabiliteit van suspensies van dergelijke culturen in physiologische keukenzoutoplossing.

In tegenstelling met andere auteurs neemt MALTANER (1934) een betere werking van Rough-vaccins dan van Smooth-vaccins aan. Bij proeven met *S. typhi* bij konijnen zag hij, dat bij de met Smooth vaccins behandelde dieren alleen de sterfte verminderde, terwijl na enting met de Rough-vaccins ook minder dieren drager werden.

Het is niet wel uit te maken in hoeverre echter de stammen van al de schrijvers, die vaccins met „R”-stammen gebruikten, evenver gedegeneerd waren; het is zelfs mogelijk dat de meeste negatief verlopende proeven met p-stammen en niet met de echte R-stammen zijn uitgevoerd. Daarnaast dient, bij een waarneming als die van MALTANER, rekening te worden gehouden met het voorkomen van Vi-antigeen bij Rough-stammen. KAUFFMANN (1935).

Wat betreft het karakter van het polysaccharide lichaamsantigeen is het gewenscht hier nog enkele deels historische feiten te vermelden. Veel hiervan is ontleend aan een samenvattend overzicht van BAZILEWSKY en REMGILD (1935). Volgens de oudere opvatting zou het polysaccharide van de S-vorm het karakter van een hapteen hebben. Praecipiteerende polysacchariden zijn het eerst beschreven door AVERY en DOCHEZ bij pneumococcen, deze polysacchariden waren alleen antigenen in vitro. Een volledig antigeen maakten GOBEL en AVERY hieruit door binding met eiwit. JA-

COBS, ZOSAGA en CLARK toonden de immuniseerende eigenschappen van deze stoffen aan. Verschillende auteurs hebben daarna de polysacchariden nader bestudeerd; zij bereidden deze door neerslaan met alcohol uit suspensies van gedestrueerde bacteriecellen. FÜRTH en LANDSTEINER (1929) stelden vast, dat de polysacchariden specifieke praecipitatie-reacties in immuunserum gaven. Deze reacties liepen parallel met de O-agglutinatie; d.w.z. polysacchariden uit organismen met gelijk O-antigeen gaven ook met de bijbehorende sera gelijke en wederkeerige praecipitatiereacties. BRUCE WHITE (1929), die deze stoffen uitvoerig bestudeerde, bevestigde deze gegevens tevens door absorptie. Aan FÜRTH en LANDSTEINER bleek, dat S-serum alleen met S.-polysacchariden reageerde, R-serum daarentegen zoowel met S-polysacchariden verkregen uit R-bacillen als uit S-bacillen. Aan MEISEL en MIKULASZEK (1931) bleek bij toepassing van de reactie van BORDET GENGOU eveneens, dat R-polysacchariden tegenover S-sera indifferent zijn. BAZILEWSKI en REMGILD stelden door gebruik te maken van praecipitatiereacties vast, dat bij *S. typhi* de geëxtraheerde polysacchariden van den S-vorm R-polysacchariden bevatten.

Dit is dus volkomen in overeenstemming met de schematische voorstellingswijze, n.l. dat de R-antigenen wel aanwezig zijn, maar in de S-vorm niet tot uiting kunnen komen, doordat zij door de O-antigenen worden omsloten. De meening van MALTANER (1934), dat in de R-bacil het S-antigeen evenzoo zou worden gemaskeerd als in de S-bacil het R-antigeen door het S-antigeen, wordt hierdoor weinig waarschijnlijk gemaakt.

Ook BRUCE WHITE (1928) bereidde door injectie van met NaOH behandelde R-culturen alleen R-agglutinenen en een met op dezelfde wijze behandelde S-cultuur zoowel S- als R-agglutinenen.

Behalve het S en R-lichaamsantigeen zijn er in de literatuur nog enkele andere lichaamsantigenen beschreven.

BRUCE WHITE (1932) toonde in smooth-bacillen het in alcohol oplosbare Q-antigeen aan, dat van een proteïne karakter was. Dit was in staat praecipitatievorming op te wekken; de p-bacillen geven agglutinatie met anti Q-sera de R-bacillen geven deze gering, de S-bacillen geven geen agglutinatie. Na extractie van de Q zijn de bacillen slecht agglutinabel. Toevoeging van Q aan de suspensies heft deze toestand op. Verder toonde BRUCE WHITE (1933) nog een proteïne T aan. Het gelukte zoomin met Q als met T konijnen te vaccineeren tegen experimenteele infectie.

TOPLEY en AYRTON (1924—1925) toonden aan, dat als men *S. typhi-murium* langer dan 24 uur laat groeien in een vloeibaar medium, deze agglutinabel wordt ten opzichte van antilichamen, waarmede zij eerst niet reageerde. Door subcultuur stelden zij vast, dat dit niet samenhangt met een degenereren of afsterven van de bacillen. Het antigeen waarop deze reactie berust noemden zij het X-antigeen. Deze agglutinatie is van een korrelig type. Volgens RAISTICK en TOPLEY (1934) wordt dit phenomeen ook een enkele maal door op vaste media gegroeide stammen vertoond.

Ook HAPPOLD (1928) toonde in serum, bereid door injectie van gefiltreerde gestoomde bouilloncultuur van *S. newport*, een antilichaam aan, dat agglutinatie gaf met verhitte culturen van *S. typhi-murium* en *S. newport*. Verder gaf het praecipitatie met filtraat van bouilloncultuur van beide organismen. Ook *S. typhi-murium* bouillonfiltraat bevatte het antigeen. In een volgende publicatie (1929) stelde hij zijn vondst identiek met het X-antigeen van TOPLEY en AYRTON. Het bleek hem, dat alleen groeien in vloeibaar medium tot het ontstaan van het antigeen aanleiding gaf. Culturen op droge agar bezaten het niet, ook was het er niet in aan te toonen door extractie in physiologische keukenzoutoplossing gepaard gaande met verhitting 1 uur bij 56° C., of toevoeging van 0.05% formaline. Zeer rijkelijk werd het antigeen gevormd in culturen op agar in Roux'sche flesschen, die geënt waren met bouilloncultuur (2 à 3 ccm per flesch) en 3 dagen gegroeid. Het antigeen wordt het beste gevormd in een zwak alcalisch milieu. In tegenwoordigheid van koolhydraten, waaruit door de bacil zuur wordt gevormd, ontstaat het alleen, als dit zuur, bijvoorbeeld door marmersgruis, wordt weggenomen. In tegenwoordigheid van niet aangetaste koolhydraten (b.v. saccharose) wordt het wel gevormd. HAPPOLD vermoedde, dat er meer dan één X-antigeen bestaat, en dat ook R-stammen X-antigeen zouden kunnen vormen.

Reeds in 1920 vestigden WEIL en FELIX er de aandacht op, dat bepaalde typhusstammen, die zeer virulent waren, in levenden toestand alleen door H-agglutininen doch niet door O-agglutininen werden beïnvloed. FELIX (1924) toonde aan, dat de zoo vaak uit typhuslijders geïsoleerde inagglutinabele stammen, die later eerst agglutinabel worden, dergelijke stammen zijn en dat dit berust op het eerst later vormen van geesels; immers vroeger werd vooral op de H-agglutinatie de nadruk gelegd. FELIX en

OLITZKI (1926) stelden vast, dat voor O-agglutinenen gevoelige stammen tevens weinig resistentie bezitten bij bactericidie en dat de slecht-agglutinabele stammen minder gemakkelijk worden aangetaast. Ook zijn de laatste virulenter voor proefdieren. Verhitting bij 100° C. of groei op carbol-agar maakt deze stammen wel geschikt voor de O-agglutinatie (WEIL en FELIX (1929)). FELIX en PITT (1934) toonden aan, dat deze eigenschap echter niet verbonden was aan het H-antigeen, dat immers eveneens door de genoemde bewerkingen wordt beïnvloed; immers toluol, chloroform en aether doen de in-agglutinabiliteit eveneens verloren gaan en niet de werking van het H-antigeen. Ook deelen deze schrijvers mede, dat de met gewoon O-serum slecht-agglutinabele stammen in het bezit zijn van een „Vi“-antigeen (Virulence antigen), welke antigeen in staat is Vi-agglutinenen op te wekken, die met de bedoelde bacteriën een korrelige agglutinatie geven. Bepaalde stammen, die wel agglutinabel zijn, bezitten ook het Vi-antigeen, doch in mindere mate. Goed agglutinabele stammen bezitten het niet. Vaccin bereid van bacillen die in het bezit waren van Vi-antigeen, bleken geschikt om muizen actief te immuniseeren tegen intraperitoneale injectie met levende bacillen. Het vaccin hiervoor werd 1½ uur bij 58° C. verhit; het werd met intervallen van 3 dagen 3 maal subcutaan geïnjecteerd; 20 dagen later volgde de intraperitoneale infectie.

Resultaat:

Vaccin Ty 2 (inagglutinabel)	20 : 15	(overleven)
„ Giglioli „	19 : 17	„
„ Ty 8 agglutinabel	22 : 1	„
„ Rawlings „	20 : 1	„
Contrôle, volle infectiedosis	20 : 0	„
„ halve „	16 : 0	„

Zooals men ziet waren de goed agglutinabele stammen, waaronder de bekende Engelsche vaccinstam Rawlings, voor deze vaccinatie niet geschikt ¹⁾.

FELIX, BHATNAGAR en PITT (1934) toonden aan, dat onvoorbehandelde konijnen soms reeds Vi-agglutinenen tot een geringe titer bezaten. Vooral ook bij het paard vonden zij deze. Zij vermoeden, dat hier een samenhang is met de zogenoemde normaalagglutinenen. Volgens hen doet groei bij 20° C. het Vi-antigeen tijdelijk verloren gaan, terwijl het na groei bij 37° C. terugkeert. Ook groei bij hoo-ger temperatuur, 44½° C., had onderdrukking van de Vi-antigeenvorming ten-

¹⁾ Overeenkomstige resultaten, goede vaccinatie met versch gewonnen typhus-stammen en onvoldoend resultaat met Rawlingsvaccin heeft bij muizen ook reeds GRINNELL (1925) waargenomen.

gevolg. De groei bij 20° C. zou den misleidenden indruk van rough-kolonies kunnen geven; deze groei is in wezen echter smooth, bouillonculturen zijn gelijkmatig troebel. Verder bleek, dat Vi-bacillen verhit ½ uur bij 60° C. of 10 minuten bij 100° C. weliswaar niet meer met Vi-serum zijn te agglutineeren, maar dat door absorptie het Vi-antigeen nog was aan te toonen. Zelfs bacillen, die een uur bij 100° C. waren verhit, absorbeerden Vi-antilichamen doch in geringe mate. Vi-serum was bij konijnen te maken, door bacterie-extracten in physiologische keukenzoutoplossing met 0.2% formaline te injecteren. De schrijvers vermoeden, dat geformaliseerde volvaccins hiertoe ook in staat zouden zijn. FELIX (1935) beschrijft enkele gunstige therapeutische resultaten bij typhus-patiënten in Palestina, die werden behandeld met een paardenserum (bereiding niet beschreven), dat zoowel O- als Vi-anti-lichamen bevatte. Hij acht deze beide noodzakelijk, immers zou volgens hem het Vi-antilichaam bescherming geven tegen de infectie en de vermenigvuldiging in het lichaam onderdrukken, terwijl het O-antilichaam het endotoxine van *S. typhi* zou neutraliseeren.

KAUFFMANN (1935) kon de voorgaande onderzoeken geheel bevestigen; met de reactie van MANDELBAUM toonde hij aan, dat de Vi-agglutinatie werkelijk een poolagglutinatie is. Hij noemt het overgaan van den eenen vorm in den anderen de „V-W-Wechsel”. De V-vorm is de vorm met Vi-antigeen, de W-vorm die met „Weniger als die V-Form” (in Analogie met H en O van WEIL en FELIX, n.l. Hauch en Ohne Hauch). Hij stelde verder een tusschenvorm V-W-vorm vast, die Vi-antigeen bezit, maar ook O-agglutinatie geeft.

Hiertoe behoorden alle versch geïsoleerde stammen. Door passage door het konijn gelukte het hem uit den ouden stam Rawlings een Vi-vorm te verkrijgen. Tevens bleek, dat een niet spontaan agglutinabele R-stam Vi-antigeen bezat. Een *S. paratyphi*-C-stam bezat hetzelfde Vi-antigeen als *S. typhi* Hij noemt dit met het oog op eventueel te vinden andere Vi-antigenen, A. Verder toonde hij speciale Vi-bactericidinen aan.

Als laatste punt zal hier worden nagegaan, wat bekend is betreffende immuniseerende fracties, die in de laatste jaren uit verschillende *Salmonella* soorten zijn bereid. Er zij de aandacht op gevestigd, dat deze proeven in tegenstelling met de oudere opvattingen, die eerder in dit Hoofdstuk zijn besproken, aantoonen, dat de aanwezigheid van intacte proteïnen voor een volledige antigene werking niet noodig is.

BOIVIN in samenwerking met I en L. MESROBEANU en met NESTORESCU (1933-'34) verkreeg door extractie met Trichloorazijnzuur uit verschillende bacillen uit de *Salmonella*-groep en tevens uit andere groepen, stoffen met antigene eigenschappen. Slechts bij

een *S. enteritidis* stam was het bereiden hiervan zeer moeilijk, en werd alleen na herhaald bevriezen in vloeibare lucht deze stof verkregen. Het extract was een opalescente vloeistof, waarin colloïdale bestanddeelen van polysaccharide karakter, die praecipitatiereacties met immunsera gaven. Uit *S. typhi-murium* scheidten zij door dialyse een specifiek polysaccharide af, dat actief immuniseerende eigenschappen bleek te bezitten, en bij inspuiting praecipitinen voor deze stof en O-agglutinenen voor *S. typhi-murium* opwekte. Verhitting 4 uur bij 100° C. of ½ uur bij 120° C. had tengevolge, dat nog wel praecipitatie in vitro tot stand kwam, maar dat het vermogen om in vivo antilichamen op te wekken verloren was gegaan.

RAISTICK en TOPLEY (1934) bereidden door neerslaan met alcohol verschillende fracties uit een acetonextract van door trypsine gedigereerde *S. typhi-murium* bacillen. Het gelukte specifieke polysacchariden af te scheiden in actieve antigene vorm, zonder dat daarbij proteïne aanwezig was. Met deze fracties, die toxisch waren, kon zoowel een antibacterieele als een antitoxische actieve immuniteit bij muizen worden opgewekt (intra-peritoneale vaccinatie 2 maal). Tevens werden na injectie bij konijnen specifieke praecipiteerende en agglutineerende antilichamen gevormd (O-antilichamen). De immuniseerende kracht van deze fracties wisselde parallel met de toxiciteit. (DELAFIELD, MARTIN (1934)). De fractie F 68/68, een der fracties, die zelfs een betere immuniteit gaf dan volvaccin, bleek antiserum te leveren (O-titer voor eigen stam 1 : 640), dat bacillen van andere lichaamsstructuur, b.v. *S. paratyphi-C* en *S. gallinarum*, die gevoelig waren voor X-agglutinenen, tevens agglutineerde, zij het tot een lagere titer. Tevens bleek F 68/68 nog een andere antigene component te bezitten, die ook inwerkte op culturen, die niet gevoelig waren voor X-agglutinenen, onder anderen een *S. typhi* stam. Deze gaf duidelijke korrelige agglutinatie. Het zelfde deed een *S. enteritidis* stam. Voor *S. gallinarum* en *S. enteritidis* var. *dublin* was dit serum negatief. Over het karakter van deze component laten de schrijvers zich verder niet uit.

Blijkens latere mededeelingen van BOIVIN en zijn medewerkers (1935) beschouwen zij de door hun afgescheiden stof identiek aan de fracties van RAISTICK en TOPLEY. Echter meenen zij, dat zij door hun methode de immuniseerende bestanddeelen in sterker concentratie verkrijgen. Zij toonden met intra-peritoneale vaccinatie van muizen aan, dat hun product in veel kleinere dosis zijn werking ontplooidde. Zij deelen verder mede, dat deze stof bestaat uit suiker

+ vetzuren, ze duiden het aan als „antigène complet”. Het S-O-antigeen, zooals dit o.a. door BRUCE WHITE (1929) door verhitting met azijnzuur werd afgescheiden, noemen zij een kunstproduct; dit bevat alleen suiker; zij duiden het aan als „antigène residuel”. R-bacillen bevatten het eene noch het andere. „Forme S = forme R + „antigène complet”.

Conclusies:

In het kort kan men dus vaststellen, dat voor bereiding van een vaccin men het beste kan uitgaan van smooth-stammen, liefst van dezelfde species als het infecteerend organisme of anders van een organisme, dat hetzelfde O-antigeen bevat. Teneinde het O-antigeen te sparen dient niet te hoog en te langdurig te worden verhit. Het aanwezig zijn van Vi-antigeen kan voordeel bieden; of wel men zou hiervoor erkende Vi-stammen kunnen gebruiken (die nog slechts voor weinige species zijn geïsoleerd), of men zou zijn vaccins kunnen bereiden van versch geïsoleerde stammen (V-W-vorm?), waarvan het nut reeds jaren lang zonder theoretische grondslag werd erkend (zie o.a. bij DE ZEEUW (1932)). In verband met eventueel Vi-antigeen zal het aanbeveling verdienen niet te dooden met aether of chloroform, maar door verhitting bij niet te hooge temperatuur of door inwerking van formaline. Mogelijk zal ook de aanwezigheid van X-antigeen gunstig kunnen werken. De vorming van dit antigeen zou men kunnen bevorderen door het gedurende enkele dagen kweken in vloeibaar medium.

LITERATUUR BEHOORENDE BIJ HOOFDSTUK II.

- ARKWRIGHT, J. A., *J. Path. Bact.* **30**, 345, 566, (1927). **31**, 665, (1928). —
 ARKWRIGHT, J. A. en R. M. PITT, *J. Path. and Bact.* **32 I**, 229, (1929). —
 BAZILEWSKY, B. G. en W. J. REMGILD, *Zschr. Imm. forschung.* **85**, 10, (1935). —
 BIEN, Z., *Cbl. Bakt. I Orig.* **93**, 196, (1924). BOIVIN, A. en L. MESROBEANU, *C.R. Soc. Biol.* **108**, 612, 614, 727, (1933), **112**, 76, (1933), **115**, 304, 309, (1934). —
 BOIVIN, A., I. MESROBEANU, en L. MESROBEANU, *C. R. Soc. Biol.* **113**, 490, (1933), **114**, 307, (1933), *C. R. Acad. Sciences* **198**, 2126, (1934). —
 BOIVIN, A., I. MESROBEANU, L. MESROBEANU, en B. NES-TORESCU, *C. R. Soc. Biol.* **115**, 306, (1934). —
 BRAUN, H. en R. SALOMON, *Cbl. Bakt. I Orig.* **82**, 243, (1929). —
 DAVID, H. *Cbl. Bakt. I Orig.* **109**, 416, (1928). —
 DELAFIELD, M. E., *J. Path. Bact.* **34 I**, 177, (1931). *Brit. J. Exp. Path.* **15**, 130, (1934). —
 ELKELES, G. en R. STANDFUSZ, *Handb.*

pathog. Mikro-org. KOLLE en WASSERMANN, 3 II, (1931). — FELIX, A., J. Hyg. 28, 418, (1929). Lancet 1935 I, 799. — FELIX, A. en L. OLITZKI, J. Hyg. 28, 55, (1929). — FELIX, A. en R. M. PITT, J. Path. Bact. 38, 408, (1934). Lancet 1934 II, 186. — FELIX, A., S. S. BHATNAGAR and R. M. PITT, Brit. J. Expt. Med. 15, 346, (1934). — FÜRTH, J. en K. LANDSTEINER, J. Expt. Med. 49, 727, (1929). — GARDNER, A. D., J. Hyg. 28, 376, (1929). — GENUS **SALMONELLA**, LIGNIÈRES, J. of Hyg. 34, 333, (1934). — GORINI, C., J. Path. Bact. 35 II, 637, (1932). — GOYLE, A. N., J. Path. Bact. 29, 364, (1926); 30, 331, (1929). — GRAIGIE, J., J. Immunol. 21, 417, (1931). — GRINNELL, F. B., J. Expt. Med. 56, 907, (1932). — HABS, H. en L. SEITZ, Zschr. f. Hyg. 116, 111, (1935). — HAPPOLD, F. C., J. Path. Bact. 31 I, 237, (1928). Brit. J. Exp. Path. 10, 263, (1929). — IBRAHIM, H. M. en H. SCHÜTZZE, Brit. J. Exp. Path. 9, 353, (1928). — KAUFFMANN, F., Zschr. f. Hyg. 106, 241, (1926). Cbl. Bakt. I Orig. 132, 337, (1934). Zschr. f. Hyg. 116, 617, (1935). — KAUFFMANN, F. en W. SILBERSTEIN, Cbl. Bakt. I Orig. 132, 431, (1934). — KOCJAN, Z., Jahresber. Vet. Med. 55, 373, (1934). — LANGE, B. en F. KAUFFMANN, Zschr. f. Hyg. 114, 721, (1933). — MALTANER, F., J. Immunol. 26, 160, (1934). — MARTIN, A. R., Brit. J. Exp. Path. 15, 137, (1934). — MELSEL, H. en E. MIKULASZECK, Zschr. Imm. forschung, 73, 448, (1931). — RAISTICK, H. en W. W. C. TOPLEY, Brit. J. Exp. Path. 15, 113, (1934). — SCHÜTZZE, H., Brit. J. Exp. Path. 11, 34, (1930). — TIMMERMAN, W. A. Brit. J. Exp. Path. 11, 447, (1930). — TOPLEY, W. W. C., Lancet, 1929 I, 5522. An Outline of Immunity, London 1933. — TOPLEY, W. W. C. en J. AYRTON, J. Hyg. 23, 178, (1924—1925). — WEIL, E. en A. FELIX, Wien. Klin. Wschr. 30, 1509, (1917). — WELCKER, A. Zschr. f. Hyg. 116, 273, (1935). — WHITE, P. BRUCE, J. Path. Bact. 30, 113, (1927). 31, 423, (1928). 32 I, 85 (1929). A System of Bacteriology (M.R.C.) 4, 86, (1929). J. Path. Bact. 34 I, 325, (1931). 35 I, 77, (1932), 36, 65, (1933).

HOOFDSTUK III.

BEOORDEELINGSWIJZE VAN WAARGENOMEN CIJFERS.

It is not a question of trial or no trial, but of a well-planned trial that will give us a definite answer as quickly as possible, as against a planless, haphazard series of trials that will take a long while to tell us very little, perhaps at a considerable expense in lives.

W. W. C. TOPLEY. An Outline of Immunity (1933).

„Iedere groep in een onderzoek”, aldus PATOW (1932), „is slechts een monster, genomen uit een hypothetische ideale oneindig groote populatie, die zich onder dezelfde omstandigheden zou bevinden. (). Alle biometrische berekeningen zijn een toepassing der waarschijnlijkheidsrekening (). „Onmogelijkheid”, respectievelijk „zekerheid” in den zin der waarschijnlijkheidsrekening zullen wij in onze proeven nooit bereiken, want daarvoor zouden onze groepen oneindig groot moeten zijn. Of wij mogen aannemen, met de uit onze berekeningen blijkende waarschijnlijkheidsgraad een van beide genoemde begrippen genoegzaam te zijn benaderd, zal altijd van een grens afhangen, welke wij zelf willekeurig stellen, dikwijls dus van een zuiver conventioneele grens”.

Daarom dan ook waarschuwen zoowel WOODS en RUSSELL (1931) als TOPLEY (1933) ervoor, dat men niet de slaaf van zijn cijfers zal worden en op grond van getallen, die op zichzelf toeval-
lig signifik (gezekerd)¹⁾ zijn, een onwaarschijnlijk of onverwacht feit tegen alle eerdere kennis in als juist zal aanvaarden.

„Wij mogen niet”, aldus TOPLEY, „al onze vroegere ervaring en die van andere onderzoekers over boord werpen. Gebeurtenissen hebben plaats gehad met één kans op 807, en ofschoon wij niet kun-

¹⁾ Onder invloed van de Engelsche auteurs is in dit proefschrift herhaalde malen het woord „signifik” gebruikt. Hoewel dit in de Nederlandsche wiskundige terminologie geen gebruikelijk woord is, werd het gekozen, daar het minstens even goed Nederlandsch is als de gebruikelijke term „gezekerd” (geschikt).

nen berekenen met welke waarschijnlijkheidskans alle eerdere ervaring *niet* tot een verkeerde oplossing heeft geleid, is deze kans toch vermoedelijk veel grooter (). In zulk een geval is veel waarschijnlijker, dat wij een grove technische fout hebben begaan, dan wel dat een of andere onbekende en onvoorzienne factor is ingeslopen (). Als een resultaat niet in statistischen zin signifikiek is, volgt daaruit niet, dat de hypothese, waarop zich het experiment baseerde onjuist was". Er volgt slechts uit, dat de schaal te klein was om bewijzend te zijn, vandaar dat TOPLEY verder opmerkt: „Als een proef op een bepaalde schaal opgezet zeer waarschijnlijk geen signifikiek resultaat zal opleveren, is het beter de schaal van de proef tot de noodzakelijke breedte te vergrooten, dan wel deze niet verder voort te zetten”.

Indien wij een bepaalde proef twee of meermalen herhalen, weten wij, dat wij zeer waarschijnlijk niet hetzelfde resultaat zullen bereiken. Als wij deze eenige malen herhalen, kunnen wij een gemiddeld resultaat bepalen, en als de uitkomsten der proeven elk voor zich daar niet te sterk van afwijken, zullen wij aan deze serie meer waarde hechten dan aan het enkele experiment. Echter vergt een dergelijke contrôle te veel materiaal.

De leer der statistiek doet ons een eenvoudiger methode aan de hand om de waarde van een bepaalde proef te beoordeelen. Hiertoe dienen wij de „standaarddeviatie” te bepalen, waarmede de kans samenhangt, dat alleen tengevolge van toeval de getalsconstellatie zich zou kunnen wijzigen.

De navolgende berekeningsmethode zij hier aan de hand van TOPLEY (1933) weergegeven.

Van n individuen vertoonen x een bepaald phenomeen, laat ons zeggen zij sterven, dan blijven $n-x$ in leven. De kans van te sterven voor elk individu afzonderlijk is dus $\frac{x}{n} = p$. De kans om te

blijven leven is dus $\frac{n-x}{n} = 1-p = q$.

De standaarddeviatie van x is \sqrt{npq}

De standaarddeviatie van $\frac{x}{n}$ is $\sqrt{\frac{pq}{n}}$

De standaarddeviatie van het percentage dat sterft, dus van $\frac{100x}{n}$, is $100 \sqrt{\frac{pq}{n}}$

De standaarddeviatie van het verschil tusschen twee waargenomen waarden is de vierkantswortel van de som der quadraten van de standaarddeviaties der twee waarden.

Gesteld men heeft 2 verschillende groepen waargenomen groot n en n' en gevonden de uitkomsten (dus bijvoorbeeld weer het aantal dooden) x en x' ; in percenten uitgedrukt dus $\frac{100x}{n}\%$ en $\frac{100x'}{n'}\%$.

Nemen wij aan, dat in deze groepen geen signifikief verschil zou bestaan, dan kunnen wij deze tesamen nemen als $n + n'$, en sterven van deze tesamen genomen groep $x + x'$.

$$\text{De sterftekans } p^{\circ} = \frac{x + x'}{n + n'}$$

$$\text{De kans om in het leven te blijven } q^{\circ} = 1 - p^{\circ}$$

Het waargenomen verschil in sterfte in percenten uitgedrukt is: $\frac{100x}{n} - \frac{100x'}{n'}$.

De standaarddeviatie van dit percentage is:

$$100 \sqrt{p^{\circ}q^{\circ} \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n'} \right)}$$

Immers de standaarddeviatie van x zou zijn $\sqrt{np^{\circ}q^{\circ}}$

$$\text{en van } \frac{100x}{n} \quad 100 \sqrt{\frac{p^{\circ}q^{\circ}}{n}}$$

$$\text{dus van } \frac{100x'}{n'} \text{ evenzoo } 100 \sqrt{\frac{p^{\circ}q^{\circ}}{n'}}$$

De standaarddeviatie van $\frac{100x}{n} - \frac{100x'}{n'}$ is

$$\sqrt{(\text{standaarddeviatie } x)^2 + (\text{standaarddeviatie } x')^2 =}$$

$$\sqrt{(100 \sqrt{\frac{p^{\circ}q^{\circ}}{n}})^2 + (100 \sqrt{\frac{p^{\circ}q^{\circ}}{n'}})^2 =}$$

$$\sqrt{100^2 \frac{p^{\circ}q^{\circ}}{n} + 100^2 \frac{p^{\circ}q^{\circ}}{n'} =}$$

$$100 \sqrt{p^{\circ}q^{\circ} \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n'} \right)}$$

Eenvoudiger wordt natuurlijk ons geval, als wij zooals LOCKHART (1926) twee even groote groepen moeten vergelijken. LOCKHART behalve TOPLEY

c.s. een der weinigen, die deze berekeningen bij *Salmonella* infectie heeft toegepast, gebruikte ze bij het bepalen van virulentieverschillen van *S. typhimurium*; zijn muizengroepen waren telkens 20 exemplaren groot. De evengroote groepen (dus beide n) maken mogelijk, dat wij niet het verschil in percentage maar het werkelijk verschil kunnen vergelijken. Het laat zich makkelijk afleiden, dat de standaarddeviatie van dit verschil $x-x'$ is $\sqrt{\frac{2npq}{n+n'}} = \sqrt{2npq}$.

De standaarddeviatie is dus te berekenen. Wij vermelden haar achter het berekende verschil als volgt:

berekend verschil \pm standaarddeviatie.

Van beteekenis voor de waarde van de uitkomst van onze berekeningen is echter de volgende breuk:

$$\frac{\text{berekende verschil}}{\text{standaarddeviatie.}}$$

Dit blijkt uit de volgende tabel ontleend aan TOPLEY (1933).

berekend verschil standaarddeviatie	kansen, dat dit verschil alleen gevolg is van het toeval.
0.5	1 op 0.6 kansen
1.0	1 „ 2.15 „
1.5	1 „ 6.5 „
2.0	1 „ 20.98 „
2.5	1 „ 79.53 „
3.0	1 „ 369.4 „
3.5	1 „ 2149 „
4.0	1 „ 15773 „
4.5	1 „ 147188 „

Hoe verder dus het waargenomen verschil en de standaarddeviatie uiteenloopen, hoe meer aanwijzing er is, dat de afwijkingen in de groepen niet alleen aan toeval, maar bijvoorbeeld aan een ingreep, laat ons zeggen vaccinatie, te wijten zijn. WOODS en RUSSELL (1931) eischen voor het trekken van een conclusie een quotient van > 2 , LOCKHART (1926) van > 3 ; TOPLEY (1933) wil uit een quotient > 2 maar < 3 alleen een voorloopige conclusie trekken, en zegt daarentegen, dat bij een quotient > 3 er weinig twijfel meer over is. De kans, dat de uitkomst te wijten is aan het toeval, is in het eerste geval 1 op 20,98, met andere woorden er is 95,46% waarschijn-

lijkheid; in het tweede geval is de kans 1 op 369.4 of wel er is 99.74% waarschijnlijkheid.

In de volgende hoofdstukken zal bij het trekken van conclusies met de opvatting van den laatsten auteur worden rekening gehouden. Men zij ervoor gewaarschuwd, dat een hoog quotient b.v. 4 of 5 niet wil zeggen een gunstiger resultaat b.v. van een ingestelde vaccinatie, maar alleen een meerdere zekerheid van de proef. Immers, zooals TOPLEY in een voorbeeld aangeeft, een gering resultaat b.v. van 30%—20% verschil tusschen niet behandelde en behandelde kan in groepen van 500 significant worden gesteld met een quotient van 3.65; met andere woorden, dit quotient beslist alleen over de juistheid van de waarneming, niet over de waarde van de toegepaste ingreep.

WOODS en RUSSELL wijzen er op, dat proeven met groepen kleiner dan 10 aan dusdanige groote schommelingen onderhevig zijn, dat het niet gewenscht is deze wijze van berekening daarop toe te passen, en willen deze alleen onder voorbehoud zien toegepast op groepen > 10 en < 20 .

Waar eerst in den loop van de experimenten de kennis van dit nuttig criterium zich aan mij voordeed, zijn binnen het bestek van deze verhandeling verschillende proeven beschreven, die niet aan dezen eisch voldoen. Men bedenke echter, dat ook de feiten uit deze proeven, al bezitten zij geen objectieve bewijskracht, kunnen blijven dienen als oriëntatie, noodig om de eventueele variatiebreedte van een significante proef vast te stellen.

LITERATUUR BEHOORENDE BIJ HOOFDSTUK III.

LOCKHART, L. P., J. Hyg. 25, 50, (1926). — PATOW, C. VON. Z.schr. f. Züchtung. Reihe B. 21, 95, (1932). — TOPLEY, W. W. C. An Outline of Immunity, London 1933. — WOODS, H. M. en W. T. RUSSELL. An Introduction to Medical Statistics. London 1931.

HOOFDSTUK IV.

VACCINATIE SUBCUTAAN EN PER OS EN DE DAARMEDE VERKREGEN RESULTATEN

Literatuuroverzicht.

Nach ewigen ehernen groszen Gesetzen müssen anscheinend die Epidemien also ihres Daseins Kurve volenden, kaum beeinflusst durch die Impfung.

E. FRIEDBERGER (1919).

Wanneer men telkens en telkens na de invoering van een algemeene vaccinatie een daling van de sterfte aan typhus ziet, ligt het toch wel zeer voor de hand een oorzakelijk verband tusschen deze verschijnselen aan te nemen.

E. W. WALCH (1932).

a. **Inleiding.**

De preventieve enting tegen spontane *Salmonella* infecties is het eerst en tot dusverre ook op de grootste schaal geschied bij den mensch. Vandaar, dat een groot deel van de in dit hoofdstuk beschreven toepassingen van de beide vaccinatie systemen, die het onderwerp van deze studie hebben uitgemaakt, zich bewegen op het gebied van de preventieve vaccinatie tegen typhus en paratyphus infectie bij den mensch.

Het principe der algemeene immuniteit, waarop de subcutane methode berust, en dat van de locale immuniteit, die aan de perorale enting ten grondslag heeft gelegen, vindt men o.a. uitvoerig beschreven bij DE ZEEUW (1932). Slechts het principe van de perorale vaccinatie zal hier nog in het kort en dan meerendeels aanvullend worden besproken.

Het is BESREDKA, die in de laatste jaren de aandacht heeft gevestigd op de perorale vaccinatie in verband met de door hem ontwikkelde theorie der locale immuniteit. Hij stelt zich voor, dat pathogene micro-organismen hun werking ontplooiën door een contact met zekere receptieve cellen, welk contact niet tot stand zou kunnen komen indien deze cellen immuun zijn geworden. In dat laatste geval bestaat er een zoogenaamde locale immuniteit in tegenstelling met

de algemeene immuniteit. Meer in het bijzonder zouden bepaalde bacterieproducten, „antivirus” genaamd, hierbij een rol spelen, deze zouden vooral in oude vloeibare culturen voorkomen.

Waar volgens BESREDKA's leer het receptieve orgaan bij de hier bedoelde groep van infecties de darmwand is, wordt door hem de vaccinatie per os, ook wel de rectale vaccinatie, geadviseerd. BESREDKA stelt zich voor, dat de toediening van gal de darmwand zou sensibiliseeren voor het opnemen van het antivirus. Evenzoo zou gal de darmwand gevoeliger maken voor een infectie. De perorale vaccinatie, die zoowel preventief als curatief is bedoeld, zou onmiddellijke immuniteit te weeg brengen, namelijk door de binding van receptieve cellen. De zoo verkregen immuniteit zou dus zuiver lokaal zijn, algemeene lichaamsreacties zouden niet noodzakelijk zijn.

Ter experimenteele toetsing van vaccinatie beveelt BESREDKA infectie langs den natuurlijke weg en wel per os aan. Resistentie tegen parenterale infectie zou volgens hem niet vergelijkbaar zijn met resistentie tegen de natuurlijke infectie.

Het is wel opmerkelijk na te gaan welke waarnemingen aanleiding gaven tot de toepassing van BESREDKA's locale-immuniteitstheorie op de *Salmonella* infectie. In 1918 en 1919 beschrijft hij, deels in samenwerking met BASSÈCHES enkele proeven met muizen en konijnen. De muizen hadden per os levende *S. paratyphi-B* cultuur ontvangen. (In de hoofdstukken V en VI zal worden uiteengezet, dat verschillende auteurs in aansluiting aan deze niet doodelijke infectie dragerschap en daarmee gepaard gaande vermeerderde resistentie tegen parenterale infectie hebben vastgesteld). Uit een daarop volgende door BESREDKA toegepaste parenterale infectie (let wel later door BESREDKA als toetsing van immuniteit verworpen) bleek ook hier vermeerderde resistentie te bestaan. Daarna diende BESREDKA de immuniseerende cultuur toe na $\frac{1}{2}$ uur verhitting bij 60° C. (wat geen waarborg voor steriliteit is) met hetzelfde effect; ook trad dit op na perorale toediening van gesensibiliseerde cultuur. Hier zij opgemerkt, dat NICHOLS en STIMMEL (1923) met gesensibiliseerde levende cultuur (dus het principe van BESREDKA's gesensibiliseerd typhus-vaccin, zie BAERTHLEIN in KOLLE en WASSERMANN's handboek) van *S. typhi-murium* bij de voor deze infectie zeer gevoelige cavia (*Bacillus pestis caviae*) door subcutane injectie *Salmonella* infectie konden opwekken. Het zal dus in geen van beide gevallen uit te sluiten zijn, dat ook tengevolge van de beide door BESREDKA toegepaste vaccins dragerschap is opgetreden.

Bij het konijn, dat veel minder gevoelig is voor kunstmatige *Salmonella* infectie, gelukte een immunisatie per os met levende cultuur alleen als tegelijkertijd gal werd toegediend. Ook gelukte hem op deze wijze de immunisatie per os met 1 uur bij 60° C. verhitte cultuur; deze dieren ontvingen daartoe 3 dagen achtereenvolgende de respectabele hoeveelheid van $\frac{1}{3}$ afgeschudde Rouxsche flesch agarcultuur. Zoowel na het toedienen van de levende als van de doode cultuur werden agglutinen aangetoond, na de laatste tot een lagere titer (misschien alleen O-agglu-

tininen?). De immuniteit duurde echter voort, als de agglutininen verdwenen waren (een feit, dat ook bij subcutane vaccinatie bekend is).

Volgens BESREDKA (1919) zou na vaccinatie per os de immuniteit zoodanig snel optreden, dat het weinig waarschijnlijk is, dat antilichamen hierbij een rol zouden spelen.

Uit deze proeven heeft zich ontwikkeld het systeem der vaccinatie per os zooals dat bij den mensch wordt toegepast: 3 dagen achtereenvolgens toedienen van een zekere hoeveelheid vaccin, al dan niet voorafgegaan of begeleid door gal (veelal alles in pilvorm) op de nuchteren maag (zie o.a. JACOBITZ (1929)).

Op het zonderlinge in de voorstellingswijze van een locale darm-immuniteit bij deze ziekten is onder meer door KOLLE (1927) de aandacht gevestigd.

„Die Typhus und Paratyphusbacillen dringen in die verschiedenste Organe ein und vermehren sich dort, auch in Fällen, wo sie sich im Darmkanal nur spärlich ansiedeln, und dort auch nur in den Peyerschen Plaques keinesfall in der ganzen Darmschleimhaut“. Dat neemt niet weg, dat KOLLE zelf verklaart de mogelijkheid voor orale toevoer van entstof bij proefdieren tot het opwekken van immuniteit bewezen te achten.

Ook TEISSIER, REILLY, RIVALIER, CABBASSÉDÈS, en DELALANDE (1931) geven naar aanleiding van verzamelde gegevens uit de literatuur en eigen experimenten een weerlegging van de theoretische basis van BESREDKA. Zij wijzen erop, dat reeds LUMIÈRE en CHEVROTIER (1914) en na hen nog 17 andere geciteerde auteurs bactericide, bacteriolytische en antitoxische antilichamen in het bloed van langs intestinalen weg gevaccineerde individuen konden aantoonen¹⁾.

Er blijkt uit de literatuur, dat de galwerking een toxische is en ook parenteraal toegediend zijn werking ontplooit (RENAUX). Genoemd dienen in dit verband de waarneming van WEBSTER (1923), die bij muizen na galtoediening onwel zijn en diarrhee waarnam, en tevens de proeven van GRATIA en DOYLE (1926) die door subcutane injectie van gal caviae gevoelig maakten voor een coli-infectie.

TEISSIER c.s. noemen verder, dat de door BESREDKA als test voor zijn vaccinaties aangegeven infectie per os, indien het van natu-

¹⁾ Hier zij herinnerd aan de onderzoekingen van ACHARD en BLOCH (1924), die met de bedoeling te trachten een test te zoeken op de werking van de perorale enting bij den mensch, na de enting complementbinding aantoonde, echter geen agglutininen. TUFT, YAGLE en ROGERS (1932) namen bij per os geënten geen complementbinding waar.

re weinig gevoelige proefdieren (bijvoorbeeld konijnen ten opzichte van *S. typhi* infectie) betreft, waarbij groote doses cultuur moeten worden gegeven, gepaard gaat met een intoxicatie, door de afbraak van talrijke bacillen. Daarom is deze infectie evenmin als de parenterale te vergelijken met de natuurlijke infectie, waarbij in het incubatietijdperk de bacillen zich in de lymfklieren vermenigvuldigen en zich van daaruit verspreiden. Een kleine dosis cultuur parenteraal toegediend komt er volgens de schrijvers nog het meest mede overeen. De schijnbare electiviteit voor den darm zou meerendeels berusten op een ook na de parenterale infectie optredende uitscheiding.

Tevens zou BESREDKA geen rekening hebben gehouden met de inwerking van de digestiefermenten op het vaccin. TEISSIER en zijn medewerkers behandelden typhus en paratyphus-bacillen met pepsine, trypsine, enterokinase en erepsine; zij appliceerden de zoo verkregen producten daarna parenteraal bij proefdieren en controleerden de zoo verkregen immuniteit. Hun bleek, dat het „endotoxine” een grooten weerstand bood aan de inwerking van pepsine en trypsine. De pepsine beïnvloedde de immuniseerende werking bij de muis slechts zwak, de trypsine verminderde deze tot de helft of $\frac{1}{3}$ van het oorspronkelijke. In dit verband herinner ik hier aan de vergelijking, die BOIVIN c.s. maakten van hun eigen „antigène complet” met de met trypsine behandelde fracties van RAISTICK en TOPLEY. TEISSIER nam waar, dat de inwerking van erepsine en enterokinase de werking van het vaccin sterk vermindert. Na deze laatste behandeling is het volgens hem mogelijk konijnen door intraveneuze injectie actief te immuniseeren, zonder agglutinenen en bacteriolysinen op te wekken. Zoo zou dus de opname van deze afbraakproducten via den darm een algemeene immuniteit teweeg kunnen brengen. TEISSIER c.s. wijzen er tevens op, dat REITER wel met het serum van per os gevaccineerde dieren caviae passief tegen infecties kon beschutten maar niet met een darmwandextract. Mijns inziens is echter dit argument in zooverre onjuist, dat de locale immuniteit een eigenschap van de levende cel zou zijn, die dus bij extractie zou kunnen verloren zijn gegaan.

Ook deelen TEISSIER c.s. mede, dat rectale vaccinatie, die de inwerking van de digestiesappen omzeilt, wel agglutinenen, bacteriolysinen en antitoxinen geeft, en dat de per os behandelde konijnen positief reageeren op een intradermale reactie (volgens GLOUCKOFF en GLOUCKOVA) wat ook in strijd met de locale werking zou zijn.

Tenslotte oefenen zij kritiek uit op de galdosis, die bij den mensch wordt toegediend, daar de menschelijke darm per dag van nature is blootgesteld aan een afgescheiden hoeveelheid van soms wel 800 ccm. gal.

Een zeer aardige aanvulling op deze mededeelingen vormen de onderzoeken van GLYCKOW, KOTSCHWA en ALEXANDER (1933), met honden, die volgens E. LONDON geangiostomeerd waren. Deze operatie schiep de mogelijkheid telkens bloed te betrekken uit de Vena hepatica, de Vena porta, de Vena femoralis enz. Deze honden werden behandeld met „enterovaccine” (typhus-vaccin in tabletvorm) per os. Gedurende het proces der vaccinatie werden monsters bloed uit deze vaten biochemisch en serologisch onderzocht en bij konijnen ingespoten. Bij de konijnen ontwikkelde zich na inspuiting van bloed uit de levervene een agglutinatie-titer van 1 : 800, wat wijst op een toevoer van antilichamen aan het organisme.

Wat heeft aanleiding gegeven de vaccinatie per os naast de reeds jaren bestaande subcutane vaccinatie te propageeren? De subcutane vaccinatie geeft aanleiding tot onaangename reacties, die bij de immunisatie per os uitblijven.

De reactie bij den mensch beperkt zich volgens BAERTHLEIN niet tot een locale met regionale klierzwellings, daarnaast treedt beginnende 1 à 2 uur na de enting een algemeene reactie op, die weliswaar bij het meerendeel der personen van milden aard is. Zij kan echter bestaan uit de volgende symptomen: onwel zijn, rillerigheid, braken, diarree, lusteloosheid, transpireeren, hoofdpijn, bloed-aandrang naar het hoofd en koorts. Den dag na de enting zijn deze symptomen het sterkst, zij kunnen tot 2 à 3 dagen voortduren. Uit het overzicht van BAERTHLEIN blijkt verder, dat allerlei ziekten door deze enting zouden kunnen opflikkeren en onder meer citeert hij 15 gevallen van MATKO, die verliepen onder een typisch typhusachtig beeld.

Bij de vaccinatie per os treden dergelijke verschijnselen niet op, terwijl een ander voordeel van deze zou zijn, dat ze onmiddellijk na de binding van het vaccin met de receptieve cellen haar werking zou moeten ontplooiën, terwijl de subcutane vaccinatie eerst na enkele dagen en na herhaalde injecties haar volle kracht ontplooit. Daarnaast zou een negatieve fase bij de subcutane immunisatie optreden, die bij de perorale zou uitblijven. Onmiddellijk dient bij dit laatste punt opgemerkt, dat OTTOLENGHI en BROTZU (1929) bij konijnen kort na toediening van vaccin per os wel een vermeerderde gevoeligheid, dus een negatieve fase vaststelden.

Daarbij komt nog de gemakkelijke wijze van applicatie bij perorale vaccinatie, die natuurlijk van practisch groot voordeel zou zijn.

b. Subcutane enting, resultaten.

De samenloop van omstandigheden, dat het propageeren der perorale enting viel in eenzelfde tijdvak, dat naar aanleiding van massale subcutane entingen in den wereldoorlog een storm van kritiek over deze entingen losbarstte zal ongetwijfeld mede hebben geholpen om de eerste ingang te doen vinden. Het is daarom niet onbelangrijk de practische resultaten aan een beschouwing te onderwerpen.

De langere tijd, waarin de subcutane enting is toegepast, geeft haar dezen voorsprong boven de perorale, dat er gelegenheid is geweest tot het bijeenbrengen van talrijke ervaringen. Men bedenke, dat de subcutane enting tegen de typhusinfectie reeds in de Zuid-Afrikaansche oorlog is toegepast (zie HARVEY), terwijl de practische toepassing van de enting per os eerst uit de laatste 15 jaar stamt.

Een der uitgebreidste toepassingen van de subcutane enting heeft plaats gehad in den Wereldoorlog (1914—1918), een groot deel der strijdkrachten was in dezen oorlog subcutaan gevaccineerd.

De enting onder de Duitse troepen is uitvoerig beschreven door PFEIFFER (1922) in HOFFMANN's Handbuch der ärztliche Erfahrungen im Weltkriege Bnd. 7. Waardevolle mededeelingen zijn o.a. ook te vinden bij HÜNERMANN (1916), GALAMBOS (1917), KAYSER (1924) en KOLLE en HETSCH (1934). Uit deze mededeelingen blijkt, dat toen in September 1914 aan het Westelijk front de typhus-gevallen snel toenamen, vanaf October de verplichte enting werd ingevoerd, eerst aan het Westelijk front, later ook aan de andere fronten. Als stam voor vaccinbereiding werd aanvankelijk gebruikt de stam „RUSSELL”¹⁾, waarmede in het Amerikaansche leger reeds jaren lang was geënt. Later, vanaf Juli 1915, werd gebruik gemaakt van 6 stammen van verschillende krijgstooneelen. Aanvankelijk werd het vaccin bereid volgens het systeem van PFEIFFER en KOLLE (verhitte bij 60° C.), later volgens het systeem van LEISHMAN (verhitte 2 uur bij 53 à 55° C.), hetzelfde systeem, dat ook bij de Engelsche troepen werd gebruikt. Na de verhitte werd aan het vaccin, dat bestond uit afgeschudde agarcultuur in physiologische keukenzoutoplossing, 0,5% phenol toegevoegd. De houdbaarheid van dit vaccin werd op 6 maanden gesteld. De subcutane enting werd driemaal met intervallen van een week verricht (0,5 ccm., 1 ccm. en 1 ccm.). Bij de eerste herenting na 8 maanden werden 2 injecties (0,5 ccm. en 1 ccm.) met interval van 7 dagen verstrekt, bij volgende herentingen telkens eenmaal 0,5 ccm. GALAMBOS vermeldt dikwijls temperatuurverhooging na de enting te hebben waargenomen, soms gepaard gaande met andere symptomen. Volgens PFEIFFER was speciaal de 2e enting begeleid door toxische verschijnselen, de 3e werd dan weer beter verdragen. Het systeem van

¹⁾ Vermoedelijk is deze identiek met den stam „Rawlings” zie BAERTHLEIN blz. 1323.

LEISHMAN had den naam minder toxisch te werken dan het aanvankelijk toegepaste. PFEIFFER verklaart, dat na de enting geen echte negatieve phase optrad, wel werden tal van ziektegevallen, die in het incubatiestadium verkeerden manifest. HÜNERMANN, die in 1916 zeer gedetailleerde mededeelingen heeft gedaan, beschouwde dat n.b. als een voordeel bij de hygiënische bestrijding van de ziekte.

Na Januari 1915 blijkt de typhus sterk afgenomen en blijft de morbiditeit zelfs onder zeer onhygiënische omstandigheden in een sterk besmet operatieterrein (Sommeslag, waar tevens groote aanvoer van versterkingen het ontstaan van een epidemie zou hebben moeten bevorderen) zeer gering. Ook zouden de geënten veelal een lichter verloop hebben getoond.

Bij het Oostenrijksch-Hongaarsche leger waar volgens hetzelfde systeem omstreeks Januari 1915 werd geënt, werd volgens KAUPP (geciteerd door GALAMBOS) kort na de enting een zelfde gunstige invloed op de morbiditeit waargenomen.

Verschillende bijzonderheden betreffende deze entingen zullen bij de bespreking van de kritiek op de oorlogsenting nader worden behandeld.

Gegevens betreffende de Engelsche troepen vinden wij bij LEISHMAN (1921) en bij MACPHERSON, LEISHMAN en CUMMINS (1923). Van de Engelsche troepen waren bij het begin van den oorlog reeds 35% geënt. Aanvankelijk werd gebruikt typhus-vaccin (T.V.), sinds Februari 1916 werden *S. paratyphi-A* en *S. paratyphi-B* aan het vaccin toegevoegd (T.A.B.). Bereiding geschiedde volgens systeem van LEISHMAN, er werd echter geconserveerd met 0.3% Lysol. Als typhusvaccinstam werd gebruikt de typhusstem „Rawlings”. De enting geschiedde tweemaal met interval van 1 week. Volgens de Engelsche auteurs bleek deze enting beter te werken dan de methoden van VINCENT en van CHANTEMESSE, waarmee de Fransche troepen waren geënt; de morbiditeit onder deze was volgens hen grooter dan onder de Engelsche. Ook bij het Engelsche leger viel de gunstige werking van enting waar te nemen. Speciaal nam de morbiditeit af. Aan de talrijke tabellen van LEISHMAN zij alleen ontleend:

Typhus: geënt: gevallen	1728 : 79 (dooden)	4.57%
„ „	703 : 129	18.35%
		<hr/>
		13.78% ± 1. 18%.

HARPER (1920) wijst speciaal op het opvallend milde verloop na de enting.

Zooals reeds gemeld waren de Fransche troepen geënt met het geaetheriseerde vaccin van VINCENT of met het verhitte vaccin van CHANTEMESSE (100° C. 20 à 15 minuten?, zie BAERTHLEIN blz. 1323). MELNOTTE (1932) deelt mede, dat de verplichte enting in het Fransche leger berust op een wet van 28 Maart 1914. Tot 1916 werd toegepast een viermalige enting met intervallen van een week; daarna werden slechts 2 injecties gegeven. Aanvankelijk werd T.V. toegepast, later T.A.B.

Van Fransche zijde is men over deze enting minder ontevreden, dan de zoo juist genoemde Engelsche auteurs. Zoo geven HÉBERT en BLOCH (1922) zeer demonstratieve gegevens uit het hospitaal voor besmettelijke ziekten te Bois le Duc, dat zijn patiënten ontving uit de Argonnen; 5987 maal werd door haemocultuur de diagnose typhus of paratyphus gesteld. 275 sterfgevallen kwamen voor,

77 hiervan (28.2%) waren niet gevaccineerd, 133 waren onvoldoende gevaccineerd, totaal 77%. Van 1000 patiënten met andere ziekten, die einde 1915 en begin 1916 werden verpleegd, onderzochten zij welk percentage geënt was om zoo-doende een indruk van de enting in het leger te verkrijgen; slechts 142 waren niet geënt.

Typhuspatiënten	275 : 77 (ongeënt)	28.2%
Ter vergelijking	1000 : 142	14.2%
		<hr/>
		14. % ± 2.56%

Uit deze vergelijking blijkt evenals de schrijvers concludeeren, dat de typhus onder niet of onvoldoende geënten meer slachtoffers maakte dan onder de lege artis geënten.

Het was te voorzien, dat deze uitgebreide entingen ook na de demobilisatie hun invloed nog een tijd zouden doen gelden. Dit bleek, doordat de geënte soldaten minder door typhus werden aangetast dan de niet geënte burgerbevolking tehuis. Van Deutsche zijde treft men hierover het volgende aan.

Het Deutsche leger was voor de laatste maal geënt tusschen Juli en October van 1918. ICKERT (1922) bestudeerde in het werkingsgebied van het Untersuchungsamt te Stettin, dat een gebied van 1306269 inwoners omvat, gedurende het jaar 1919 de typhusmorbiditeit. Het bleek, dat bij 128 vrouwen en 35 mannen van den leeftijd van 19 tot 48 jaar (leeftijd der gedemobiliseerden), de diagnose typhus was gesteld. Het merkwaardige verschijnsel deed zich hierbij voor, dat het getal voor de vrouwen zoowel als dat voor de mannen vrijwel overeenkwam met de getallen tijdens de oorlogsjaren, toen de geënten zich te velde bevonden. Naar schatting bestond het bevolkingsdeel van 19 tot 48 jaar uit 225000 mannen en 269000 vrouwen. Berekenen wij dus:

Mannen	225000 : 35	0.155%
Vrouwen	269000 : 128	0.476%
		<hr/>
		0.321% ± 0.051%

Van deze 35 gevallen waren 19 geënt, 12 niet geënt, van 4 was onbekend of zij geënt waren.

Schrijver rekent, dat 10% van de mannen van dezen leeftijd niet gemobiliseerd en dus niet geënt is geweest; berekening:

Geënt	202500 : 23	0.113%
Onggeënt	22500 : 12	0.534%
		<hr/>
		0.421% ± 0.027%

ICKERT wijst erop, dat zoowel uit eigen getallen als uit die van anderen (o.a. FORNET voor het Saargebied) blijkt, dat normaliter de vrouwen minder worden aangetast dan de mannen.

In de eerste naoorlogsche jaren hebben verder enkele massale epidemiën, vermoedelijk veroorzaakt door verontreinigd leidingwater, gelegenheid geboden waarnemingen te doen. Het betreft hier de epidemiën te Pfortzheim (1919) te Dittersbach (1922) te Anklam (1925) en te Hannover (1925).

Van de beide eersten en van de laatste zijn de cijfers door KNORR (1927—1929) bewerkt volgens de regels der kansberekening. Het blijkt hem, dat bij al deze epidemiën de oud-strijders significiek minder waren aangetast dan de vrouwen van denzelfden leeftijd. Het verschil was in den loop der jaren wel minder groot geworden maar nog bij de groote epidemie te Hannover, waarbij 2224 menschen werden aangetast (zie de beschrijvingen van HAHN, JÜRGENS en STEINITZ (1927)) merkbaar. Van de epidemie te Anklam vermeldt SCHENKA hetzelfde.

Daarnaast zijn tal van waarnemingen in Duitschland gedaan, die meer op rangschikking van sporadische gevallen in bepaalde gebieden berusten, en die hetzelfde feit beschrijven.

ABEL (1924) constateerde het voor Pruisen in de jaren tot en met 1922. HAGE (1924) stelde het vast voor het gebied van de versterkte typhus-bestrijding in Midden-Duitschland in de jaren 1921 en 1922. LENTZ (1925) nam het waar bij verschillende kleine typhus-epidemiën in de zomer van 1925 in Pruisen. WEIGMANN (1925) constateerde deze verschillen in Sleeswijk-Holstein; hij nam ze echter ook bij paratyphus-B waar en weet ze niet aan de enting. SCHEVEN (1926) zag in Mecklenburg Schwerin in de jaren 1919 tot en met 1924 bij een zeer uitgebreid materiaal hetzelfde verschijnsel. Van de inwoners geboren tusschen 1895 en 1899 stelde hij vast:

Mannen	27234 : 96	35.1 ⁰ /000
Vrouwen	32991 : 243	73.8 ⁰ /000
		—————
		38.7 ⁰ /000 ± 6.33 ⁰ /000

en van de inwoners geboren tusschen 1900 en 1904 (dus niet meer geënt):

Mannen	37354 : 273
Vrouwen	34654 : 287

In de jaren 1900 tot 1913 waren in dat gebied 1108 mannelijke en 1025 vrouwelijke typhus patiënten van 21 tot 40 jaar en in 1919 tot 1924 respectievelijk 399 en 810.

SIEVEKING (1929) deed dergelijke waarnemingen voor de stad Hamburg van 1919 tot 1927 en vergeleek deze jaren met de jaren 1901 tot 1913. Als correctie diende hij de talrijke gevallen onder zeevarenden af te trekken.

Van Fransche zijde treffen wij dergelijke mededeelingen aan, al omvatten deze slechts kleine getallen.

Van de 25 typhusgevallen die ACHARD (1921) gedurende 15 maanden in het hospitaal te Beaujon observeerde betroffen 17 vrouwen en 8 mannen; 3 van

deze mannen waren in den oorlog gevaccineerd, 1 ervan echter met T.V., deze was lijdende aan een paratyphus-B infectie.

CHAUFFARD (1921) zag in de kliniek te St. Antoine in de jaren van 1918 tot 1920 33 typhus gevallen, 10 betroffenen mannen, 23 vrouwen; geen enkele van de mannen was geënt.

Bij een typhusepidemie onder de arme bevolking van Le Havre in 1922 tengevolge van het eten van aan het strand geraapte schelpdieren constateerden LOIR en LEGAGNEUX (1922) 34 gevallen bij vrouwen en 26 gevallen bij mannen. Van deze 26 mannen stond bij slechts 1 met zekerheid vast, dat deze tijdens den oorlog was gevaccineerd. Van 1900 tot 1909 werden te Le Havre 387 gevallen onder mannen en 334 gevallen onder vrouwen waargenomen.

COURTOIS—SUFFIT, BOURGEOIS en REYMOND—GARCIN (1924) namen in hun hospitaal te Parijs van 1 Juli 1919 tot 13 Februari 1924 104 typhusgevallen waar onder mannen en 222 onder vrouwen. Van de mannen die in den oorlog waren geweest was een belangrijk deel blijkens hun militair zakboekje tijdens den oorlog niet geënt geweest.

Hoe demonstratief ook in het oog der meesten de resultaten van deze enting zouden mogen zijn geweest, toch hebben ook zij aanleiding gegeven tot de noodige kritiek.

In de eerste plaats dienen daarbij genoemd de herhaalde aanvallen van FRIEDBERGER, dezelfde die in 1926 een filtreerbaar typhus-virus meende te kunnen aantoonen¹⁾ en wiens kritische houding verband houdt met zijn persoonlijk inzicht in deze vraagstukken. Daarnaast schaart zich SPÄT, die reeds in het begin van den oorlog op theoretische gronden skeptisch tegenover de enting stond.

De motieven van FRIEDBERGER (1919, 1920, 1927), waarvan hij de meeste reeds het eerst naar voren bracht in een tijdens den oorlog gehouden lezing, waarvan de publicatie in druk door de censuur werd verboden, laten zich samen vatten als volgt. Voorop gesteld zij, dat FRIEDBERGER, zooals hij dit op de vergadering van de Deutsche Vereinigung für Mikrobiologie in Weenen 1927 nogmaals heeft uiteengezet, geen geloof hecht aan enting met gedooide cultuur in het algemeen. Hij kan de geringe typhus- en cholera-sterfte tijdens den laatsten oorlog niet in de eerste plaats zien in verband staande met de enting. Deze houdt hij eerder voor schadelijk, daar HÜNERMANN en anderen vermeerdering van de typhusgevallen kort na de enting hebben waargenomen. Het is een feit, dat de typhus reeds tientallen voor den oorlog door hygiënische maatregelen zonder enting sterk is afgenomen; in Pruisen is de typhusfrequentie in 40 jaar tot een tiende teruggebracht, in het Pruisische leger heeschte in 1908 en 1909 twintig maal minder de typhus dan in de jaren 1873 tot 1878. Hieraan zou het dan te wijten zijn, dat in dezen oorlog de frequentie geringer was dan in dien

¹⁾ Klin. Wschr. 1926 782; Over filtreerbare typhusbacillen zie ook G. SANARELLI en A. A. ALESSANDRINI An. de l'Inst. Pasteur 51, 170, (1933).

van 1870—1871. Het verloop in het najaar van 1914 is volgens FRIEDBERGER te vergelijken met dat in 1870:

1870 Augustus $2.0\frac{0}{00}$, October $20.1\frac{0}{00}$.

1914 Augustus $0.1\frac{0}{00}$, December $1.5\frac{0}{00}$.

Daarom mag men volgens hem beide gevallen vergelijken; ook het feit, dat in den winter van 1870—1871 zoowel als in dien van 1914—1915 de morbiditeits-curve sterk is gaan dalen. Dit zelfde geleidelijk verminderen van de typhus-frequentie is ook bekend uit vroegere oorlogen: veldtocht in Algiers 1855—1856, Amerikaansche burgeroorlog 1860—1866, Hereroveldtocht in Zuid-West-Afrika 1905—1907. FRIEDBERGER brengt dit in verband met het geleidelijk gewennen aan de omstandigheden te velde. Ook wijst hij erop dat in dezen laatsten oorlog de medische dienst zich eerst in zijn taak moest inwerken waardoor allicht vele ziektegevallen in het begin van den oorlog abusievelijk als typhus zijn gediagnostiseerd, b.v. paratyphus (bevestigd door BUMKE (1926) en volgens FRIEDBERGER ook loopgravenkoorts. Voorts voert FRIEDBERGER aan, dat de overgang van den bewegingsoorlog naar den stellingoorlog in deze gunstig zou zijn geweest. De groote frequentie onder de burgerbevolking in het bezette gebied wil hij in geen geval in vergelijk brengen met de geringere frequentie bij de troepen, immers deze bevolking bestond meerendeels uit de niet uitgeweken minder-gesitueerden, waaronder vele vrouwen, kinderen en ouden van dagen, terwijl door het geheim houden van lichte gevallen veel meer besmettingskans bestond. Ook zou volgens hem het verloop niet alleen van den typhus zijn geweest volgens de gewone regels eener epidemie; ook de dysenterie die niet door enten is bestreden, zou tijdens den oorlog in heftigheid zijn verminderd. Tenslotte heeft hij er in 1927 op gewezen dat hij de verhoogde weerstand der oudstrijders reeds in 1916 heeft voorspeld, en wel in verband met een doorzieken in den troep. Hij gelooft niet in een langen duur van de immuniteit tengevolge van de enting, ook niet omdat men tijdens den oorlog de werking op maximaal $\frac{1}{2}$ jaar stelde en men poogde daarmee allerlei onvolkomenheden te verklaren. De waarneming van WEIGMANN, die onder oudstrijders ook minder paratyphus-B infectie waarnam, beschouwt hij in deze als een motief.

SPäT (1926—1928) herhaalt deze motieven meerendeels en voegt er nog de volgende nieuwe aan toe. Men heeft beweerd, dat na de enting de typhus een milder verloop had; SPäT vermoedt, dat deze gevallen in het begin over het hoofd werden gezien. Wat betreft het plotseling afnemen van een epidemie na een enting noemt hij een frappant voorbeeld aan het Oostelijk front, waar de cholera bij de Oostenrijkers (geënt) en de Russen (ongeënt) gelijktijdig kort na de enting bij de Oostenrijkers tot staan kwam. Hij toont met cijfers, ontleend aan HÜNERMANN (1916) en uit eigen waarneming, aan, dat er meer personen kort na de enting (eerste 3 maanden) dan later ziek worden. Dit feit is ook door MÜLLER vastgesteld. SPäT verwacht van de enting toename der bactericide eigenschappen, die hij n.b. als ongunstig beschouwt in verband met het vrijkomen van veel endotoxinen. De toename van typhus kort na de enting is door BASTEN (1920) bij enting door de Engelsche overheid in het bezette gebied te Euskirchen (enting volgens het Engelsche legersysteem) ook waargenomen. In 1928 doet SPäT mededeeling van een epidemie in een Slavonisch garnizoen, waarvan hij de cijfers ontleent aan een in een voor hem ontoegankelijke taal gestelde publicatie van SCHLESINGER. Op de feiten van deze publicatie is een

correctie verschenen van HIRSCH (1928). SPäT ziet in deze door hem onjuist geïnterpreteerde cijfers een bevestiging van zijn theorie: vermeerderde gevoeligheid in de eerste 3 maanden na de enting.

MÜLLER (1917), die ook onder geënten typhusgevallen waarnam, LEHMANN (1919) die hetzelfde mededeelt en de verminderde morbiditeit toeschrijft aan „abklingen” van de epidemie naast betere hygiënische omstandigheden, GALAMBOS (1920), die kort na de enting in een bataillon 33 typhusgevallen waarnam, en DRENKHAHN (1927), die gelijktijdig in de voorste linies waar niet was geënt den typhus zag verminderen en achter het front bij een regiment cavalerie aansluitend op de enting den typhus massaal zag uitbreken, — zij allen hebben gemeend hun stem te moeten verheffen tegen de subcutane enting, zooals deze in den oorlog is toegepast en hebben deels de bouwstenen geleverd voor de betoogen van FRIEDBERGER en SPäT.

Het is wenschelijk al deze motieven onder het oog te zien en ze te pogen te weerleggen.

De vermeende schadelijkheid van de enting berust op getallen, die op zichzelf niet zijn omver te werpen. Het zou aan laster grenzen, deze alle op rekening te schuiven van een feit, dat door BÜRGER (1927) werd medegedeeld, als waarneming in hetzelfde gedeelte van de Argonnen, waar DRENKHAHN na de enting massaal de ziekte zag uitbreken bij een cavalerie-regiment. Uit enkele monsters „vaccin” kweekte hij n.l. levende bacillen. Het is daarom tevens wel opmerkelijk, dat in Frankrijk en België waar volgens VINCENT in tal van door typhus aangetaste gezinnen subcutaan is geënt, terwijl er besmettingskans bestond, hiervan niets is gebleken.

Wat betreft den vermeenden invloed van de wetmatigheid van toename en afname van de typhus zijn de volgende motieven naar voren gebracht. Aan het Vogezenfront heerschte de ziekte zeer heftig en werd reeds in September 1914 met de enting begonnen, zooals WOLFF—EISSNER (1920) vermeldt. Daarop nam de epidemie sterk af onder de geënte troependeelen en was reeds in December, toen bij andere deelen van het leger het maximum viel, de frequentie hier al lang sterk gedaald. Temeer is dit een steekhoudend motief, daar één der legerkorpsen door tegenstand van de militaire leiding niet geënt was en hier de ziekte zich bleef uitbreiden. Een ander motief tegen de verminderde heftigheid van de epidemie vinden wij

bij KAYSER (1924). In de zomer van 1916 stierven aan het Somme-front verscheidene officieren, die op hun verzoek niet geënt waren, terwijl de geënte manschappen vrij bleven. Een afdeling reserve werd kort na aankomst sterk door typhus aangetast. Volgens de zakboekjes waren deze manschappen 3 maal gevaccineerd. Bij nauwkeurige ondervraging bleek in werkelijkheid om tijd te winnen de geheele entdosis in eenmaal te zijn geïnjecteerd. Terecht heeft WOLFF—EISSNER erop gewezen, dat deze sterke toevoer van nieuwe strijdkrachten, die veel grooter was dan in vroegere oorlogen, de factoren „Durchseuchung Gewohnung” van minder gewicht deed zijn dan in eerdere oorlogen. Het laat zich zelfs begrijpen, dat de toevoer van talrijke nieuwe regimenten, zooals in de eerste Champagne-slag (Januari 1915, zie HILGERMANN) aanleiding tot opflikkeren van de epidemie zou hebben kunnen zijn. WOLFF—EISSNER heeft tevens gemeend de theoretische opmerking te moeten maken, dat vanouds de stellingoorlog gunstiger is voor verspreiding van epidemiën dan de bewegingsoorlog. Dit motief houdt geen stand als men bedenkt, dat de opmarsch plaats vond door een besmet gebied, kort tevoren door besmette troepen verlaten, terwijl in latere jaren in den stellingoorlog de hygiënische organisatie bijvoorbeeld wat betreft eliminatie der excreta gunstig afstak bij die in oudere oorlogen (zie PRAUSNITZ in HOFFMANN's handboek, en FROMME (1934)).

Echter wordt zoowel van Duitsche zijde (PRAUSNITZ) als van Engelsche zijde (Official History of the War, Medical Services, Pathology) erop gewezen, dat tijdens de offensieven waarbij de watervoorziening stagneerde, gedronken is uit granaattrekkers, die eveneens als latrine waren gebruikt.

Al moge de burgerbevolking niet geheel vergelijkbaar zijn, toch bleef zij een bewijs, dat de infectiekans nog steeds onverminderd bestond. STINTZING b.v. vermeldt gevallen, waarbij toevallig ongeënte soldaten zich infecteerden in een besmette herberg, die door vele geënten zonder schade werd bezocht.

Dat ook de dysenterie in den oorlog zou zijn afgenomen wordt o.a. door STINTZING ten stelligste ontkend, die het onverminderd woeden van paratyphus en dysenterie juist noemt als motief vóór de typhusenting.

Wil men de langdurige immuniteit na den oorlog toeschrijven aan een voorafgaand doorzieken, dan nog pleit dit voor de werking van de vaccinatie tijdens den oorlog; immers dit doorzieken zou dan meerendeels symptomeloos hebben moeten plaats vinden. ICKERT wijst er verder op, dat in met typhus besmette streken als b.v. Pom-

meren evengoed de niet-soldaten kans zouden gehad hebben op een dergelijke zelfimmunisatie door een lichte infectie. Daarbij is volgens hem in den oorlog juist een deel van de krachtigste mannen uitgeselecteerd, terwijl bij de niet-combattanten thuis, door het gebrek, de zieken en de zwakken gedecimeerd zijn.

Het is daarbij opmerkelijk, dat in Frankrijk, waar men het leger in vreedestijd ook ent, de mannen na de beëindiging van hun diensttijd dezelfde vermeerderde resistentie bezitten als de oudstrijders uit den oorlog. TANON en CABBASSÉDÈS (1934) stelden dit vast bij waterleiding-epidemiën in 1933 te Parijs en te Lyon. Verder dient te worden opgemerkt, dat het paradoxaal karakter (FRIEDBERGER spreekt van een Januskop) ook hierin kan liggen, dat de vermeerderde resistentie nog wel voldoende was om te beschutten tegen de lichtere en onder gunstige algemeene omstandigheden plaats vindende infectie in vreedestijd en niet tegen de infectie in oorlogstijd.

De waarneming van WEIGMANN is door KOLLE hiermede verklaard, dat werkelijk een belangrijk deel van het Duitsche leger tot het laatst toe in de gelegenheid is geweest door te zieken met paratyphus-B. Hij wijst op de cijfers, die BUMKE hierover in het reconvalescentenstation te Spa verzamelde.

Dat het vanouds bekend zou zijn, dat volwassen mannen minder vaak typhus krijgen, wordt door KOLLE ten sterkste ontkend. Verscheidene cijfers uit den vooroorlogschcn tijd bewijzen het tegendeel.

Het hoofdmotief van SPÄT, dat de typhusfrequentie het hoogste zou zijn in de eerste 3 maanden na de enting, is misschien te wijten aan een geleidelijk optredende groepsresistentie (herd-resistance) namelijk, dat tengevolge van de enting de infectiekansen afnamen. Bij de cijfers van SPÄT bedenke men, dat dit meestal zeer geringe percentages ten opzichte van het geheel zijn geweest. Ook laat zich veronderstellen, dat op de basis der vaccinatie door subminimale infectie een toenemende immuniteit ontstond.

In de literatuur der laatste jaren zijn nog verscheidene verspreide mededeelingen over de subcutane enting bij den mensch te vinden, meerendeels spreken zij ten gunste soms ten ongunste van de vaccinatie.

In de eerste plaats zijn hier genoemd nog enkele waarnemingen aansluitende aan den wereldoorlog. Zoo bijvoorbeeld de bestrijding van den typhus onder de burgerbevolking in Ostende tijdens den oorlog, waarbij volgens FÜRTH, PFLUG-

BEIL en OERTEL met succes van de typhusenting werd gebruik gemaakt. Eveneens de gunstige resultaten, die VINCENT (1921) meldt van entingen onder de burgers achter het Fransche front. Ten laatste de beschrijving van de enting onder de burgerbevolking in het door Engelsche troepen bezette Euskirchen door BASTEN (1920), waarbij niet zoozeer het aantal der aangetasten als wel het gunstige verloop bij de geënten opviel.

Verder dienen genoemd de gunstige resultaten in Frankrijk, Spanje en België, bij het enten in besmet milieu onder burgers vermeld door VINCENT. Er zij in het bijzonder op gewezen, dat deze ten stelligste een schadelijken invloed in den vorm van meerdere gevoeligheid kort na de enting ontkent; hij vermeldt enkele gevallen, waarbij in een gezin de besmetting onder ongeënte gezinsleden zich bleef uitbreiden, terwijl de na het uitbreken van de infectie geënte gezinsleden vrij bleven. Het blijkt, dat in Frankrijk jeugdige en zwakke personen gewoonlijk eveneens worden geënt zonder ernstige entreactie. RENAURD en DUCHEIN (1922) deelen zelfs mede, zonder dat besmettingsgevaar bestond, 50 zuigelingen te hebben geënt en bevelen preventieve enting van zuigelingen warm aan. In haar zitting van 12 April 1921 heeft de Académie de Médecine te Parijs, na bespreking van een rapport namens een hiertoe benoemde commissie door CHAUFFARD uitgebracht, geconcludeerd tot de wenschelijkheid van het bevorderen van de subcutane vaccinatie met T.A.B. vaccin onder de burgerbevolking, speciaal daar waar een epidemie uitbreekt, en deze dan uit te strekken over de geheele bevolking, ook over kinderen en ouden van dagen.

Daar tegenover staat, dat subcutane enting toegepast tijdens de waterleiding-epidemie te Hannover volgens JÜRGENS (1927) en STROEBE (1928) geen gunstig resultaat heeft opgeleverd. JÜRGENS echter vermeldt, dat 10 % van de bevolking (dat is 42.000 personen) geënt zijn en dat hieronder 8 ziektegevallen zijn voorgekomen. Als men daarbij in aanmerking neemt, dat in totaal 2224 typhus-gevallen in de stad Hannover in het najaar van 1925 zijn geconstateerd, dan hoeft deze waarneming niet zoo ongunstig te zijn als ze schijnt. STROEBE deelt mede stormachtig verloopende gevallen in aansluiting op de enting te hebben waargenomen, speciaal na de tweede injectie.

Het is zeer vermoedelijk, dat deze gevallen meer te wijten zijn aan de toxiciteit van de hier gebruikte entstof. HILGERMANN (1927) heeft daarom voorgesteld, de in den handel gebruikelijke concentraties enkele honderdenmalen te verdunnen.

Het is van belang hier te wijzen op de uitvoerige mededeeling van MELNOTTE (1932) over de typhusenting in Marokko. Hij waarschuwt tegen het slechts eenmaal en tweemaal enten en stelt vast, dat de oorspronkelijke Fransche methode met vier injecties de beste immuniteit geeft; van de 159 gevallen van typhus onder geënten in Marokko sinds daar de enting werd ingevoerd, waren er 140 die geënt waren met slechts 1 injectie, een systeem dat daar van 1921—1925 is toegepast, maar sindsdien verlaten is voor de tweemaalige enting.

In het kort zij gemeld gunstige resultaten waargenomen door WALCH (1922) te Batavia en van ISMAEL (1934) in Turkije.

Tenslotte zij nog genoemd een mededeeling van MIYOSHITA over enting onder mijnwerkers en soldaten in Japan, over het resultaat waarvan hij niet tevreden is.

Ook bij verschillende huisdieren zijn, zij het niet dikwijls en met wisselend resultaat, entingen op kleine schaal tegen spontane *Salmonella*-infecties verricht.

Zonder volledig te willen zijn, noem ik hier de mededeelingen van KARSTEN (1926) over enting bij schapen en lammeren, waarbij ziekte in aansluiting aan de enting optrad, van GURWITCH, die merries tegen *S. abortus-equi* infectie entte zonder resultaat, en van EDWARDS (1934), die met resultaat veulens entte tegen een *S. typhi-murium* infectie.

Ook in de hoofdstukken VIII en IX zullen hiervan nog voorbeelden genoemd worden. Tot het vormen van een oordeel over de waarde eener vaccinatie zijn dergelijke verspreide en deels tegenstrijdige mededeelingen van weinig waarde.

Uitgebreide experimenten bij proefdieren, waarvan die bij muizen verricht in een volgend hoofdstuk nader zullen worden besproken, bevestigen de mogelijkheid van het opwekken van vermeerderde resistentie door subcutane vaccinatie.

c. Perorale enting, resultaten.

Wat betreft de vaccinatie per os zijn de gegevens spaarzamer en minder overtuigend. Eigen falen bij kleine proefdieren heeft geleid tot de verplichting de in de literatuur beschikbare gegevens betreffende de enting bij den mensch, waarbij volgens de voorstanders van dit systeem op deze wijze verhoogde resistentie is te verkrijgen, zoo uitvoerig mogelijk te bespreken en te beoordeelen.

Nadat BESREDKA de preventieve enting per os had geprogeerd, vinden wij daarvan een eerste beschrijving van een toepassing op groote schaal door VAILLANT (1922). Deze paste de enting toe in 6 kleine dorpen in het Fransche departement Pas de Calais. Het meerendeel van de bewoners leefde daar sinds den oorlog in houten barakken. De infectie werd aan slecht drinkwater geweten. Zijn resultaten zijn:

Niet gevaccineerd 600 à 650 personen, ziek 50 7.7%.

Gevaccineerd subc. 2 x met T.A.B. 173 personen, ziek 4 2.5%.

Gevacc. per os 1236 personen, ziek 2 0.17% (en 2 in het incubatiestadium geënt).

Bij nadere beschouwing blijkt, dat 29 gevallen waren voorgekomen in de maand, die aan de enting voorafging. Het is dus beter te vergelijken:

Niet gevaccineerd 650 : 21 3.23%

Subc. gevaccineerd 173 : 4 2.31%

Per os gevaccineerd 1236 : 2 0.17%

Echter zijn er nog enkele omstandigheden, die in rekening dienen te worden gebracht. De 650 contrôle-personen zijn individuen, die aan de enting zijn ontsnapt; dit kunnen personen zijn, die door hun roekeloosheid ook meer kans liepen te worden geïnfecteerd. Verder zijn de gevallen niet gelijkmatig over de gehuchten verdeeld: de zwaarste infectie heerschte in het dorp, waar subcutaan geënt is; in de maand, die aan de enting voorafging, werden hier 27 van 118 menschen ziek. Hoewel met het oog op het epidemiologisch verloop dit niet geheel is te verantwoorden, kunnen wij als vergelijk beter stellen de maand voor de vaccinatie (half Augustus tot half September) met de maand na de vaccinatie (half September tot half October).

Vóór de subc.enting 181 : 27 14.91%

Na de subc.enting 158 : 3 1.90%

13.01% ± 3.08% quotient 4.05.

Vóór de perorale enting 181 : 27 14.91%

Na de perorale enting 23 : 0 0.00%

14.91% ± 7.41% quot. 2.00.

In de 5 andere gehuchten verliep de ziekte veel minder heftig zoowel na als vóór de enting. Laten wij in het midden of de 650 contrôles als zoodanig zijn te gebruiken, dan blijkt in ieder geval, dat in tegenstelling met de conclusie van den schrijver, de subcutane enting zeker geen slechter resultaat heeft gehad dan de perorale enting.

In 1923 was BESREDKA zelf in staat gedurende een typhus-uitbraak onder leerlingen van de cadettenschool te La Flèche zijn vaccinatiemethode te probeeren. Van 8 April tot 18 April waren daar 43 typhusgevallen waargenomen. Geënt werden op 19 en 20 April 253 personen subcutaan en op 22, 23 en 24 April 268 personen per os. In het tijdperk tot 10 Mei (20 dagen na enting) werden onder de subcutaan geënten nog 10 ziektegevallen opgemerkt; tot 5 Mei onder de per os geënten 5 gevallen. Daarna kwamen geen nieuwe gevallen meer voor. De per os geënten waren zwakkere individuen die volgens het oordeel van de Médecin Inspecteur Général niet geschikt(!) waren om subcutaan te worden geënt. Echter zij opgemerkt, dat een epidemie, die in een maand tijd een morbiditeit oplevert van 523 : 58 dus 11.0% in een gesloten milieu kans zal loopen ook uit zichzelf weer op te houden, zoodat niet is uit te maken hoe zonder enting het verder verloop zou zijn geweest.

Zooals ook SEYFFARTH in 1925 mededeelt, heeft GAUTHIER

in 1924 (tijdens zijn verblijf in de Balkan in opdracht van den Volkenbond, ter bestrijding van besmettelijke ziekten onder de Grieksche vluchtelingen uit Klein-Azië) de vaccinatie per os toegepast bij een waterinfectie met typhus in 3 Grieksche dorpen. GAUTHIER (1924) gebruikte deels enterovaccin volgens LUMIÈRE en bilivaccin van de „Biotherapie" te Parijs, maar grootendeels in Athene bereid vloeibaar bouillonvaccin. Van dit laatste werd aan een volwassen persoon per dag 1 cc. verstrekt, 0.5 cc. aan kinderen boven 2 jaar, 0.25 cc. aan kinderen beneden 2 jaar. De enting geschiedde gedurende 3 achtereenvolgende dagen. In deze kleine dorpen vertoefden vele zomergasten uit Athene. De ziekte brak in Juli uit en werd toegeschreven aan besmette bronnen. Te Kakossalessis (1400 inwoners) waren tot 11 September ongeveer 80 ziektegevallen voorgekomen met 4 dooden; op de op dien datum volgende dagen werden geënt totaal 1043 personen. Nadien traden nog 10 nieuwe gevallen bij niet gevaccineerden en 1 geval bij een gevaccineerde op (7 dagen na de enting), vanaf den 25en dag na de enting werden geen nieuwe gevallen meer waargenomen. Te Vassilikos (1800 inwoners) waren voor de enting in November 1923 42 zieken voorgekomen met 3 dooden. Alle inwoners werden geënt; tot Maart werden daarna nog 4 gevallen geconstateerd. Te Filla (700 inwoners) waren voor de enting in November 1923 34 zieken voorgekomen met 1 doode. Ook hier werden alle bewoners geënt; tot Maart daaropvolgend kwamen geen nieuwe gevallen meer voor. Men bedenke hierbij, dat speciaal de nazomer en de herfst de maanden zijn, dat typhus het meeste voorkomt, en dat allicht de toevloed van zomergasten een factor bij het ontstaan is geweest: toevoer van nieuwe individuen in een gesloten populatie.

GAUTHIER vermeldt tevens, dat hij per os in Athene 250 personen entte, waaronder 112 schoolkinderen en te Saloniki 960 notabelen; in een half jaar tijds na de enting is geen enkele van deze personen door typhus aangetast, zij liepen echter geen bijzonder gevaar te worden besmet.

Volgens KABELIK (1925) zou te Kwasitz in Moravië (een plaats van 2000 inwoners) waar sinds jaren typhus heerschte en 137 inwoners typhus gehad hadden, de ziekte na vaccinatie per os zijn tot staan gekomen. Het Tsjechisch origineel is voor mij niet toegankelijk.

TRON (1928) heeft volgens een referaat in het Centralblatt für Bakteriologie in 1927 en 1928 te Milaan 153.000 personen per os geënt en daarnaast 52.000, die in dezelfde omstandigheden leefden, als controle geobserveerd. Bij de eersten was de morbiditeit 10 maal geringer dan bij de laatsten. Cijfers, die de waarde van de mededeeling bevestigen, zijn in het referaat jammer genoeg niet opgenomen.

HIRSCH (1928) entte in een kleine stad in de Balkan 800 personen per os; 300 bleven ongeënt als controle.

Verloop:

Gevaccineerd 800 : 0 (zieken)

Controle 300 : 9 3 % \pm 1.92 %.

Deze verschillen kunnen dus door toeval zijn ontstaan. Verder vermeldt hij, dat hij in een dorp 2995 personen per os entte. Geen enkele van deze personen kreeg typhus, wel echter ongeënten. De verhouding laat zich jammer genoeg niet berekenen.

In Zuid-Afrika is enting per os op ruime schaal toegepast. Hierover zijn mededeelingen van BOYD (1928), CLUVER (1929) en PIJPER en DAU (1930), de laatsten bestudeerden de enting meer van de serologische zijde. De toepassing van de perorale enting wordt daar begunstigd door het feit, dat de inheemschen gaarne medicijnen innemen, doch niet gemakkelijk toestemmen in injecties. BOYD deelt mede, dat hij in de stad Pretoria aan 1464 personen typhusvaccin per os verstrekte. Dit waren meerendeels leden van gezinnen, waarin typhus was geconstateerd. Geen enkele van deze personen kreeg na de enting typhus. CLUVER entte gekleurde mijnwerkers; zij ontvingen 3 dagen achtereen een theelepeltje vloeibaar T.A.B. vaccin (sterker concentratie dan voor subcutane behandeling) en een galpil; later werd ook het vaccin in pilvorm toegediend (bereid door indampen van met formaline gedooide bouilloncultuur). In mijn A werd geënt, in de ernaast gelegen mijn B niet. Resultaten:

1927 mijn A	3291 arbeiders	dooden 4	1.22%
„ B	10978	„ „ 30	2.73%
			<hr/>
			1.51% \pm 0.96%
1928 mijn A	3373 arbeiders	dooden 4	1.19%
„ B	11826	„ „ 46	3.89%
			<hr/>
			2.70% \pm 2.80%

Verder paste hij toe enting per os in de steden Heilbron, Ermelo en Bloemfontein in de maand Juni 1928. Resultaat:

	12 maanden voor de enting	6 maanden na de enting
Heilbron	92	0
Ermelo	120	3
Bloemfontein	48	13

Bedenken wij hierbij echter, dat deze laatste termijn overeenkomt met het eerste halfjaar op het Noordelijk halfroond, waarin de minste

typhus pleegt voor te komen, dan valt het te begrijpen, dat deze getallen niet vergelijkbaar zijn.

KUMAGAI (1931) entte artsen en verpleegsters van een ziekenhuis te Osaka, waar steeds typhus heerschte tengevolge van contact infectie door verplegen van typhuspatiënten. In 6½ jaar tijds waren 36 gevallen voorgekomen. In Juli 1928 werd begonnen met enten per os met vaccin + gal. Van toen af tot Mei 1931 (3 jaar) werden 4 gevallen waargenomen, waarvan 2 optraden 1 à 2 dagen na de enting. Berekening:

$$1921 - \text{Juli } 1928 \quad 6\frac{1}{2} \times 270 = 1755 : 36 \quad 2.05\%$$

$$\text{Juli } 1928 - \text{Mei } 1931 \quad 3 \times 270 = 810 : 4 \quad 0.49\%$$

$$1.56\% \pm 0.52\%$$

quotient 3.0.

Schrijver geeft echter niet aan, of in dezen termijn mogelijk ook nog andere maatregelen zijn genomen.

Verder werden geënt 352 ziekenverplegenden, die (vermoedelijk buiten dit ziekenhuis) typhuspatiënten verpleegden; 1489 andere verplegenden dienden als ongeënte contrôles. Resultaat:

$$\text{Ongevaccineerd } 1489 : 41 \text{ (zieken)} \quad 28.07\text{‰} \quad \text{dooden } 11.$$

$$\text{Gevaccineerd } 352 : 2 \quad 5.62\text{‰} \quad \text{,, } 0.$$

$$22.49\text{‰} \pm 9.05\text{‰}$$

quotient 2.4.

Verder zijn 1632 personen, die geregeld in contact kwamen met typhuspatiënten geënt, (artsen, familieleden van patiënten, arbeiders in besmette fabrieken). Hieronder kwamen 3 zieken en geen dooden voor.

INOUIYE (1932) vaccineerde per os, voorafgegaan door een galpil; daarnaast entte hij ter vergelijking subcutaan.

Resultaten in de stad Supporo:

$$\text{Geënt per os} \quad 6070 : 1 \text{ (zieken)} \quad 2.01\text{‰}$$

$$\text{Geënt subcutaan} \quad 5085 : 4 \quad 7.88\text{‰}$$

$$\text{Ongeënt} \quad 6070 : 7 \quad 11.44\text{‰}$$

Berekening:

$$11.44 - 2.01 = 9.43 \pm 0.46$$

$$11.44 - 7.88 = 3.56 \pm 0.59$$

Onder het personeel van een oliebron werden geënt per os 3000 personen, 4000 bleven ongeënt; alleen onder de laatsten kwam 1 typhusgeval voor. Men bedenke, dat al deze cijfers sporadische gevallen betreffen; eigenlijk gezegd gevallen, waar ondanks alle bere-

keningen toevaligheid toch een groote rol blijft spelen, aangezien de omstandigheden waaronder al deze menschen leefden, onmogelijk precies dezelfde kunnen zijn geweest en vooral bij zoo sporadisch voorkomen van een ziekte de besmettingskansen sterk uiteenloopen.

Verder vermeldt deze schrijver nog, dat hij 450 personen op hun verzoek per os entte en dat onder deze geen gevallen zijn voorgekomen.

ABÉ (1934) entte op groote schaal in verschillende steden van Japan. Het is volgens hem niet noodzakelijk gal toe te voegen. Alleen de steden waar typhusgevallen zijn opgetreden zijn hier uit zijn tabellen opgenomen.

Resultaat:

	Geënt	Contrôle
Urawa	4571 : 0	7830 : 6
Kawagoye	5458 : 0	7906 : 13
Kumagaye	5242 : 0	8337 : 3
Kuwguchi	5033 : 1	5420 : 4
Oniya	4800 : 0	7233 : 6
Okekawa	782 : 4	502 : 2
Shinony	482 : 1	4006 : 4
Chichiba	2763 : 0	4503 : 1
	<hr/>	<hr/>
	32031 : 6	39737 : 39
	0.18%	0.98%
	verschil 0.80% ± 0.19% quotient 4.2.	

Het blijft opmerkelijk, dat het gunstige effect hier voortdurend terugkomt.

ADII, YAVER en MAKTAR (1934) deelen mede, dat 20 mannen van het personeel van een Turksch militair hospitaal per os werden geënt met typhoral en 10 subcutaan werden geënt. Al deze menschen bleven te Stamboul, waar veel typhus voorkomt, gezond. Echter namen de schrijvers 3 gevallen, waar, dat per os geënten ziek werden, 1 van deze stierf.

Na deze auteurs, die zelf met de methode BESREDKA tevreden zijn, dient te worden genoemd KACPRZAK (1934), die naar aanleiding van uitgebreide ervaringen in Polen een waarschuwend woord hooren laat. Hij concludeert naar aanleiding van zijn waarnemingen, dat het wenschelijk ware als men voorloopig de enting

per os niet meer zou toepassen als preventieve maatregel, alhoewel hij experimenten ermede wil zien voortgezet. Van burgers over geheel Polen geeft hij de volgende cijfers, waarbij hij de enting per os vergeleek met een tweemalige subcutane enting met één week interval; beide met door carbol gedood vaccin van typhus, paratyphus-A, B en C.

Geënt subcutaan in 1931 17799 : 24 (ziek) 2 (dood)
 1932 23883 : 11 .. 1 ..

41682 : 35 0.82‰

Geënt per os in 1931 149126 : 243 (ziek) 28 (dood)
 1932 179693 : 434 .. 51 ..

328819 : 677 2.05‰

Berekening: $2.05 - 0.82 = 1.23‰ \pm 0.24‰$.

Voor de stad Valeonica waren deze cijfers:

Geënt subcutaan 2172 : 1 (ziek) 0.48‰ (dood) 0

Geënt per os 2818 : 9 .. 3.19‰ .. 2

$2.73‰ \pm 1.27‰$ quotient 2.1

In het leger constateerde hij de volgende cijfers. Hierbij werden de per os geënten 4 maal in plaats 3 maal geënt.

Garnizoen Varsovie. Geënt subcutaan 155055 : 66 0.08‰

Geënt per os 48453 : 65 0.21‰

$0.13‰ \pm 0.12‰$

Garnizoen Lodz. Geënt subcutaan 62961 : 65 1.02‰

Geënt per os 30215 : 119 3.94‰

$2.92‰ \pm 0.31‰$

De hiervoor beschreven mededeelingen zijn dus meerendeels van een dergelijken aard, dat zij, voorzover zij gunstige resultaten beschrijven, den toets der kritiek meerendeels niet kunnen weerstaan. Des te merkwaardiger is dan ook, dat in den jaarg. 1934 van het Bulletin Mensuel de l'Office Internationale d'Hygiène publique de zoo gunstig klinkende mededeelingen voorkomen van ABÉ (Japan) en de ongunstige van KACPRZAK (Polen). Beide auteurs werkten volgens het zelfde procédé (zonder gal); terwijl ABÉ een zekeren graad van beschutting tegen sporadische typhusinfectie demon-

streert, vergelijkt KACPRZAK, terwijl hij het al of niet bestaan van eerstgenoemde in het midden laat, de enting per os met subcutane enting, waarbij deze laatste significant betere resultaten blijkt op te leveren.

Verder bevat dit zelfde bulletin nog de mededeeling van CUMMING (1934), dat de preventieve enting per os door de Amerikaansche autoriteiten niet officieel wordt erkend.

Als men dus bedenkt, dat volgens KACPRZAK de perorale enting minder gunstig werkt dan de subcutane enting en daarbij in rekening neemt, dat sommige auteurs b.v. GAUTHIER rekening houden met een termijn noodzakelijk tot het ontwikkelen van de immuniteit en eventueel met een negatieve phase (men denke hierbij ook aan de proeven van OTTOLENGHI en BROTZU), blijft alleen als voordeel van de perorale entingswijze over een gemakkelijker applicatievorm die met minder onaangename nevenverschijnselen gepaard zou gaan dan de subcutane enting.

Na deze gegevens dienen hier eerlijkheidshalve nog te worden vermeldt enkele positieve resultaten op groote schaal, die LISSOT (1934) bij hoenders zou hebben verkregen. Hij gebruikte een vaccin in tabletvorm (op te lossen in water), waarin *S. pullorum*, *S. gallinarum* en *Pasteurella aviseptica* waren verwerkt (bereiding niet beschreven). Hij verrichtte vaccinatie per os bij kuikens in spontane uitbraken van *Morbus pullorum* (aantal malen en intervallen niet beschreven).

Eerste geval: Geënt 500 : 42 8% (gestorven)

Niet geënt 80 : 57 70%

62% ± 4.53%

Tweede geval: Geënt 2500 : 120 6%

Niet geënt 140 : 68 47%

41% ± 2.28%

Deze significante resultaten geven zeer zeker den indruk, dat hij met de enting per os resultaat heeft gehad. Verder deed hij met kuikens (*Morbus pullorum*) en met hoenders (Klein'sche ziekte) tal van praktijkproeven zonder controle, volgens hem met gunstig resultaat. Hoenders vaccineert hij 6 maal met intervallen van 3 dagen.

Hiernaast dienen echter gemeld de resultaten, die DE ZEEUW (1932) aan dit Instituut met vaccinatie per os tegen *Morbus pullorum* bij kuikens, zij het op kleiner schaal en bij experimenteele contactinfectie, kon boeken. Men vergelijke het gunstige resultaat dat hij in zijn proef B bij subcutane applicatie verkreeg met hetzelfde vaccin (2 × 6 dagen gegroeide gefiltreerde bouilloncultuur na de filtratie ½ uur bij 70° C. verhit), dat bij perorale enting geen effect had. Hij gebruikte eendaagsche kuikens, de peroraal geënte ontvingen 2 dagen

achtereen 1 cc. „antivirus” + gal, de subcutaan geënte $1 \times \frac{1}{2}$ cc. van dit vaccin (grootte dosis misschien daardoor ondanks eenmalige behandeling effect). Infectie door contact.

Tabel II DE ZEEUW: Antivirus per os 20 : 19 (geïnfecteerd)

Antivirus subc.	20 : 4	„
Contrôle	20 : 17	„

N.B. Het resultaat van de subcutane vaccinatie is significant: $65\% \pm 16.15\%$ quotient 4.0.

In de proef D ontvingen de per os geënte kuikens 2 dagen telkens 1 cc. 14 dagen oude verhitte bouilloncultuur. Bij de 14 kuikens die afkomstig waren van besmette ouders was geen verschil merkbaar met dito contrôlekuikens. Bij die van gezonde ouders werden de volgende cijfers verkregen:

Gevaccineerd per os 13 : 3 23.07% (geïnfecteerd)

Contrôle 12 : 8 66.66% „

Verschil 43.59% \pm 19.87% quotient 2.1

In verband met de gunstige resultaten bij subcutane injectie met gefiltreerde bouilloncultuur door DE ZEEUW verkregen is het gewenscht hier even de aandacht erop te vestigen, dat deze en dergelijke mededeelingen niets ten gunste van de werking van een „antivirus” bewijzen. Het is opmerkelijk, dat slechts weinig is nagegaan, speciaal door hen, die van het antivirus studie maakten, wat deze bouilloncultuurfiltraten voor immuniseerende bestanddeelen behalve het zogenoemde „antivirus” bevatten. Het is mij niet mogelijk geweest alle literatuur betreffende het antivirus persoonlijk na te gaan. Echter in de twee uitvoerige Nederlandsche proefschriften over dit onderwerp n.l. DE ZEEUW (1932) en KLEIN (1934) zijn maar weinig gegevens hierover te vinden, hoewel beide pro en contra van het immunologische gedeelte van het antivirus-vraagstuk bespreken.

Het blijkt, dat LEHNDORF en BRUMLIK (1927) waarnamen, dat agglutinabiliteit van typhus bacillen door specifiek antivirus gewijzigd wordt. Typhus bacillen werden bij aanwezigheid van cultuurfiltraat door typhusserum tot een veel lagere titer geagglutineerd. Mijs inziens kan dit wijzen op in deze gefiltreerde bouillon vrijgekomen antigenen, dat een deel van de antilichamen van het serum inactiveert. Verder deelt BRUMLIK (1927) mede, dat KRAUS het eerst precipitogeen en agglutinogeen in bouillon-cultuurfiltraten heeft aangetoond. CHICHANOFF (1928) heeft met antivirus van Staphylococcon en Streptococcon de reactie van BORDET-GENGOU uitgeverd. Hij concludeert, dat antivirus stoffen bevat, die in staat zijn het „alexine” te binden met dezelfde intensiteit als de stoffen, die in het bacterielchaam zelf zich bevinden. BRANHAM (1927) heeft de antigene werking van filtraten van oude bouillonculturen van *S. enteritidis* aangetoond.

Het lag niet op den weg van dit onderzoek tot dit vraagstuk experimenteel bij te dragen. Toch lijkt het mij gewenscht, te concludeeren, wat, gezien al het in hoofdstuk II behandelde, in dergelijke filtraten op theoretische gronden zou kunnen voorkomen. In de eerste plaats O- en H-antigeen door opgelost zijn van afgestorven bacillen. Verder het X-antigeen van HAPPOLD, dat speciaal in oude vloeibare culturen gevormd zou worden. Mogelijk ook het Vi-antigeen, dat reeds na enkele uren extractie bij 37° C. van gedooide bacillen vrij komt. Een opmerking van DE ZEEUW, dat filtraat bereid van zeer versch geïsoleerde

culturen beter werkte, kan zelfs hiervoor een aanwijzing zijn. Bedenkt men dit, dan is het te begrijpen, dat men deze filtraten, in het midden gelaten of zich hierin dan tevens nog het mysterieuze „antivirus” bevindt, dan wel of dit met één van deze stoffen of met verschillende van deze tesamen synoniem is, ter vaccinatie met succes heeft kunnen toepassen.

d. Discussie.

Bij de beoordeeling van het meerendeel van de in dit hoofdstuk beschreven gegevens uit de praktijk blijven moeilijkheden. In de eerste plaats kon het geval zich voordoen, dat er reeds een epidemie woedde, waarna geënt werd en de ziekte afnam. Op grond van onze kennis van spontane epidemiën en kunstmatige epizootien (zie hoofdstuk V) was echter een afname ook zonder enting te verwachten. In de tweede plaats kon het voorkomen, dat vooraf geënte individuen waren blootgesteld aan een meer of minder hevige binnen een bepaald gebied dreigende infectie. Echter zal moeten worden toegegeven, dat zelfs al worden op zichzelf in de verzamelde cijfers significante verschillen met contrôlegroepen aangetoond, zooveel factoren onder een dergelijke groep individuen, vooral als het in vrijheid levende menschen betreft, van invloed hebben kunnen zijn naast de enting, dat het soms moeilijk wordt te erkennen, dat het verschil alleen aan de laatste te wijten is. Temeer is dit bij menschen het geval, waar *Salmonella* infecties zelfs bij massaal optreden niet die fatale uitbreiding plegen te hebben, die men soms bij ziekten van dieren waarneemt.

Bij de nadere experimenteele toetsing is daarom afgezien van het op goed geluk probeeren van entmethoden „in de praktijk” met alle foutenkansen hieraan verbonden. Voor de vaccinatiëproeven werden gebruikt gemakkelijk te houden kleine dieren, die per os geïnfecteerd werden met (zoo mogelijk) geringe doses cultuur en onder zoo gelijkmatig mogelijke omstandigheden geobserveerd. De definitieve beoordeeling der systemen dient te worden opgeschort tot na de bespreking van wat op deze wijze door onderzoekingen van anderen en door eigen onderzoek is vastgesteld.

Samenvatting:

Bij kennisname van de desbetreffende literatuur rijst de overtuiging, dat zoowel het mechanisme van de subcutane als van de perorale vaccinatie te verklaren is volgens de leer der algemeene immuniteit.

Zoowel van het eene als van het andere systeem zijn gunstige en ongunstige resultaten beschreven.

Bij de bespreking van deze resultaten doet zich de moeilijkheid voor, dat de gegevens over de enting per os minder talrijk zijn dan die over de subcutane enting.

Mede mogelijk daardoor maken de mededeelingen betreffende de subcutane enting een betrouwbaarder indruk, dan die betreffende de perorale enting.

Door den invloed van allerlei toevalligheid is het echter moeilijk naar aanleiding van waarnemingen uit de praktijk een oordeel over deze systemen te vellen.

LITERATUUR BEHOORENDE BIJ HOOFDSTUK IV.

- ABÉ, T., Bull. Off. Int. Hyg. Publ., 26, 1741, (1934). — ABEL, R., Zschr. f. Hyg., 103, 223, (1929). — ACHARD, M. C., Bull. Acad. Méd. Paris 85, 89, (1921). — ACHARD, M. C. en S. BLOCH, Bull. Acad. Méd. Paris, 91, 531 (1924). — ADII, YAVER en MAHTAR, Arch. Schiffs u. Tropenhyg., 38, 356, (1934). — BAERTHLEIN, K., Handb. Pathog. Mikroorg. KOLLE en WASSERMANN 3 II, 1175, 1279, (1931). — BASTEN, J., Dtsch. med. Wschr., 46, 316, (1920). — BESREDKA, A., Ann. Inst. Pasteur, 33, 882, (1919). C. R. Soc. Biol. 89, 366, (1923). Antivirustherapie, Paris, 1930. — BESREDKA, A. en S. BAS-SÉCHÈS, Ann. Inst. Pasteur 32, 193, (1928). — BOYD, J. J. Brit. Med. Jnl. 1928 I, 159. — BRANHAM, S. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 25, 25, (1927). BRUMLIK, M. Wien. klin. Wschr. 40, 1353, (1927). — BUMKE, E., Zschr. f. Hyg. 105, 342, (1926). — BÜRGER, Munch. med. Wschr. 74, 1876, (1927). — CHAUFFARD, A., Bull. Acad. Méd. Paris 85, 84, 445 (1921). — CHICHANOFF, H., C. R. Soc. Biol. 98, 281, (1929). — CLIVER, E., Lancet 1929 I, 1302. — COURTEOIS-SUFFIT, F. BOURGEOIS en A. REYMOND-GARCIN, Bull. Acad. Méd. Paris 91, 320 (1924). — CUMMING, H. S., Bull. Off. Int. Hyg. Publ. 26, 1739, (1934). — DRENKHAN, Münch. med. Wschr. 74, 771, (1927). — EDWARDS, J. Inf. Dis. 1934, 85. — FEEMSTRA, R. F., J. Inf. Dis. 50, 121 (1932). — FRIEDBERGER, E., Zschr. Imm. forschung. I Orig. 28, 119, (1919). Klin. Wschr. 1920, 1791. Med. Klinik, 28, 1091, (1927). — FROMME, Dtsch. med. Wschr. 60, 1358, (1934). — FÜRTH, PFLUGBEIL en OERTEL, Zschr. f. Hyg. 83, 407, (1917). — GALAMBOS, A., Kriegsepidemiol. Erfahrungen. Wien u. Leipzig 1917. Wien. Klin. Wschr. 33, 424. (1920). — GAUTHIER, A., Bull. Acad. Méd. Paris, 91, 186, (1924). — GLYCKOW, K., N. KOTSCHEWA en A. ALEXANDER, C. bl. Bakt. I Ref. 115, 10, (1933). — GRATIA, A. en D. DOYLE, C. R. Soc. Biol. 94, 803, (1928). — GURWITSCH, B. M., Zschr. Inf. krh. H. tiere 38, 23 (1930) — HAGE, Cbl. Bakt. I Orig. 92, 9 (1924). — HAHN, M., Med. Klinik 28, 1009, (1927). — HARPER, J. R., Lancet 1920 II, 1190. — HARVEY, D., A System of Bacteriology (M.R.C.) 4, (1929). — HEBERT, P. en M. BLOCH, Ann. Inst. Pasteur, 36, 157

(1922). — HILGERMANN, Münch. med. Wschr. 74, 2175, (1927). — HIRSCH, S., Dtsch med. Wschr. 1928, 1676. — HOFFMANN, W. Handb. ärztl. Erfahrungen im Weltkrieg, 7, (1922). — HOGG, C. A. en O. LATHAM, Lancet 1926 II, 377. — HÜNERMANN, Verhandl. Dtsch. Kongr. f. innere Medizin, 1916, 207. — ICKERT, F., Veröffentl. Mediz. Verw. 15, 373, (1922). — INOUIYE, Z., C. R. Soc. Biol. 110, 438, (1932). — ISMAEL, A., Bull. Acad. Int. Hyg. Publ. 26, 1743, (1934). — JACOBITZ, Zschr. ärztl. Fortbildung 26, 766, (1929). — JÜRGENS, Mediz. Klinik 28, 1012, 1053, (1927). — KACPRZAK, M. Bull. Off. Int. Hyg. Publ. 26, 111, (1934). — KARSTEN, Dtsch.tierärztl. Wschr. 1926, 47. — KAYSER, H., Zschr. f. Hyg., 103, 241, (1924). — KLEIN, A., Proefschr. Groningen 1934. — KNORR, M., Münch. med. Wschr. 74, 1761 (1927). Arch. Hyg. u. Bakt., 101, 369, (1929). — KOLLE, W., Cbl. Bakt. I Orig. 104, Beiheft, 90, (1927). KOLLE, W. en H. HETSCH, Münch. med. Wschr. 81, 1196, (1934). — KOTSCHAU, K., Klin. Wschr. 10, 932, (1931). — KREHL, L., Verhandl. Dtsch. Kongr. Innere Medizin 1916, 193. — KUMAGAI, K., C. R. Soc. Biol. 108, 373, (1931). — LEHMANN, G., Med. Klinik 15, 708, (1919). — LEHNDORFF, H. en M. BRUMLIK, Wien. klin. Wschr. 40, 483, (1927). — LENTZ, Klin. Wschr. 4, 1924, (1925). — LEISHMAN, W. B. J. Roy. Army. Med. Corps. 37, 1 (1921). — LISSOT, G. La vaccination par voie buccale etc. Paris, 1934. — LOIR en LEGANGNEUX, Bull. Acad. Med. Paris, 88, 241, (1922). MELNOTTE, P. Bull. Soc. Path. Exot. 25, 447, (1932). MACPHERSON, W. G., W. B. LEISHMAN en S. L. CUMMINS, History of the Great War, Medical Services, Pathology. 1923. — MYOSHITA, Zschr. Imm. forschung, 64, 138, (1929). — MÜLLER, W., Zschr. Imm. forschung, I Orig., 1917, 65. — NICHOLS, H. J. en C. O. STIMMEL, J. Expt. Med. 38, 283, (1923). OTTOLENGHI, D. en G. BROTZU, Zschr. Imm. forschung, 65, 195, (1929). — PIJPER, A. en H. DAU, Brit. J. Exp. Path. 11, 112, (1919). — RENAURD, M. en DUCHEIN, Bull. Acad. Med. Paris, 88, 87, (1922). — SCHEVEN, K., Zschr. f. Hyg., 105, 261, (1926). — SPÄT, W., Zschr. f. Imm. forschung, 46, 216, (1926). Mediz. Klinik. 23, 496, (1928). — STINTZING, R., Münch. med. Wschr., 75, 25, (1928). — SCHENHA, F. W., Münch. med. Wschr. 73, 1397, (1926). — SEYFARTH, C., Zschr. f. Hyg., 104, 682, (1925). — SIEVEKING, G. H., Zschr. f. Hyg., 109, 510, (1929). — STROEBE, F., Zschr. f. klin. Mediz., 108, 752, (1928). — TANON, L. en H. CABBASSEDES, Ann. d'Hyg. publ. 1934, 548. — TEISSIER, P., J. REILLY, E. RIVALIER, H. CABBASSEDES en J. DELALANDE, Ann. de Medecine, 27, 333, (1930). — TUFT, L., J. Immunol. 21, 85, (1931). — TUFT, L., E. M. YAGLE en S. ROGERS, J. Inf. Dis., 50, 98, (1932). — VAILLANT, L., Ann. Inst. Pasteur, 36, 149, (1922). — VINCENT, M. H., Bull. Acad. Méd. Paris. 85, 90, 123. (1921). WALCH, E. W., Ned. Tsch. Geneesk. 1932 IV, 4814. — WEBSTER, L., J. Exp. Med., 37, 33, (1923). — WEIGMANN, F., Zschr. f. Hyg., 106, 650, (1926). — WOLFF-EISSNER, A., Zschr. Imm. forschung, I Orig. 30, 4, (1920). — ZEEUW, F. A. DE, Proefschrift Utrecht 1932.

HOOFDSTUK V.

SALMONELLA INFECTIE BIJ *MUS MUSCULUS*.

Literatuuroverzicht.

Die Epidemie musz als eine auszerordentlich mörderische bezeichnet werden.

Der Bacillus gehört ohne Zweifel in die Gruppe der den Typhusbacillen ähnlichen Bacillen (.....).

Ich möchte ihn, da er in vielen Beziehungen an die Typhusbacillen des Menschen erinnert Typhusbacillus der Mäuse — *Bacillus typhi-murium* — nennen.

E. LOEFFLER 1892.

Aangezien de huismuis voor een groot aantal in de literatuur beschreven experimenten als proefdier heeft gediend, en het meereendeel der eigen vaccinatieprouwen bij dit dier zijn verricht, is het van veel belang zich een beeld te vormen van de *Salmonella* infectie bij deze diersoort.

Spontaan voorkomen en aetiologie.

Spontane *Salmonella* infectie bij de huismuis is het eerst beschreven door LOEFFLER (1892), hij noemde den verwekker *Bacillus typhi-murium*. Het trof een enzootie onder tamme witte muizen.

BAINBRIDGE (1909) onderwierp verschillende uit muizen verkregen paratyphus culturen aan een uitvoerig serologisch onderzoek met toepassing van de verzadigingsreactie van CASTELLANI. Waar onregelmatigheden optraden onderzocht hij verschillende afzonderlijke kolonies. Zoo bleek het, dat de oorspronkelijke stam van LOEFFLER een mengsel van Aertrijcke en Gaertner was, één stam uit de verzameling van Král (Praag) bleek een mengsel van Aertrijcke en Schottmüller te zijn, een tweede stam van Král een Gaertner, verder een stam van het Instituut Pasteur te Parijs Gaertner.

Volgens TOPLEY (1919) was deze laatste stam de *S. enteritidis* stam van DANYSZ. Deze stam, door DANYSZ (1900) voor rattenverdelging aanbevelen, was door hem echter niet uit de huismuis (*Mus musculus*) maar uit de veldmuis (*Microtus arvalis*) verkregen.

Ook MIESSNER (1925) onderzocht de oorspronkelijke LOEFFLER stam, volgens hem was het een Breslaucultuur.

PFEILER en ROEPKE (1916) beschrijven een spontane infectie van proef-

muizen met twee stammen, een Gaertnerstam en een stam, die zeer waarschijnlijk (gezien de hoge titer) grofvlokkige agglutinatie gaf met Suipestifer Kunzendorf- en Suipestifer Gläserserum, dus onspecifieke H-antigenen bezat en mitsdien evengoed *S. typhi-murium* kan zijn geweest. Hun „Para B” serum schijnt weinig onspecifieke elementen te hebben bevat: *S. typhi-murium* serum hebben zij niet gebruikt. Zij hebben zoowel mengstammen als reine stammen geïsoleerd, maar interpreteren zelf hun waarneming in anderen zin.

KRUMWIEDE, VALENTINE en KOHN (1919) namen twee typen van muizenstammen waar. Sommige stammen behoorden tot de Gaertnergroep, anderen kwamen overeen met *S. typhi-murium*.

WEBSTER en PRITCHETT (1927) onderzochten 13 partijen tamme muizen van verschillende herkomst op aanwezigheid van muizentypus bacillen. In 9 van deze groepen kwamen *S. enteritidis* dragers voor, in 4 groepen paratyphus B dragers (waarschijnlijk dus *S. typhi-murium*) en in 1 groep beide soorten.

FRIESLEBEN (1927) onderzocht 50 in de stad Freiburg gevangen muizen, waarvan hij verzekert, dat zij niet uit de onmiddellijke nabijheid van zijn Instituut afkomstig waren, op *Salmonella* dragerschap. Hij vond 14 maal een *S. enteritidis*, waarvan het type niet nader is bepaald; 10 maal vond hij het type „Freiburg”, dat sindsdien is gebleken identiek te zijn met de specifieke fase van *S. typhi-murium*¹⁾. Verder vond hij het type Breslau (dus vermoedelijk onspecifiek) en 2 stammen, die met zijn sera geen agglutinatie gaven.

KAUFFMANN (1931) deelt mede, dat aan het Instituut Robert Koch te Berlijn deze ervaring niet is bevestigd kunnen worden, dus waarschijnlijk op een plaatselijke omstandigheid berust.

ELTON (1931) vestigt er de aandacht op, dat onder wilde muizen spontane *Salmonella* epizootien, in tegenstelling met het bij muizen in gevangenschap waargenomenen, zelden zijn geconstateerd. Hij betwijfelt zelfs, af deze voorkomen.

SEIFRIED (1931) geeft in Jaffe's handboek als voornaamste *Salmonella* typen bij de muis Breslau en Gaertner op. Vele gevallen uit de uitgebreide door hem geraadpleegde literatuur zijn opgetreden in proeven, waarin door experimenteele infectie met andere organismen, vasten, of voederen met onnatuurlijk voedsel (gezouten vleesch) een verzwakkende factor was geschapen. Vermoedelijk bevonden zich onder de gebruikte dieren dan dragers. Als infectiebron neemt hij aan, behalve direct contact, voeding met ongekookte melk of met graan van graanzolders, waar de ziekte onder de knaagdieren heerscht. Pathologisch anatomisch is volgens SIEFRIED de ziekte gekenmerkt door injectieroodheid van de darmserosa met dunne slijmige geelachtige darminhoud, een sterk gezwollen nilt, en in de lever en milt (soms ook in longen en nieren, lymphklieren en beenmerg) talrijke geelwitte haardjes met een necrotisch centrum.

De verschillende in de literatuur voorkomende pathologisch-anatomische beschrijvingen, o.a. de zeer uitgebreide van SEIFFERT, JAHNEKE en ARNOLD (1928) en van ORNSTEIN (1929) komen hiermee in groote trekken overeen. Slechts zij gewezen op de opmerking van TOPLEY (1919), dat dit beeld maar in een gering deel der gevallen duidelijk uitgesproken te zien is, en meestentijds

¹⁾ Zie KAUFFMANN Z. f. Hyg. 111, 232, (1930), en ELKELES en STANDFUSZ in Kolle en v. Wassermann's Handbuch 3 II, 1593, (1931).

alleen een gezwollen milt en een met lichtgele vloeibare inhoud overvulde en atonische dunne darm te constateeren zijn.

In de literatuur zijn dus vastgesteld *S. typhi-murium* en Gaertnerbacillen, meestal is van deze laatste het type niet bepaald. BAHR (1930) vermeldt onder de 185 door hem verzamelde Gaertnerstammen uit mensch en dieren slechts 2 uit muizen verkregen. In 1 geval betrof het een *S. enteritidis*stam verkregen uit een met verdacht vleesch gevoerde proefmuis. In het andere geval werd bij een spontaan gestorven muis *S. enteritidis danysz* vastgesteld. Ook een door LINDEN (1930) uit een enzootie onder laboratoriummuizen geïsoleerde Gaertner, die door deze schrijver voor *S. enteritidis moscow* werd gehouden, bleek aan KAUFFMANN (1930) een *S. enteritidis danysz* te zijn. De mededeeling van MIESSNER (1925), dat twee door hem onderzochte muizen-Gaertnerstammen Sternnegatief waren, wijst ook op *S. enteritidis danysz*.

Experimenteele epizootiologie.

De factoren, waarvan de infectie bij deze ziekte afhankelijk is, hebben de belangstelling van verschillende groepen van onderzoekers getrokken, ook met het oog op wat hieruit in het algemeen voor infectieziekten van mensch en dieren is af te leiden.

FLEXNER en zijn medewerkers (1922) bestudeerden aan het Department of Animal Pathology van het Rockefeller Institute for Medical Research (Princeton N. J.) den muizentyphus van experimenteel epidemiologisch standpunt, waarvan een samenvatting hier volgt.

LYNCH beschrijft een spontane epidemie, die gedurende $2\frac{1}{2}$ jaar in de fokkerij van dat Instituut heerschte. Verscheidene uitbraken werden afgewisseld door rustige periodes.

AMOSS bootste het natuurlijk verloop na; in zijn muizendorp merkte hij het volgende op. Contact tusschen besmette en gezonde muizen geeft in eerste instantie slechts sporadische sterfte. Herhaalde toevoeging van nieuwe gezonde muizen kan aanleiding geven tot een epidemie, die onder de nieuwe muizen begint maar dan op de oude overgrijpt, tot een evenwicht is bereikt. Bij iedere nieuwe toevoeging herhaalt zich dit proces. Bij het bereiken van het evenwicht blijven de bacillen in enkele dragers achter. Ook aanfok binnen de bestaande populatie kan aanleiding zijn tot een nieuwe uitbraak van de epidemie. Hij vermoedt, dat 2 factoren hier in spel kunnen zijn: a. een schommelende virulentie van de bacillen, b. een schommeling in de doseering van de micro-organismen; doordat de nieuwe muizen gevoelig zijn zelfs voor zeer kleine doseeringen, zullen deze zich infecteeren, ziek worden en dan de besmetting op groote schaal weer verbreiden.

Het bleek, dat bij de spontane epizoötie twee micro-organismen een rol speelden, die door de schrijvers in een verdere publicatie worden aangeduid als Mouse Typhoid I en Mouse Typhoid II; ze zijn gedetermineerd door AMOSS en HASELBAUER, Mouse Typhoid I behoort in de Gaertnergroep, Mouse Typhoid II is *S. typhi-murium* („*Bacillus pestis caviae*”).

Verdere onderzoekingen betreffende de factoren, die op deze epizoötie invloed uitoefenden, zijn gedaan door WEBSTER en PRITCHETT. Het bleek WEBSTER (1923), dat de virulentie van de *S. typhi-murium*stam niet aan schommeling onderhevig was, ook niet bij muispassage, zoowel bij infectie met cultuur, als bij infectie met bloed en organemulsie (passage intraperitoneaal en passage per os). Ook bij 6 *Salmonella* stammen, die verschillend virulent voor de muis waren, bleef dit verschil bij herhaalde passage per os zoowel als intraperitoneaal bestaan. Dat andere auteurs niet dezelfde uitkomsten hebben, schrijft hij toe aan minder nauwkeurige dosering en aan een te klein aantal proefdieren.

Waar dus de virulentie volgens WEBSTER niet schommelt, moet de fluctuatie in het verloop van een epizoötie gelegen zijn in de verschillend groote infectiemogelijkheid. Het bleek hem dan ook, dat als hij 20 muizen elk in afzonderlijke kooien samen hield met 5 kunstmatige geïnfecteerden de mortaliteitscurve, van deze 20 vrijwel overeenkwam met die van 20 afzonderlijk gehouden kunstmatig geïnfecteerde muizen, en dat 20 muizen, die elk met 1 geïnfecteerde muis hadden samengeleefd, vrijwel niet door de ziekte werden aangetast. Ook bleek, dat kunstmatig geïnfecteerde dieren, die in koppels van 20 werden gehouden, veel grooter sterfte vertoonden, dan die welke in koppels van 5 of alleen gehouden werden. Hoe grooter namelijk het contact met geïnfecteerde dieren, hoe meer gelegenheid tot het opnemen van bacillen.

Het bleek WEBSTER (1924) verder, dat dieren, die een eerste infectie overleefden, verhoogde resistentie bezaten ten opzichte van een volgende. Dit hing samen met de heftigheid der eerste infectie en minder met de overeenkomst in antigeenstructuur van de infecteerende organismen. Waar hem reeds was gebleken, dat sublimaat intoxicatie bij muizen een overeenkomstige mortaliteitscurve gaf, testte WEBSTER de uit een muizentyphusinfectie overlevende dieren met sublimaat. Ook hiertegen bleken de dieren minder gevoelig te zijn. De resistentie was dus niet specifiek, het betrof hier een in leven blijven van de sterkste dieren. Chronisch zieke dieren bleken echter voor herinfectie gevoeliger te zijn.

Door selectie van de muizen gelukte het zoowel gevoelige als minder gevoelige stammen te vormen. In elke generatie werd door herhaling van de infectie de keuze der fokdieren bepaald. Deze verminderde of vermeerderde gevoeligheid beperkte zich echter niet tot de *Salmonella* infectie, maar bestond ook ten opzichte van sublimaatintoxicatie.

Aan PRITCHETT bleek, dat muizen van verschillende origine in gevoeligheid verschillen en dat ook tevens het jaargetijde van invloed is. Er was een top in de mortaliteitscurve in het voorjaar, een sterke daling in den zomer en een stijging in herfst en winter. Daarom werden de muizenstammen elke maand van het jaar getest. Het diet bleek van invloed op de resistentie te zijn. Hierbij vonden WEBSTER en PRITCHETT, dat de resistentieverhoging niet alleen plaats vond ten opzichte van *Salmonella* infectie maar ook ten opzichte van vergiftiging met sublimaat of met botulinustoxine. Bij een speciaal samengesteld diet waren de seizoenschommelingen minder opvallend.

Een ander uitgebreid onderzoek over het verloop van experimenteele muizentyphus epizoötien danken wij aan TOPLEY c.s. (Londen).

Het onderzoek van TOPLEY (1919) ging uit van een experimenteele infectie met *S. enteritidis danysz* en wel den stam, door DANYSZ in 1900 uit een veldmuis geïsoleerd. Ondanks het feit dat de muizen, die uit den handel werden betrokken, steeds minstens 7 dagen in quarantaine hadden verkeerd (wel wat kort!), trad in deze proeven verschillende malen een spontane *Salmonella* infectie van een ander type op. TOPLEY (1920—1921) noemt de verwekker hiervan *B. Suipestifer Mutton*. Wat betreft dezen naam zij opgemerkt, dat hij in de synoniemenlijst van het Nomenclature Committee (1934) niet voorkomt. Echter kent de catalogus van de National Collection of Typecultures (Lister Institute) van 1922 een rubriek "*B. suipestifer (Salmonella type Mutton)*", terwijl die van 1925 dezelfde nummers vermeldt als "*B. suipestifer (Salmonella type Aertrijcke)*". De stam van TOPLEY is dus ook wel *S. typhi-murium* geweest.

TOPLEY wekte epizoötien op, door, uitgaande van een zeker aantal per os geïnfecteerde muizen, steeds met tusschenpoozen een bepaald aantal gezonde muizen toe te voegen. Het bleek, dat de sterfte niet constant was, maar onderhevig aan vaste schommelingen met een periode van ongeveer 40 dagen. Als men den toevoer van nieuwe individuen stop zette, ontstond er tenslotte een evenwicht, waarbij de ziekte tot staan was gekomen; toevoer van nieuwe dieren had tengevolge, dat eerst deze en later ook verschillende van de reeds aanwezige dieren stierven.

Verdere proeven verrichtte hij in samenwerking met AYRTON (1924—1925), deze werden uitgevoerd met een "*B. enteritidis Aertrijcke*", dus *S. typhi-murium*. Het bleek hun, dat hoe grooter de infectiedosis per os is, hoe grooter ook het aantal uitscheiders met de faeces is, evenzoo het aantal dat sterft en het aantal, dat in hun weefsels den bacil blijft dragen. In al zijn onderzoekingen entte TOPLEY tot vaststellen van dragerschap bij afmaken alleen uit de milt. Het bleek, dat de uitscheiding met de faeces niet continu plaats had en zelfs bij dieren, die aan de infectie sterven, niet altijd is aan te toonen. Ook met deze *S. typhi-murium*, infectie zetten zij experimenteele epizoötien op, waarbij echter vóór de infectie en tijdens het experiment dagelijks, behalve des Zondags, faecesonderzoek plaats vond. Hierbij viel te constateeren, dat de excretie omstreeks den 9en dag begon te stijgen. De eerste sterfte had plaats op den 10en dag, waarna geleidelijke sterfte volgt; omstreeks den 19en dag stijgt de excretie met de faeces sterk en omstreeks den 28en dag zet de epizötie in, omstreeks den 38en dag volgt een nieuwe top in de excretiecurve, omstreeks den 51en dag bereikt de epizoötie haar hoogtepunt, waarna op den 54en dag de excretie weer een top vertoont, enz. Verhoogde excretie wordt dus steeds door een verhoogde sterfte gevolgd.

Ook gingen TOPLEY, WILSON en LEWIS (1925) het karakter van de vermeerderde resistentie van overlevende dieren na. Van 185 muizen, die per os verscheidene malen waren geïnfecteerd, hielden zij 32 (dus 1/6) over, die geen uitscheiders waren en waarvan slechts één agglutinenen bezat. Volgens schrij-

1) Med. Res. Council. Spec. Rep. Series 64.

vers waren deze dieren 6 maal zoo resistent ten opzichte van een intraperitoneale infectie als de controles (specifieke sterfte respectievelijk 12.5 % en 76.7 %). De nog overlevende muizen, (25) weerstonden meerendeels een zwaardere intraperitoneale infectie, tengevolge waarvan alle controles stierven. Hieruit bleek volgens hen, dat de eerste infectie zuiver selectief had gewerkt maar de tweede een zekeren graad van immuniteit zou hebben gegeven. Om nu na te gaan in hoeverre deze resistentie een specifieke was, hebben zij de overlevende dieren, tesamen met evenveel controles, geïnfecteerd met *Pasteurella muris*, een organisme waarmede GREENWOOD en TOPLEY (1925) eveneens epizoötiologische onderzoekingen hebben verricht, die in vele opzichten met hun *Salmonella* onderzoekingen overeen komen. De genoemde dieren waren hiertegen niet resistentier dan de controles, waaruit de schrijvers in tegenstelling met de ervaringen van WEBSTER, een specifieke resistentie concluderen. Hoewel bacteriophagen tijdens hun onderzoekingen optraden, meenen zij deze geen rol in het verloop van de epizoötie te moeten toekennen. Het toedienen van lytisch filtraat beïnvloedde het verloop niet (zoo min per os als intraperitoneaal).

In tegenstelling met WEBSTER heeft TOPLEY (1919) voor *S. enteritidis danyss* en tesamen met GREENWOOD, WILSON en NEWBOLD (1928) voor *S. typhi-murium* vastgesteld, dat tijdens de epizoötien de virulentie der stammen wisselt. Zij schrijven hieraan het verloop der infectie toe, en meenen tevens (in tegenstelling met WEBSTER) een aanwijzing te hebben, dat een latente infectie met een minder virulenten stam een zekeren graad van immuniteit verleent. De ervaring van TOPLEY en zijn medewerkers is echter wel, dat een stam, die op een vasten voedingsbodem zwaar (massive) en met groote intervallen wordt overgeënt, zijn virulentie gedurende maanden en jaren behoudt.

TOPLEY, GREENWOOD en WILSON (1931) namen een *S. typhi-murium* stam waar, geïsoleerd uit een experimenteele muizenepizoötie, die bij contactinfectie weliswaar een groot aantal dragers maar slechts weinig sterfgevallen gaf. Deze dragers zouden in tegenstelling met de waarneming van WEBSTER een verhoogde resistente ten opzichte van een volgende infectie bezitten.

TOPLEY, GREENWOOD en WILSON (1931) konden ook de ervaringen van WEBSTER en PRITCHETT niet bevestigen, dat muizen gehouden bij een kunstmatig samengesteld dieet meer weerstand bieden, dan muizen gehouden bij het gewone laboratorium dieet. Dit laatste was aan de London School of Hygiene and Tropical Medicine: heele tarwe en gepasteuriseerde melk met water half om half; aan het Rockefeller Institute te Princeton bestond dit uit: wittebrood geweekt in gepasteuriseerde melk dagelijks, tweemaal in de week haver-mout en boekweitgruten, eenmaal per week hondebrood. Misschien dat het eerste van deze beide diëten (geheel graan!) op zichzelf al gunstiger was.

Ook OKAMOTO (1926) constateerde, dat in een populatie van muizen, waarin zich bacillendragers bevinden, een enzoötie kan worden opgewekt door toevoeging van jonge muizen; waarbij deze laatste eerst sterven, en vervolgens ook vele van de oorspronkelijk aanwezige. Hij schrijft het toe aan een grootere gelegenheid tot opname van bacillen voor de minder gevoelige dieren.

Dat herhaald opnemen van kleine hoeveelheden bacillen voor de muis een zeer gevaarlijke wijze van infectie is, heeft LANGE (1924) reeds aangetoond met kunstmatige infectie per os, door herhaald toedienen van 0.000000001 mg. *S. typhi-murium*cultuur.

Kunstmatige infectie.

Het verzamelen van alle proeven, die genomen zijn om muizen met spontaan bij muizen voorkomende *Salmonella* te infecteeren, zou te ver voeren. In het volgend hoofdstuk zullen bij de bespreking van de literatuur der vaccinatie een aanmerkelijk aantal kunstmatige infecties worden genoemd, waarnaar ik hier verwijs. Het blijkt, dat de muis gemakkelijk met geringe doses cultuur van *S. typhi-murium* of van enteritidisbacillen is te infecteeren, zoowel per os als subcutaan, intraveneus, intraperitoneaal en intrapleuraal. Bij infectie per os treedt een incubatietijd op van 6 à 23 dagen (LANGE (1924)); parenteraal kan deze aanmerkelijk korter zijn, vooral na intrapleurale infectie (zie b.v. de proeven van SCHÜTZE). Bij gebruik van zeer kleine dosis wist LANGE echter ook langs deze wegen te infecteeren met doodelijken afloop eerst na langer termijn.

Er zij hier aan herinnerd, dat volgens de leer der „Kieler School“ de muis niet met *S. paratyphi-B* per os doodelijk is te infecteeren, wel parenteraal (o.a. ØRSKOV en MOLTKE). Per os ontstaan alleen dragers (mesenteriale klieren). ELKELES heeft echter als uitzonderingstoestand beschreven, dat ook *S. paratyphi-B* per os toegediend de muis doodde; dit proces verliep chronisch, vermoedelijk door intoxicatie, uitgaande van locale infectiehaarden (mesenteriale klieren), bacterieaemie was bij den dood niet aanwezig.

Behalve deze meer algemeen gebruikelijke infectiemethoden bestudeerde LANGE, deels in samenwerking met KESCHISCHIAN en NOWOSSELSKY (1924—1925), bij *S. typhi-murium* de infectie van de muis percutaan, conjunctivaal en door inhalatie. Al deze infecties verliepen ongeveer gelijk aan de infectie per os. Bij de conjunctivale infectie merkt LANGE op, dat het niet is uit te maken of conjunctiva, neusslijmvlies, of digestietractus hier als porte-d'entrée hebben gefungeerd. Ook wat betreft de intracutane infectie ware het van belang geweest, als hij een restrictie had gemaakt. Het aanraken der besmette huidplekken werd op geen enkele manier aan de dieren onmogelijk gemaakt. Men bedenke hierbij, dat de muis zich pleegt te wasschen en te poetsen en hiertoe met mond en extremiteten het geheele lichaam weet te bereiken. Bij deze bewerking belikt de muis gedurig de voor het poetsen gebruikte extremiteten. Ook hier is dus in werkelijkheid infectie per os niet uit te sluiten. De inhalatie geschiedde in een inhalatorium, terwijl de verbreiding van de bacillen in de long en daarvan uitgaande in het organisme werd nagegaan, waarbij bleek, dat in aansluiting aan de inhalatie septicaemie optrad. LANGE merkt op, dat bij intratracheale injectie het ziektebeeld overeenkomt met het snelle verloop der parenterale infectie.

De invasie, aansluitende op de infectie langs den natuurlijke weg, namelijk door ingestie, heeft de belangstelling van verschillende onderzoekers getrokken, nadat het eerst MAX MÜLLER (1912) deze systematisch had bestudeerd. Al deze onderzoekers maakten hiertoe de muizen op verschillende tijdstippen na in infectie per os af en onderzochten het bloed, verscheidene organen en de lymphklieren op de aanwezigheid van bacillen. Deze onderzoekingen werden verricht door: ELKELES (1926), LANGE en YOSHIOKA (1924), ØRSKOV, JENSEN en KOBAYASHI (1928), ØRSKOV en MOLTKE (1928), ØRSKOV en SCHMIDT (1928). In groote trekken komen de resultaten van deze onderzoekingen overeen. Als voornaamsten, zoo niet practisch eenigen weg dient de infectie via de mesenteriale klieren, van het darmkanaal uitgaande, beschouwd te worden. Een directe haematogene infectie van den darm uitgaande komt niet voor. De bacillen verspreiden zich van de mesenteriale klieren uit dan verder langs haematogenen weg naar andere organen (lever, milt en lichaamslymphklieren enz.). Van minder belang is het lymphoïde apparaat van de keelholte, als porte-d'entrée, al kennen speciaal ØRSKOV c.s. ook hieraan beteekenis toe.

Conclusies:

1. Bij de huismuis komen spontaan *Salmonella* infecties voor veroorzaakt door *S. typhi-murium* en *S. enteritidis* var. *danzysz* (mogelijk ook door andere *S. enteritidis* variëteiten), die vooral onder in gevangenschap gehouden muizen (beperkte ruimte) aanleiding kunnen geven tot uitgebreide enzoötien.
2. Hoewel het meerendeel van de muizen spontaan gevoelig is, bezit een deel der dieren een spontane resistentie, die bij bepaalde populaties een zeker constant percentage schijnt te omvatten.
3. De gevoeligheid, die door teeltkeuze is te wijzigen, zou worden beïnvloed door jaargetijde en dieet. Volgens de school van WEBSTER is ze niet specifiek, maar zijn deze resistente dieren ook tegen andere infecties en intoxicaties verhoogd resistent, volgens TOPLEY is dit niet het geval.
4. De ziekte is bij muizen gemakkelijk kunstmatig op te wekken, zowel parenteraal als per os; in het laatste geval vormt het darmkanaal de voornaamste porte-d'entrée.
5. Het is van belang bij het nemen van proeven met deze ziekte rekening te houden met wat bekend is van de verbreiding in de experimenteele enzoötie. Wel in het bijzonder geldt dit voor het con-

tact tusschen de proefdieren onderling; men dient zijn proefdieren in ongeveer evengroote groepen dan wel elk afzonderlijk te houden. Indien er contact tusschen de proefdieren bestaat houde men er rekening mede, dat ongeveer een maand na de eerste infectie een enzoötie door contactinfectie kan optreden.

Literatuur zie bladz. 109.

HOOFDSTUK VI.

SALMONELLA VACCINATIE BIJ MUS MUSCULUS.

Literatuuroverzicht met eigen berekeningen.

.....we should not jettison all our previous experience and that of other workers.

W. W. C. TOPLEY. An Outline of Immunity 1933.

Vaccinatieproeven bij muizen zijn er vele verricht; de beoordeeling door de auteurs zelf is veelal gunstiger dan het resultaat na critische beschouwing blijkt te zijn.

Niet zonder reden schrijven ELKELES en STANDFUSZ (1931) in het handboek van KOLLE en WASSERMANN na bespreking van de desbetreffende literatuur: „Alles in allem ist wohl mehr als ein vorübergehender relativer Schutz kaum zu erzielen und auch sehr oft nicht“.

TOPLEY (1925) merkt ongeveer het volgende op: „Indien actieve immunisatie van de muis tegen *B. Aertrijcke* een eenvoudige procedure was, vergezeld gaande van slechts een geringe mortaliteit in aansluiting op enting en tengevolge hebbende een groote mate van resistentie, zou deze een belangrijk aandeel kunnen hebben in het ontwikkelen van een verkregen immuniteit, waardoor een epidemie zou kunnen worden gestuit“. Hij wijst erop, dat oudere onderzoekers: LOEFFLER (1906), WOLF (1908) en YOSHIDA (1909) dusdanige voorbehandeling toepasten, dat vaak meer dan de helft van de dieren tengevolge van de vaccinatie stierf en dat daaraan zeer zeker te wijten is, dat deze bij hun immunisatieproeven een zekeren graad van schijnbaar succes hebben gehad. Dit is begrijpelijk in verband met de eerder in dit hoofdstuk besproken publicaties, immers hierdoor bestaat de mogelijkheid, dat alleen dieren met een groote natuurlijke resistentie de vaccinatie hebben overleefd.

In het hierna volgend overzicht zal ik mij bepalen tot de auteurs der laatste 15 jaar. Ik zal hier trachten door het toepassen van de in hoofdstuk III aangegeven berekeningswijze zoo veel mogelijk de proeven der schrijvers voor zich zelf te doen spreken. De eigen con-

clusies der auteurs zullen slechts terloops worden aangestipt. Waar, zooals in enkele der laatste proeven van TOPLEY c.s. de schrijvers zelf van deze berekening hebben gebruik gemaakt, zal ik volstaan met de door hen verkregen resultaten te noemen.

Behoudens enkele uitzonderingen, waar het een *S. paratyphi-B* infectie betreft, worden alleen immunisatieproeven beschreven met infectie door *S. typhi-murium* en variëteiten van *S. enteritidis*, wat de eerste en een der laatsten (*S. enteritidis* var. *danzsz*) betreft, natuurlijke ziekteverwekkers van de muis. Voor de belangrijke proeven van FELIX en PITT (1934) met *S. typhi* verwijs ik naar hoofdstuk II.

WEBSTER (1921) immuniseerde tegen een kunstmatige infectie met *S. typhi-murium*. Vaccin 24 uur oude bouilloncultuur verhit 2 uur lang bij 55° C.

1. Vaccinatie intraperitoneaal dan wel intrapleuraal, 2x, interval 7 dagen. Infectie 7 dagen na de laatste vaccinatie. Gebruikt werden kleine groepen; voornamelijk valt op, dat de gevaccineerden verscheidene dagen langer leefden dan de contrôles. Groepen van 6 dieren elk:

gevacc.intrapl.	geïnf.intrapl.	leven	gemiddeld	18d.
contrôle	„	„	„	3d.
gevacc.intrapl.	„	intrap.	„	18d.
contrôle	„	„	„	2d.
gevacc.intrap.	„	intrapl.	„	17d.
contrôle	„	„	„	3d.
gevacc.intrap	„	intrap.	„	32d.
contrôle	„	„	„	3d.

Bij onderzoek van punctievloeistof van de geïnfecteerde lichaams-holten bleek bij de contrôledieren een ongestoorde sterke vermenigvuldiging plaats te vinden, terwijl deze bij de gevaccineerde dieren eerst na 3 à 4 dagen begon en langzaam verliep. Ook bij subcutaan gevaccineerde dieren werd dit langzame verloop van de intraperitoneale en de intrapleurale infectie waargenomen.

2. Bij infectie per os met de maagsonde echter is er alleen een verschil in het aantal overlevenden; bij berekening blijkt dit niet significant door te gering aantal controles. Gevaccineerd 2x subcutaan, interval 14 dagen, infectie per os 18 dagen na de laatste injectie.

gevacc. 20 : 9 45 % (overleven)
 controle 3 : 0 0 %

45 % ± 30 % quotient 1.5.

Gevaccineerd 3x subcutaan, intervallen 14 dagen, infectie per os 60 dagen na de laatste injectie:

gevacc. 20 : 12 60 %
 controle 3 : 1 33 %

27 % \pm 30 % quotient 0,9.

3. Vaccinatie per os met cultuur verhit 2 uur bij 55° C., die hierdoor echter niet geheel gedood bleek. Dagelijks 30 dagen lang werd deze cultuur op brood verstrekt. Sterfte tijdens de vaccinatie 50 % tengevolge van infectie met *S. typhimurium*. Infectie per os met de maagsonde 30 dagen na de laatste cultuurvoeding.

gevacc. (levende cultuur) 12 : 11 91.6 % (overleven)
 controle 12 : 5 41.6 %

50 % \pm 19.5 %

quotient 2.56.

De uit deze proef overlevenden 37 dagen later intraperitoneaal geïnfecteerd:

11 : 11 100 % (overleven)
 controle 5 : 0 0 %

100 % \pm 25 %.

quotient 4.

Is dit selectie geweest van resistente dieren? Oorspronkelijk is uitgegaan van 24 muizen.

24 : 11 45.8 %
 12 : 5 41.6 %

4.2 % \pm 17.6 %

Dit lijkt dus inderdaad het geval te zijn; de dieren, welke de tweede infectie hebben overleefd, schijnen wel een bepaalde graad van immuniteit te hebben verkregen.

4. Geringe doses levende cultuur per os, verscheidene malen gedurende 34 dagen; van 18 dieren blijven 7 over. Geïnfecteerd per os op den 34en dag:

Voorbehandeld 6 : 6 (overleven)
 controle 6 : 0

Na 28 dagen werd intraperitoneaal geïnfecteerd:

Voorbehandeld 6 : 6 (overleven)
 controle 5 : 0

Hoewel de groepen klein zijn, is het resultaat opvallend.

5. Vaccinatie per os met gedooide bacillen, bouilloncultuur verhit 2 uur bij 55° C, gedurende 4 weken dagelijks op het brood, geen sterfte tengevolge hiervan. Infectie intraperitoneaal een week na afloop van de vaccinatie:

gevacc. 16 : 4 25 % (overleven)
 controle 4 : 0 0 %

25 % \pm 22.3 %

Dieren op dezelfde wijze voorbehandeld en geïnfecteerd per os

gevacc. 17 : 7 41 % (overleven)
 controle 4 : 1 25 %

16 % \pm 26.8 %.

6. Herhaaldelijk (5x à 13x) kleine doses levende cultuur per os; van 25 dieren overleven 18. Geïnfecteerd intraperitoneaal 23 dagen na de laatste perorale infectie:

Voorbehandeld 18 : 14 77.7 % (overleven)
 Controle 7 : 0 0.0 %

77.7 % \pm 22.1 % quotient 3.5.

Het geringe aantal contrôles in alle proeven van WEBSTER maakt objectieve beoordeeling niet gemakkelijk. Waar in deze berekeningen groepen kleiner dan 10 zijn betrokken, bedenke men, dat deze in wezen nog iets ongunstiger dienden beoordeeld te zijn dan de uitkomsten van deze berekeningen.

7. ORNSTEIN (1922) immuniseerde tegen een kunstmatige infectie met *S. typhi-murium*. Vaccin door chloroform gedooide bouilloncultuur. Vaccinatie 4x, intervallen 7 dagen, deels per os, deels subcutaan. Gevaccineerd per os 30, gestorven tengevolge van de vaccinatie 12, gevaccineerd subcutaan 10, gestorven tengevolge van de vaccinatie 4. Infectie door voeding van cultuur op brood.

Vacc. subc. geïn. na 1 week 6 : 0

Vacc. per os, geïn. na 1 week 12 : 2

Vacc. per os, geïn. na 5 weken 6 : 1

	18 : 3	16.66 %
Contrôle	40 : 0	0.00 %

16.66 % \pm 3.96 %
 quotient 4.0.

Het blijkt dus, dat alleen de vaccinatie per os een zeer geringe verhoogde resistentie heeft verleend, en dat nog ten koste van verscheidene slachtoffers ten gevolge van de vaccinatie.

PRITCHETT (1923) vergeleek de immuniseerende werking van de *S. typhi-murium* en de *S. enteritidis* stam uit de muizentyphus uitbraak aan het Rockefellerinstitute te Princeton.

Vaccin afgeschudde agarcultuur in physiologische keukenzoutoplossing, verhit 1 uur bij 60° C.

8. Vaccinatie 3x subcutaan met 1 week interval; infectie per os 10 dagen na de laatste enting.

Gevaccineerd met *S. enteritidis*, geïnfecteerd met *S. enteritidis*.

gevaccineerd 25 : 9 36 % (overleven)

controle 25 : 4 16 %

20 % ± 12.2% quotient 1.65.

9. Gevaccineerd met *S. typhi-murium*, geïnfecteerd met *S. typhi-murium*.

gevaccineerd 25 : 19 76 % (overleven)

controle 25 : 9 36 %

40 % ± 14.0 % quotient 2.85.

10. Met het enteritidivaccin werden de proeven herhaald, dosis vaccin en tijd tusschen infectie en vaccinatie werden gewisseld. Zelfs als 2/3 der dieren tengevolge van de vaccinatie was gestorven, hadden de anderen nog geen vermeerderden weerstand. Eerder schenen de dieren gesensibiliseerd. Binnen 24 uur na de infectie stierven van: met groote dosis gevacc. 99 : 10 10.01 % (gestorven)

„ kleine „ „ 116 : 3 2.51 %

7.6 % ± 3.34 %

quotient 2.2.

11. LANGE en YOSHIOKA (1924) immuniseerden tegen een kunstmatige infectie met *S. typhi-murium*. Vaccin agarcultuur afgeschud met physiologische keukenzoutoplossing, gedood door chloroform 10 % 24 uur.

Vaccinatie subcutaan verscheidene malen, 6x, 8x, 11x; soms ook verscheidene malen per os. Ook wel voorbehandeling met kleine doses levende cultuur per os. Zeer kleine groepen, meestal 2 à 4 dieren. Een belangrijk percentage stierf tengevolge van de voorbehandeling, b.v. 11x gevaccineerd subcutaan: 11 dieren, 9 dieren gestorven tengevolge van de vaccinatie.

Geïnfecteerd

gevaccineerd 2 : 1

controle 5 : 1

Deze proeven leenen zich uit den aard der zaak niet voor objectieve beoordeling. De schrijvers zelf besluiten tot een relatieve immuniteit van zeer geringen graad.

NEUFELD (1924) immuniseerde tegen een kunstmatige infectie met *S. typhi-murium*. Vaccin agarcultuur afgeschud met physiologische keukenzout-oplossing, verhit bij 50 à 58° C (hoe lang niet vermeld) en geconserveerd met 0.5 % carbol.

12. Gevaccineerd subcutaan 1x, infectie subcutaan 3 weken na de vaccinatie, Gevaccineerd 11:0 (overleven)

Controle 7:0

13. Vaccinatie 2x subcutaan interval 10 dagen infectie subcutaan 3 weken na de vaccinatie.

Gevaccineerd 5:1

Controle 3:0

14. Gevaccineerd 2x, interval 5 dagen, infectie subcutaan 17 dagen na de vaccinatie.

Gevaccineerd 5:0

Controle 8:0

Het ziekteverloop der gevaccineerden was langzamer dan bij de controles.

15. Infectie per os met kleine hoeveelheden levende cultuur; overlevenden geïnfecteerd subcutaan:

Voorbehandeld 18:3 16.66 % (waarvan 1 nog na 35d sterft)

Controle 6:0 0.00 %

16.66 % ± 15.59 %.

16. Bij enkele proeven, waarbij de infectie per os geschiedde (niet nader hier weer te geven), was in het geheel geen verschil op te merken. Het verloop was hier bij de gevaccineerden ook niet langzamer dan bij de controles.

17. EGUCHI (1926) immuniseerde tegen een kunstmatige *S. typhi-murium* infectie. Vaccin met physiologische keukenzoutoplossing afgeschudde agarcultuur, verhit 2 uur lang bij 60° C. Vaccinatie per os 2x respectievelijk 5x, intervallen 3 dagen; infectie 7 dagen na de vaccinatie. Gunstige resultaten werden niet waargenomen. Voor proefdieren gebruikte hij kleine groepen jonge muizen respectievelijk van 13 en 9 dagen oud.

KUROKAWA (1926) immuniseerde tegen een kunstmatige infectie met *S. typhi-murium*.

Hij paste hiervoor toe verschillende vaccins: door verhitting op verschillende temperaturen gedooide bacillen, cultuurfiltraat, door bacteriophage gelyeerde culturen en kleine hoeveelheden levende cultuur. Hij appliceerde deze zowel percutaan (inwrijven in de door plukken onthaarde huid) als peroraal. Al dan niet voegde hij Natrium Benzoeaat als sensibilisator toe. De infectie was zoodanig zwaar, dat alle controledieren steeds stierven. De overigens zeer uitvoerige beschrijving van deze proeven, die in totaal 620 muizen omvatten, is voor objectieve beoordeling moeilijk toegankelijk. De aantallen gebruikte dieren worden zoodanig aangegeven, dat ze alleen na eenig zoeken zijn te reconstrueeren.

De cijfers, waaruit de gemiddelde sterftetijden zijn berekend, ontbreken. Verder maakt een splitsing van de op zichzelf niet te kleine groepen in ondergroepen (soms 3 of 4 dieren) geïnfecteerd met dalende doses, de beoordeeling niet gemakkelijker en de resultaten sterk afhankelijk van het toeval. Volgens den schrijver was percutane vaccinatie beter dan perorale en gaf de behandeling met Natrium Benzoeaat voordeel.

In de 12 beschreven experimenten is wel een dusdanige overeenkomst, dat deze de conclusies van den schrijver min of meer waarschijnlijk maken, bewijzen doen ze voor het meerendeel echter niet. Slechts enkele berekeningen van proeven van voldoende breedte zijn hier gemaakt.

18. Vaccinatie per os met 2 dagen gegroeide bouilloncultuur verhit 48 uur bij 58° C.; al dan niet verstrekt met Natrium Benzoeaat. Vaccinatie 5x, intervallen 7 dagen; in totaal 15 ccm. cultuur verstrekt. Gevaccineerd 20 muizen, verlies 1 muis (gevaccineerd zonder Natrium Benzoeaat). Infectie per os met 1/50 ccm. 24 uur oude bouilloncultuur met de maagsonde.

Gevacc. + Na Benz. 10 : 4 (overleven)

„ zonder „ „ 9 : 4

	18 : 8	42.1 %	
contrôle	10 : 0	0.0 %	

42.1 % + 18.09 % quotient 2.3.

19. Percutane vaccinatie met levende bacillen 1x, verlies 9 muizen (wordt niet vermeld of deze *Salmonella* infectie hadden). Infectie per os 14 dagen na de vaccinatie.

Dosis 0.02 ccm. cult., gevacc. 7 : 1 (overleven) contr. 10 : 0

„ 0.01 ccm. „ „ „ 7 : 6 „ 10 : 0

„ 0.005ccm. „ „ „ 7 : 7 „ 10 : 0

	21 : 14	66.66 %	
verschil	66.66 %	± 11.85 %	quotient 5.8.

FRAENKEL EN SCHULTZ (1927) bestudeerden de immunisatie per os, zoowel bij perorale infectie met *S. typhi-murium* als bij subcutane infectie met *S. paratyphi-B*. Hun eigen conclusie uit deze proeven is, dat tegen deze beide infecties door vaccinatie per os een duidelijke resistentieverhoging werd verkregen, dat bij heterologe infectie geen vermeerderde weerstand van de gevaccineerden bleek, dat de beschutting beter was, wanneer 2x Natrium Benzoeaat vooraf werd verstrekt, dan wanneer dit 1x werd gegeven, en eveneens, wanneer het vaccin meermalen werd verstrekt. Hun conclusies baseeren zich in hoofdzaak op vermeenden langeren weerstand van de gevaccineerden dan van de controles. Er werd gewerkt met zeer kleine groepen: 3, 4, 7, 8, 12, éénmaal 16 in één groep, terwijl uit de beschrijving soms is te vermoeden, dat de controle-

dieren niet tegelijk met de gevaccineerden en ook niet met dezelfde cultuur zijn geïnfecteerd. De infectiedosis was zoodanig gekozen, dat maar enkele dieren de infectie overleefden.

20. Soms geven de tabellen den indruk van eenig resultaat, vooral door de zeer suggestief daaruit getrokken conclusies. Zoo b.v. beschrijven zij in hun tabel V 3 groepen met verschillende doses geïmmuniseerde muizen en een controlegroep, die alle per os werden geïnfecteerd met *S. typhi-murium*. Zij wijzen erop, dat na 6 dagen

van 14 muizen in groep 1	6	dood zijn.
„ 12 „ „ 2	4	„ „
„ 13 „ „ 3	2	„ „
„ 8 controlemuizen	6	„ „

Verder overleven 4 van 39 geïmmuniseerde muizen de infectie op den 8en dag, terwijl van 8 controles geen enkele den 8en dag overleefden.

Het blijkt echter, dat de 6e dag geen gelukkig tijdstip voor beoordeeling is, daar de groote sterfte op den 6en, 7en en 8en dag blijkt te hebben plaats gehad. Van de controledieren stierven 6 op den 6en dag 1 op den 7en dag en 1 op den 8en dag. Na 8 dagen, een punt waar een evenwicht is bereikt, wat op het willekeurig gekozen tijdstip 6 dagen niet het geval is, is de toestand aldus:

gevacc.	39 : 35	89.9 % (gestorven)
controle	8 : 8	100 %

$$10.1 \% \pm 10.83 \%$$

Deze proef zij als voorbeeld besproken, de overige proeven wekken evenmin den indruk eenig bewijsbaar positief resultaat op te leveren.

SPRINGUT (1927) immuniseerde tegen een kunstmatige infectie met *S. typhi-murium*. Meer in het bijzonder onderzocht hij de immuniseerende kracht van vaccin, bereid van geesellooze *S. typhi-murium* bacillen. Hiertoe gebruikte hij niet een spontaan geesellooze stam, maar deed hij een normaal begeeselde stam tot onderdrukking van de geeselvorming meer dan 100 passages op 0.15% carbolagar ondergaan, waardoor het niet is uitgesloten, dat het Smooth karakter van het O-antigeen heeft geleden (zie Hfdst. II).

21. Tijdens de vaccinatie stierf een belangrijk deel der muizen, zoowel in de met volvaccin als in de met „naakte bacteriën“-vaccin behandelde dieren. In elke groep werd uitgegaan van 25 dieren. De muizen kregen 10 à 11 subcutane injecties. De infectie geschiedde met de maagsonde.

gevacc. volvaccin verh. 56° C. 1½ uur	10 : 9	(overleven)
„ gaetheriseerd volvaccin	6 : 1	(en 2 langzaam)
„ naakte bac. 1 uur 100° C.	8 : 0	
„ laatste 2 entstoffen gemengd	6 : 1	
contrôle	10 : 0	

Vergelijken wij de met verhit vol-vaccin ($1\frac{1}{2}$ uur 56° C.) behandelde dieren met alle overigen:

10 : 9 90%

30 : 2 6.66%

83.34% \pm 16.30% quotient 5.11.

Wij kunnen hieruit dus besluiten, dat deze onderzoeker met zijn bij 56° verhit vaccin positief resultaat heeft gehad. Dit is niet toe te schrijven alleen aan selectie van resistenten, immers in 3 der andere groepen was tengevolge van vaccinatie ook een aanmerkelijk verlies opgetreden, terwijl de overgebleven dieren niet vermeerderd resistent waren. Nog zij opgemerkt, dat de slechte werking van het carbolagarvaccin evengoed kan berusten op de onevenredig lange en hoge verhitting, die een vergelijk met de volvaccins niet meer mogelijk maakt.

IBRAHIM en SCHÜTZE (1928) onderzochten door subcutane vaccinatie, 3x met een week tusschenruimte, gevolgd door een intraperitoneale injectie met *S. typhi-murium*, 14 dagen na de laatste vaccinatie, de werking van verschillende vaccins.

22.

Vaccin (<i>S. typhi-murium</i>)	Overleven 14d.	Overleven 80d.
1. Smooth 60° C. $1\frac{1}{2}$ uur	14 : 13 92.8%	14 : 1 50%
2. „ 100° C. 2 uur	15 : 5 33.3%	15 : 3 20%
2a. Verhit vaccin van carbolagar-cultuur geheel als SPRINGUT	15 : 6 40%	15 : 5 33.3%
3. Rough 60° C. $1\frac{1}{2}$ uur	15 : 1 6.5%	15 : 1 6.5%
4. „ 100° C. 2 uur	15 : 1 6.5%	15 : 0
Contrôle	15 : 0	

Berekeningen:

Smooth vaccin 60° C. $1\frac{1}{2}$ uur, verschil met contrôle na 14 dagen 92.8% \pm 18.02% quotient 5.2.

Idem 100° C. 2 uur, 33.3% \pm 13.70% quotient 2.4.

Carbolagar vaccin, verhit 100° C. 1 uur, verschil met contrôle 40% \pm 13.59% quotient 2.9.

Verskil tusschen vaccin 1 en 2a 92.8% — 40% = 52.8% \pm 19.10% quotient 2.7.

Verskil van vaccin 1 en 2 is grooter dan van 1 en 2a, dus ook signifiëk.

De vaccins 1, 2 en 2a verleenen dus een signifiëken weerstand, zij

zijn alle bereid met Smoothcultuur. In tegenstelling daarmee verleen de Roughvaccins geen weerstand. Er is een signifiket betere werking waar te nemen van het Smoothvaccin 60° C. 1½ uur dan van de beide andere.

Smoothvaccin 60° C. 1½ uur, verschil met contrôle na 80 dagen, 50% ± 15.89% quotient 3.1.

Idem 100° C. 2 uur 20% ± 10.96% quotient 1.9.

Carbolagarvaccin 33.3% ± 13.70% quotient 2.4.

Het heeft echter weinig zin na intraperitoneale infectie de dieren zoo langen tijd te observeeren; ook SCHÜTZE heeft dit in zijn volgende proeven niet gedaan.

SCHÜTZE (1930) zette deze experimenten met dezelfde vaccinatietechniek voort, alleen bedroeg het tweede interval tijdens de vaccinatie hier 14 dagen. Observatie 32 dagen. Infectie met *S. typhi-murium*.

23.

			Overleven 32d.	(gemiddelde sterftetijd.)
Vaccin <i>S. typhi-murium</i>				
spontaan geeselloos	1½ uur	60° C.	20 : 14 70%	13.0 dagen
Idem	¼ uur	100° C.	18 : 13 72%	15.0 „
Idem	2 uur	100° C.	20 : 5 25%	6.7 „
<i>S. typhi-murium</i>				
begeeseld	1½ uur	60° C.	19 : 13 68%	15.8 „
Idem	24 uur	choroform	19 : 12 63%	13.1 „
<i>S. paratyphi-B</i>				
begeeseld	1½ uur	60° C.	17 : 12 59%	9.3 „
Idem ¹⁾	70 min.	56° C.	18 : 10 56%	11.4 „
<i>S. reading</i>	1½ uur	60° C.	20 : 1 5%	4.2 „
<i>S. newport</i>	1½ uur	60° C.	20 : 1 5%	2.0 „
<i>S. typhi</i>	1½ uur	60° C.	19 : 1 5%	4.6 „
<i>Suipestifer</i>	1½ uur	60° C.	20 : 2 10%	3.2 „
Contrôle			20 : 1 5%	2.3 „
Enkele berekeningen:				
gevacc.	2 uur	100° C.	20 : 5 25%	
contrôle			20 : 1 5%	
			—————	
			20% ± 11.2%	

¹⁾ Stockvaccin Lister Instituut bewaard na toevoeging van carbol in de koelkamer.

Het resultaat van deze vaccinatie is dus niet significant.

gevacc. <i>S. pty.-B</i> 70 min. 56° C.	18 : 10	56%
contrôle	20 : 1	5%

51% ± 14.4%

quotient 3,5.

Het resultaat van deze vaccinatie is dus wel significant, dus ook van de andere vaccinaties waarbij een groot percentage overleeft.

gevac. <i>S. ty-mur.</i> ¼ uur 100° C.	18 : 13	72%
„ <i>S. pty.-B</i> 70 min. 56° C.	18 : 10	56%

16% ± 14.9%

Tusschen de gunstige resultaten onderling is dus geen significant verschil aan te toonen.

Door de enting werd latente infectie niet voorkomen; haast alle afgemaakte dieren waren dragers: 71 van 84 overlevenden (milt onderzocht).

Schrijver meent een geringe aanwijzing te zien in zijn getallen, dat dieren met een hooger 0-agglutinenen titer gunstig verloop hebben vertoond; voor berekening zijn deze getallen te klein.

24. Verder immuniseerde hij ook tegen een infectie met een Gaertnerstam op dezelfde wijze. Vaccins: met physiologische keukenzout afgeschudde agarcultuur verhit 1½ uur 60° C.

Vaccin	Aantal	Overleven na 5 dagen	na 15 dagen	gem. sterftetijd	
Gaertner H-O	18	8	44%	3 17%	7.9
Gaertner H-O	15	8	53%	1 7%	6.5
Gaertner O	14	7	50%	1 7%	7.5
Typhus H-O	13	9	69%	2 15%	7.9
Pty. A	14	0	0%	0 0%	1.9
Suipestifer	11	0	0%	0 0%	1.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	0	0%	0 0%	1.7
Contrôle	20	0	0%	0 0%	1.7

Enkele berekeningen:

Na 5 dagen Gevacc. Gaertner H-O	18 : 8	44%
Contrôle	20 : 0	0%

44% ± 13.2%

quotient 3,3.

Na 15 dagen	Gevacc. Gaertner H-O	15 : 1	7%
	Contrôle	20 : 0	0%
			7% ± 5.6%
Na 15 dagen	Gevacc. Gaertner H-O	18 : 3	17%
	Contrôle	20 : 0	0%
			17% ± 8.7%
quotient 1,9			

Uit de eerste berekening blijkt dat de cijfers van den 5en dag groot genoeg zijn tot het trekken van conclusies, immers de hier berekende groep is de minst gunstige van de groepen, die positief resultaat opleverden. De cijfers van den 15en dag echter blijken tot het trekken van conclusies te klein. Verschil tusschen typhus en Gaertnervaccin is niet aan te toonen:

Na 5 dagen	Gevacc. Gaertner	47 : 23	48.9%
	Gevacc. typhus	13 : 9	69%
			20.1% ± 11.4%
quotient 1.6			

Evenals uit de vorige proef blijkt hier dus, dat alleen vaccins met hetzelfde O-antigeen beschutting verleen.

SCHÜTZE concludeert dan ook, dat de beschutting samenhangt met het O-antigeen, en dat dit geen schade ondervindt van verhitte, indien deze niet te hoog is of indien deze bij 100° C. niet langer dan 1 kwartier duurt.

KROGH-LUND (1928) vaccineerde muizen per os met levende paratyphus-B bacillen. Zooals bekend geeft *S. paratyphi-B* bij infectie per os alleen aanleiding tot een latente infectie van het regionaire lymphklierapparaat. Het bleek, dat 5 weken na de vaccinatie een zware subcutane infectie, waaraan alle controles stierven, door verschillende voorbehandelde dieren werd overleefd, terwijl de infectie bij deze ook langzamer verliep.

25. Infectiedosis 500 miljoen bacillen.

Gevacc. 5 : 2 (sterven) Sterfdagen 3d, 7d.

Controle 5 : 5 „ 1d, 1d, 1d, 4d, 5d

Infectiedosis 1000 miljoen bacillen

Gevacc. 5 : 2 (sterven) Sterfdagen 3d, 11d.

Controle 5 : 5 „ 1d, 1d, 1d, 1d, 1d.

Infectiedosis 5000 miljoen bacillen

Gevacc. 5 : 5 (sterven) Sterfdagen 1d, 1d, 3d, 6d, 7d.

Controle 2 : 2 „ 1d, 1d.

Totaal		
Gevacc.	15 : 9	60 % (sterven)
Controle	12 : 12	100 %

40 % \pm 15.73 % quotient 2.5.

Door afmaken is vastgesteld bij op dezelfde wijze voorbehandelde dieren, dat agglutinininen waren opgetreden; bij de dieren, die de 2e infectie overleefden, waren deze nog aanmerkelijk toegenomen.

ØRSKOV, JENSEN en KOBAYASHI (1928) vaccineerden tegen een kunstmatige infectie met *S. typhi-murium*. Vaccin bereid door afschudden van agarculturen met 1 % formalineoplossing in physiologische keukenzoutoplossing of een ½ % oplossing van carbol en 24 uur plaatsen bij 37° C.

26. In hun eerste proef vaccineerden zij de dieren eenmaal met groote dosis vaccin. Infectie per os 4 weken na de vaccinatie.

Formolvacc. subc.	10	Vaccinatieverlies	0	19 : 7	37.8 %
„ intrav.	10	„	1		(overleven) ¹⁾
Carbolvacc. subc.	10	Vaccinatieverlies	1	16 : 8	50 %
„ intrav.	10	„	3		
Contrôle				100 : 6	6 %

Formolvaccin verschil 31.8 % \pm 7.8 % quotient 4.0.

Carbolvaccin verschil 44 % \pm 9.05 % quotient 4.8.

27. In een volgende proef werd deze eenmalige vaccinatie subcutaan herhaald, infectie per os, 20 dagen na de vaccinatie:

Gevacc. carbolvaccin	48 : 9	18.8 %
„ formolvaccin	48 : 12	25 %
Contrôles	20 : 0	0 %

Door het geringer aantal contrôles is deze proef minder sterk bewijzend dan de vorige.

Carbolvaccin verschil 18.8 % \pm 9.02 % quotient 2.0.

Formolvaccin verschil 25 % \pm 12.45 % quotient 2.0.

Schrijvers zelf concludeeren: „der Erfolg ist kein groszer“. Men bedenke echter dat de infectie-modus hier zeer zwaar geweest is.

28. Vaccinatie 3x zoowel subcutaan als intraveneus; beide vaccins, interval 5 dagen, infectie 4 weken na de laatste vaccinatie.

Gevacc. intrav. 40 : 9 22.5 % (overleven)

„ subc. 40 : 5 12.5 %

Controle 10 : 0 0 %

Gevacc. intrav. verschil 22.5 % \pm 13.58 % quotient 1.65

„ subc. „ 12.5 % \pm 10.60 % „ 1.15

¹⁾ Door de schrijvers worden geen gespecificeerde cijfers van subcutaan en intraveneus gevaccineerde dieren afzonderlijk gegeven.

Deze proef herhaalden zij met infectie subcutaan; doordat de infectie hier iets lichter verliep, zijn de cijfers hier zoo ongunstig uitgevallen, dat het niet noodig is. deze hier te berekenen.

Zij namen waar, dat 27 dieren, die uit deze groepen de infectie hadden overleefd, 24 ook een tweede infectie overleefden. Deze 24 werden intraveneus met een groote dosis besmet. Door afmaken van verschillende van deze dieren en van tegelijk geïnfecteerde controledieren bleek, dat het bloed van de eerste zich veel sneller had gereinigd; 5 van de dieren werden niet afgemaakt, deze overleefden ook een volgende voor de controles dodelijke infectie. Het serum van deze 5 muizen gemengd bezat een agglutinatie-titer van 1 : 100 (type niet vermeld).

In samenwerking met MOLTKE stelde ØRSKOV (1928) verder vast, dat dieren, die door geringe subcutane infectie met levende *S. paratyphi-B* cultuur drager in een der perifere lymphkieren waren geworden, na infectie per os minder lang drager in de mesenteriale klieren bleven, dan controledieren.

29. JENSEN (1929) bestudeerde in verband met het vorige de immuniteit, die het doorstaan van een weinig nosogene *S. typhi-murium* infectie per os nalaat. Hij volgde het verloop van de infectie, door zijn muizen geleidelijk tijdens de proeven af te maken. Voor zijn immuniseerende infectie gebruikte hij een stam, die Rhamnose niet vergist; voor de tweede infectie een stam, die deze wel omzet. Hierdoor was het mogelijk om de immuniseerende cultuur van de infecteerende cultuur te onderscheiden (Conradi-Drigalski-plaat met Rhamnose). De immuniseerende cultuur bleef soms tot 60 dagen in het organisme. Deze gevaccineerde muizen (dragere) waren gevoeliger voor koude en vochtigheid en vertoonden onder die omstandigheden spoedig verschijnselen van parse. Bij de herinfectie hadden zij een zekeren graad van immuniteit. Het tweede virus verdringt het eerste. Er trad een zoogenaamd paradoxaal immuniteitsphenomeen op, d.w.z. de tweede invasie verliep sneller dan bij de niet voorbehandelden. Hoe nosogener de eerste infectiestam was, hoe beter de verkregen resistentie. Door de eigenaardige opzet der proeven zijn geen cijfers te geven, die met de andere in dit overzicht vermelde experimenten te vergelijken zijn.

KUMAGAI en MOTOMURA (1929) vaccineerden tegen een kunstmatige infectie met *S. typhi-murium*. Vaccin een op niet nader beschreven wijze gedoode *S. typhi-murium* cultuur.

30. Het bleek hun, dat een kleine groep muizen van 8 à 15 gram (dus niet volwassen) onvoorbehandeld geheel sterft na een infectie met 1/200 oese cultuur. Meerdere malen per os gevaccineerde muizen verdragen meerendeels een dosis van 1/10 à 1/20 oese cultuur; bij infectie met 1/200 oese overleven alle. Echter zij opgemerkt, dat zij in totaal 40 muizen hebben gevaccineerd en dat deze vaccinatie zich uitstrekke tusschen 30 en 80 dagen, zoodat de gevaccineerde dieren veel ouder zijn geweest dan ongevaccineerden van 8 à 15 gram. Op dezelfde wijze onderzochten zij ook de resultaten van vaccinatie subcutaan. Het is zelfs uit hun beschrijving niet op te maken, of de infectie van de controles gelijktijdig en met dezelfde cultuur plaats vond.

31. ELBERT (1930) toonde aan, dat bij met *S. paratyphi-B* geïnfecteerde muizen de bacillen zich gewoonlijk beperken tot het regionale lymphklierstelsel (zooewel per os als subcutaan). Soms komt van hier uit generalisatie tot stand. De lymphklieren kunnen maandenlang besmet blijven. Door tweemaalige subcutane injectie van vaccin (op niet nader beschreven wijze gedoode *S. paratyphi-B*

cultuur) met 5 dagen interval werd geen absolute immuniteit opgewekt. Echter reinigden de gevaccineerden zich na infectie per os sneller dan de controles. 52 dagen na de infectie waren 3 van 24 gevaccineerden en 4 van 6 controles drager.

Gevacc. 24 : 3 12.5% drager.

Controle 6 : 5 66.6%

41.1% \pm 19.35% quotient 2.2

32. STRONG en HICKS (1930) waren in het bezit van een *S. typhi-murium*-stam, die subcutaan en intraperitoneaal in een dosis van 65 kiemen de muis nog doodde. Individuen onder de 4 maanden bezweken regelmatig aan infectie per os, ouderen alleen als gal vooraf werd gegeven.

Hun vaccin bestond uit een met physiologische keukenzoutoplossing afgeschudde agarcultuur, gedood op niet nader beschreven wijze. Het vaccin werd verstrekt op de nuchtere maag $\frac{1}{2}$ uur nadat 0.1 cc 10% galoplossing was toegediend. Zonder gal had de vaccinatie geen gunstig resultaat. 10 dagen na eenmalige vaccinatie beschutte de behandeling 85% van de muizen tegen een 100x dodelijke dosis.

Gedetailleerde cijfers ontbreken echter, controles worden niet genoemd.

GREENWOOD, TOPLEY en WILSON (1931) immuniseerden tegen een kunstmatige infectie met *S. typhi-murium*. Zij kennen aan het O-antigeen de hoofdrol toe bij de immunisatie.

Vaccin afgeschudde agarcultuur in physiologische keukenzoutoplossing, waaraan toegevoegd 0.25% formol en verhit 1 uur bij 55° C.

33. Vaccinatie intraperitoneaal 2x, interval 7 dagen, infectie met *S. typhi-murium* 7 dagen na de laatste vaccinatie, intraperitoneaal. Al de gebruikte dieren gehuisvest in afzonderlijke hokjes, hierdoor herinfectie door contact met zieke dieren uitgesloten.

Gevacc. *S. typhi-murium* 50 : 27 (sterven) dragers 7

„ „ „ 50 : 30 12

100 : 57 57%

Gevacc. *B.ps.t.b. rod.* 50 : 50

Contrôle 50 : 49

100 : 99 99%

42% \pm 5.86% quotient 7.32

Gevacc. *S. typhi-murium* 50 : 29 58% dragers 12.

Contrôle 50 : 50 100%

42% \pm 8.13% quotient 5.1

Gevacc. <i>S. typhi-murium</i>	44 : 25	56,8%	dragers 15
Contrôle	50 : 50	100 %	

43,2% \pm 7.34%

Dragerschap aangetoond door enten alleen uit de milt. Het positief resultaat is steeds ongeveer even groot.

162 tegelijk gevaccineerde muizen werden door verbloeding gedood. Maar 10 van deze bezaten O-agglutinenen tot een titer van 1 : 5 of hooger.

34. Hun verdere experimenten deden zij door blootstellen der gevaccineerde muizen aan contactinfectie in een experimenteele epizoötie. Hierbij werden vergeleken vaccin van *Staphylococcus aureus*, van *S. typhi* Rough, van *S. typhi-murium* Smooth specifiek + onspecifiek, *S. typhi-murium* Rough specifiek + onspecifiek, *S. paratyphi-B* Smooth onspecifiek, *S. paratyphi-B* Smooth specifiek en *Bacillus pseudotuberculosis rodentium*. Hierbij bleek, dat alleen het O-antigeen in staat was beschutting te verleenen. Hoewel het meerendeel der dieren bij dergelijke proeven op den langen duur sterft is er een verschil in levensduur tusschen gevaccineerden en ongevaccineerden. Op deze uitgebreide, waardevolle en zooals SCHÜTZE opmerkt zeer kostbare, proeven, waarin honderden muizen werden gebruikt, zal hier niet nader worden ingegaan.

35. TOPLEY (1933) ging verder den invloed van herhaalde intraperitoneale enting na; hij gebruikte vaccin van een Smooth cultuur van *S. typhi-murium*, bereid op dezelfde wijze als in de voorgaande publicaties.

De injecties werden gegeven met intervallen van 7 dagen. Er werden telkens groepen van 30 dieren met evenveel contrôles geïnfecteerd en de resultaten statistisch berekend; vandaar dat ik de cijfers niet zal herhalen. Het blijkt dat 4 à 6 injecties de beste resultaten opleveren, 8 injecties geven minder goede resultaten terwijl na 13 injecties de resistentie zoodanig is gedaald, dat deze niet hooger is dan na 1 injectie. Dat de algemeene resistentie van deze dieren niet was verlaagd, bleek TOPLEY uit een contrôleproef, welke hij nam met *Pasteurella* infectie.

RAISTICK en TOPLEY (1934) verrichtten hun onderzoekingen met immuniseerende fracties van *S. typhi-murium* (zie hoofdstuk II.) ook door intraperitoneale injectie.

LANGE en KAUFFMANN (1933) immuniseerden tegen een kunstmatige infectie met *S. typhi-murium*. Zij kenden aan het O-antigeen een groote rol toe bij het opwekken van immuniteit. Hoewel bij hun proeven met muizen de methoden, die een hooge O-titer gaven, de beste immuniteit opleverden, bleek toch, dat soms muizen

met een hoge O-titer aan de infectie ten slachtoffer vielen en met een lage O-titer deze overleefden. Echter merkten zij op, dat alleen dieren met een hoge O-titer een zware infectie overleefden, waaraan alle contrôledieren stierven.

Door intraperitoneale enting werd een aanmerkelijke O-titer verkregen. Na subcutane enting werden geen of zeer weinige O-agglutinen gevormd. Werden de dieren subcutaan gevaccineerd met 10 minuten bij 100° C. verhit vaccin (waarin het H-antigeen zou zijn vernietigd), dan traden wel O-agglutinen op. Gelijktijdig inspuiten van paardeserum, waardoor de agglutininenvorming geremd werd, verhinderde ook het ontstaan van immuniteit.

De schrijvers hechten aan het zeer vertraagd sterven van geïmmuniseerde muizen waarde, als zijnde een bewijs van immuniteit. Zij beschouwen dit als het gevolg van een spontane herinfectie. Het bleek hun namelijk bij experimenteele herinfectie, bij verscheidene van hun proeven, dat dieren, die de eerste infectie hadden overleefd, na de tweede infectie stierven. Om te veel cijfers te voorkomen, zijn de resultaten van de herinfecties hier niet weergegeven. Tevens zijn in mijn berekeningen de vertraagd gestorven dieren niet als positief medegerekend.

36. Proef I.

Vaccin agarcultuur, afgeschud met physiologische keukenzoutoplossing, verhit bij 55 à 58° C. 2½ uur. Vaccinatie respectievelijk subcutaan en intraperitoneaal 3x, intervallen 6 en 12 dagen, infectie per os 17 dagen na de laatste vaccinatie.

gevacc. intrap.	9 : 4	44 %	(overleven)
„ subc.	11 : 2	18 %	
Controle	47 : 3	6 %	

Gevaccineerd intraperitoneaal, verschil met controle 38% ± 21.6%, quotient 1.75.

Gevaccineerd subcutaan, verschil met controle 12% ± 9.4%, quotient 1.27.

37. Proef III.

Vaccin agarcultuur afgeschud met physiologische keukenzoutoplossing, verhit 10 minuten bij 100° C. Vaccinatie subcutaan 6x, intervallen 5 dagen, infectie per os 10 dagen na de laatste vaccinatie.

Gevacc. zonder paardeserum	8 : 0	0.0 %	(sterven)
„ met	9 : 5	55.5 %	
Contrôle	18 : 9	50.0 %	

Berekening onder voorbehoud (kleine groepen): verschil gevaccineerd zonder paardeserum met contrôle 50 % ± 6.3% quotient 7.6.

De overlevende dieren werden een maand later aan een herinfectie intraperitoneaal onderworpen, toen stierven alle, hoewel dieren uit de eerste groep verlengden levensduur vertoonden (25, 26, 33 dagen). Echter was de O-titer al sterk dalende.

38. *Proef IV.*

Vaccin agarcultuur, afgeschud met physiologische keukenzoutoplossing, verhit 1 uur lang bij 60° dan wel bij 100° C. Vaccinatie subcutaan of intraperitoneaal 3x, intervallen 9 en 12 dagen. Infectie per os, 3 weken na de laatste vaccinatie. Van 40 met entstof verhit bij 100° C. gevaccineerden stierven 2, van 80 gevaccineerd met entstof verhit bij 60° C. stierven 30; toch vertoonden de laatsten niet de beste resultaten, dus het resultaat berustte niet alleen op selectie.

Gevacc. subc.	vaccin	60° C.	19 : 1	5% (overleven)
" "	"	100° C.	20 : 3	15%
" intrap.	"	60° C.	12 : 1	8%
" "	"	100° C.	18 : 8	44%
" subc. of intrap.	"	60° C.		
	+ paardeserum		19 : 2	10%
Contrôle			47 : 6	13%

Een positieve uitslag constateeren schrijvers terecht alleen bij vaccinatie intraperitoneaal met bij 100° C. verhit vaccin; het verschil met de contrôles is hier 31% ± 12.7% quotient 2.41.

Schrijvers tellen daarop van alle niet met paardeserum behandelde de subcutaan gevaccineerden en de intraperitoneaal gevaccineerden bijeen.

Gevacc. subc.	39 : 4	10%
" intrap	30 : 9	30%
Contrôle	47 : 6	13%

Verskil gevaccineerden intraperitoneaal met de contrôle 17% ± 7.17% quotient 2.37.

Vergelijkt men deze uitkomst met die van proef I, dan ziet men wederom de waarde van groote groepen. Hoewel het verschil in percentage grooter kan zijn, wordt bij kleine groepen het eindresultaat geringer door den grooteren invloed van het toeval.

39. Daarna rangschikken de auteurs deze zelfde dieren naar het bezit van agglutininen.

Geen agglutininen	14 : 3	21% (overleven)
O-agglutininen	24 : 8	33%
Specifieke H-agglutininen	9 : 0	0%
Contrôle	47 : 6	13%

Verder enkele kleine groepen met onspecifieke H-agglutininen en agglutininen van beiderlei type, te klein om te beoordeelen.

Het bloed voor de agglutinaties werd bij het leven verkregen door punctie van een der staartvenen en opvangen van het bloed in een glascapillair met citraatoplossing.

Schrijvers merken op: „Am günstigsten scheiden hier die Mäuse mit dem O-Widal ab, dann folgen sogleich hinter ihnen die Mäuse mit negativem Widal. Wir haben daher aus diesem Versuch keine Anhaltspunkte für die Annahme gewinnen können, dass der Gehalt an Agglutininen im Serum in Beziehung zur Immunität steht”.

Door gebruik te maken van onze berekeningen echter is ook dit raadsel op te lossen: O-Widal, verschil met de contrôles $30\% \pm 9.98\%$ quotient 2.0. Negatieve-Widal verschil met de contrôles $8\% \pm 10.78\%$. Het schijnbaar positief resultaat bij de negatieve Widal blijkt dus geheel binnen de grenzen der waarschijnlijkheid te liggen.

40. Proef V.

Vaccin, agarcultuur afgeschud met physiologische keukenzoutoplossing, verhit 1 uur bij 58 à 60° C. Vaccinatie intraperitoneaal of intraveneus 5 à 6x, intervallen 5 à 7 dagen. Vaccinatie per os 23 dagen achtereen dagelijks door druppelen in den mond en voederen op brood. Infectie per os 23 dagen na de laatste vaccinatie. Verlies tengevolge van de vaccinatie, intraperitoneaal 5 van 28, intraveneus 14 van 42, per os 0.

Gevacc. intrap.	23 : 7	30%	(overleven)	vertraagd	verloop	3.
Gevacc. intrav.	28 : 7	25%	„	„	„	2.
Gevacc. per os	14 : 0	0%				
Contrôle	46 : 1	2.1%				

Gevaccineerd intraperitoneaal, verschil met de contrôles $27.9\% \pm 8.17\%$ quotient 3.4.

Gevaccineerd intraveneus, verschil met de contrôles $25\% \pm 4.13\%$ quotient 6.0.

41. Proef VI.

Vaccin als in de vorige proef. Vaccinatie subcutaan of intraperitoneaal 6x of 3x, intervallen 5 à 7 d. Infectie intraperitoneaal 12 dagen na de laatste vaccinatie. Van de contrôles ontbreken de cijfers, aangegeven wordt, dat deze alle binnen 7 dagen stierven. De dieren, die langer dan 10 dagen aan de infectie weerstand boden, beschouwen de schrijvers in het bezit van een verhoogde resistentie.

Gevacc. intrap.	6x 24	verl. 6	25%	geinf. 18 : 6	(overleven)	vertr. 7
„	„ 3x 12	„ 7	60%	„ 5 : 0	„	„ 4
„ subc.	6x 8	„ 0		„ 8 : 0		
„	„ 3x 8	„ 2.	25%	„ 6 : 0		„ 3

Er was een samenhang tusschen immuniteit en O-titer; bij de eerste groep bedroeg deze laatste 1 : 160 à 1 : 1280 met een bemiddelde van 1 : 320 à 1 : 640, bij de tweede groep liep deze van 1 : 80 tot

1 : 320; bij de laatste twee van 1 : 20 tot 1 : 8.0 Door het ontbreken der contrôles is het niet mogelijk voor de groepen afzonderlijk de standaarddeviatie te bepalen. Daarom vergelijken wij hier de eerste groep met hoge O-titer met de 3 anderen met lage O-titer.

18 : 6 33%

19 : 0 0%

33% ± 9.85% quotient 3.31.

Er is dus wel degelijk evenals schrijvers meenen in deze proeven een verband tusschen O-titer en resistentie.

43. BAHR (1933) vaccineerde tegen een kunstmatige infectie met *S. enteritidis* var. *danzysz* (Ratin). Hij onderzocht de waarde van subcutane en intraperitoneale vaccinatie eenmaal of driemaal met „endotoxin” bij ratten en muizen. Hij verstaat hier echter onder de 20 à 30 minuten verhitte volledige bouilloncultuur. Zoo min bij de ratten als bij de muizen, die hij gebruikte, zag hij eenig gunstig effect van de vaccinatie. Hij infecteerde met groote doses cultuur op brood; de muizen kregen in een der proeven zelfs 1 ccm. onverdunde bouilloncultuur. Zoowel de gevaccineerden als de controles stierven allen. Het is niet uit te maken of de langdurige verhitting dan wel de zware infectie hier schuld is van het mislukken van de proeven.

HEDSTRÖM (1934) immuniseerde tegen infectie met een stam, die uit biggen was geïsoleerd. Wat dit voor stam was, is niet na te gaan. Agglutinaties worden niet vermeld. De stam vergistte Arabinose, Rhamnose, Dulcitol en Mannitol; Xylose, Glycerol en Inocytol werden niet omgezet. De bij varkens waargenomen *Salmonellasoorten* (*S. cholerae-suis* variëteiten, *S. typhi-suis* variëteiten, *S. enteritidis* (o.a. var. *danzysz*) *S. typhi-murium* en *S. derby* ¹⁾) voldoen geen van alle aan deze beschrijving, terwijl *S. heidelberg*, die door HABS (1933) ²⁾ uit worst van varkensvleesch geïsoleerd werd, niet voederpathogeen is voor de muis.

44. HEDSTRÖM vaccineerde eenmaal subcutaan met vaccin, dat bereid was door afschudden van agarcultuur met een 1/2 ‰ oplossing van carbol in fysiologische keukenzoutoplossing en koken. Hij ging uit van muizen van 15 gram, dus halfwassen dieren. Hij beschouwde als controle een groep, die hij, voor hij zijn immunisatie begon, infecteerde, en infecteerde daarna elke week een groep van de gevaccineerde muizen. Beginnende 14 dagen na de vaccinatie bleek een deel der dieren vermeerderd resistent te zijn; deze resistentie houdt aan tot het einde der proef, 16 weken na de vaccinatie. Het is mogelijk, dat de verhoogde resistentie tegen deze subcutane infectie is toe te schrijven aan het ouder worden der dieren. Daardoor zijn deze proeven niet te beoordeelen.

BORCILA (1935) vaccineerde muizen met anatoxin en anacultuur van *S. typhi-murium* en van een Gaertnerbacil uit een rund verkregen. Onder ana-

¹⁾ Zie onder meer: BECK Z. Imm. forschung, 46, 294 (1926); KARSTEN Dtsch. Tierärztl. Wschr. 1927, 781; BAHR Dtsch. Tierärztl. Wschr. 38, 144, (1930); LOVELL Vet. Rec. 1932, 1052.

²⁾ Cbl. Bakt. I. Orig. 130, 367 (1933).

toxin verstaat hij een filtraat door Seitz E.K. filter van een 14 dagen oude bouilloncultuur; onder anacultuur een door toevoeging van formol gedooide 48 uur oude bouilloncultuur. Hij vaccineerde subcutaan eenmaal en tweemaal. Verschillende dieren stierven tengevolge van de vaccinatie. Hij infecteerde subcutaan met doses, die alle controles doodden, het aantal gebruikte controles vermeldt hij niet.

45. Vaccinatie eenmaal of tweemaal, cijfers bijeengesteld uit verschillende groepen:

Vacc. anatox. <i>S. ty.-mur.</i>	21	verlies	6	geïnf.	15:3	20%	(overleven)
„ anacult. „ „	15	„	6	„	9:0		
„ anatox. Gaertner	15	„	4	„	11:9	81.8%	
„ anacult. „ „	32	„	10	„	22:11	50%	

De vaccinatie met *S. typhi-murium* vaccin gaf vrijwel geen beschutting, de vaccinatie met Gaertner vaccin gaf betere resultaten. Er zij echter opgemerkt, dat de Gaertnercultuur veel minder virulent was dan de *S. typhi-murium*cultuur; bij de eerste was het noodig de muizen met 0.1 cc cultuur subcutaan te infecteeren, bij de laatste was 0.005 cc voldoende. Daar het aantal controledieren niet is vermeld en niet aangegeven, of deze tegelijkertijd met de gevaccineerden zijn geïnfecteerd, is het niet mogelijk deze proeven door berekening te toetsen. Waar bij infectie met de helft van de voor de Gaertnerinfectie gebruikte dosis, namelijk 0.005 cc, van een vermoedelijk gering aantal dieren bij de virulentiebepaling 20% overleefden, is het te begrijpen, dat individuele resistentie bij dieren in de Gaertnergroepen gemakkelijker tot uiting kon komen, dan bij de infectie met de veel virulentere *S. typhi-murium* stam.

Conclusies:

1. Verschillende auteurs hebben na een voorafgaande vaccinatie bij muizen een vermeerderde resistentie tegen infectie met *Salmonella* waargenomen. Een absolute immuniteit tegen deze infectie is niet bereikt, wel een verhoogde groepsresistentie (Herdresistance). In een hevige kunstmatige epizoötie sterven op den langen duur zelfs volgens de beste methoden gevaccineerde muizen tengevolge van de contactinfectie (TOPLEY c.s.), al weerstaan ze deze langer dan ongeënte contröles. Mogelijk is dit ook in verband te brengen met den vrij korten duur der immuniteit.

2. De kunstmatige infectie werd zoowel verricht per os als parenteraal. In het eerste geval, waar de incubatie niet korter was dan na spontane infectie, verschilde bij de dodelijke gevallen het verloop van de ziekte niet merkbaar bij de gevaccineerde en de ongevaccineerde dieren. Na de parenterale infectie (subcutaan, intraveneus, intraperitoneaal en intrapleuraal) is er een verschil in den tijdsduur bij gevaccineerde en ongevaccineerde dieren. Dit dient te worden toegeschreven aan een remmenden invloed van het ge-

immuniseerde organisme tegen de parenteraal ingebrachte bacillen (WEBSTER).

3. Het blijkt, dat het aantal dragers, dat na de infectie overblijft, door de vaccinatie niet is beïnvloed (SCHÜTZE). Men bedenke hierbij, dat dit „dragerschap” is vastgesteld enkele weken na de doorstane infectie en eerder kan worden opgevat als een aanwijzing betreffende de morbiditeit. Daaruit zou men kunnen afleiden, dat speciaal de mortaliteit en niet zoo zeer de morbiditeit is beïnvloed. In tegenstelling hiermede blijkt, dat bij een kunstmatige infectie per os met *S. paratyphi-B*, tengevolge waarvan alleen dragerschap in de mesenteriale klieren pleegt te ontstaan, 2x subcutaan gevaccineerde muizen zich sneller reinigen dan de contrôles (ELBERT). Het is echter mogelijk, dat tusschen het eerste geval, waar de bacillen in de milt plegen te worden gevonden, en het tweede, waar geen verdere invasie heeft plaats gehad, een principieel verschil is.

4. Verhoogde resistentie is verkregen door vaccinatie met de volgende methoden:

a. Intrapleuraal
2x WEBSTER

b. Intraperitoneaal
2x WEBSTER

GREENWOOD, TOPLEY en WILSON.

3x LANGE en KAUFFMANN

4 à 6x TOPLEY

c. Intraveneus

1x ØRSKOV, JENSEN en KOBAYASHI.

d. Subcutaan

3x PRITCHETT

IBRAHIM en SCHÜTZE.

SCHÜTZE.

6x LANGE en KAUFFMANN

10 à 11x SPRINGUT.

(N.B. FELIX 3x *S. typhi* inf.).

e. Per os

4x ORNSTEIN

5x KUROKAWA

(N.B. STRONG en HICKS 1x en 3x, onvoldoende gegevens).

Door de verschillende modus en graad van infectie is het eindresultaat van al deze proeven moeilijk met elkaar te vergelijken.

Voldoende resultaten werden zoowel verkregen bij intraperitoneale vaccinatie (TOPLEY c.s.), als bij subcutane vaccinatie (o.a. SCHÜTZE). Het blijkt, dat 4 à 6 malige vaccinatie (intraperitoneaal) betere resultaten oplevert, dan 10x of meer (TOPLEY '33).

5. Als vaccin is met succes toegepast:

- a. Bouilloncultuur verhit 2 uur bij 55° C. (WEBSTER).
- b. Afgeschudde agarcultuur verhit 1½ uur 56° C. (SPRINGUT).
- c. Bouilloncultuur verhit 48 uur bij 58° C. (KUROKAWA)
- d. Afgeschudde agarcultuur verhit 1 uur bij 60° C. (PRITCHETT).
- e. Afgeschudde agarcultuur verhit 1½ uur bij 60° C. (IBRAHIM en SCHÜTZE).
- f. Afgeschudde agarcultuur verhit 10 minuten bij 100° C. (LANGE en KAUFFMANN).
- g. Afgeschudde agarcultuur verhit 15 minuten bij 100° C. (SCHÜTZE).
- h. Bouilloncultuur gedood door chloroform 24 uur. 37° C. (ORNSTEIN, SCHÜTZE).
- i. Afgeschudde agarcultuur 0.25% formol 24 uur 37° C. (GREENWOOD, TOPLEY, en WILSON, TOPLEY).
- j. Afgeschudde agarcultuur 1% formol 24 uur 37° C. (ØRSKOV, JENSEN en KOBAYASHI).
- k. Afgeschudde agarcultuur 0.5% carbol 24 uur 37° C. (ØRSKOV, JENSEN en KOBAYASHI).

6. Geen resultaten werden bereikt met:

- a. Afgeschudde agarcultuur 2 uur 60° C.; applicatie 2x respectievelijk 5x per os bij zuigende muizen. (EGUCHI).
- b. Bouilloncultuur verhit 20 à 30 min. bij 100° C. (BAHR).
- c. Afgeschudde agarcultuur verhit 2 uur bij 100° C. (IBRAHIM en SCHÜTZE).
- d. Afgeschudde agarcultuur van „naakte bacillen” gegroeid op carbolagar, verhit 1 uur bij 100° C. (SPRINGUT, IBRAHIM en SCHÜTZE).
- e. Vaccins bereid van Rough culturen (IBRAHIM en SCHÜTZE, GREENWOOD, TOPLEY en WILSON).
- f. Vaccins bereid van bacteriesoorten die in O-antigeen verschillen (SCHÜTZE, GREENWOOD, TOPLEY en WILSON).

7. Er is een samenhang tusschen het O-antigeen en de door het vaccin opgewekte immuniteit:

a. De geesels zijn niet noodzakelijk; geesellooze bacillen en verwante bacillen met zelfde O-antigeen maar ander H-antigeen zijn voor vaccin te gebruiken.

b. Er is een samenhang tusschen de vorming van O-agglutinenen en het optreden der immuniteit (LANGE en KAUFFMANN, SCHÜTZE).

c. Gebruikt men vaccins, die O-agglutinenen vormen en remt men door injectie van paardeserum intraperitoneaal deze vorming, dan verhindert men tevens het optreden van immuniteit (LANGE en KAUFFMANN).

d. Te langdurige verhitting bij 100° C. en kweken op carbolagar, beide inwerkingen, die het O-antigeen schaden, maken de bacillen voor vaccinatie minder geschikt.

8. Door infectie met subminimale doses levende bacillen is ook verhoogde resistentie op te wekken, al zal hier dikwijls selectie door sterfte tengevolge van deze „vaccinatie” van invloed zijn; per os: WEBSTER, KROGH-LUND, JENSEN, percutaan: KUOKAWA.

9. Immunisatie proeven zijn verricht tegen infectie met de normale ziekteverwekkers van de muis:

a. *S. typhi-murium*: WEBSTER (1921), ORNSTEIN (1922), PRITCHETT (1923), LANGE en YOSHIOKA (1924), NEUFELD (1924), EGUCHI (1926), KUOKAWA (1926), FRAENKEL en SCHULTZ (1927), SPRINGUT (1927), IBRAHIM en SCHÜTZE (1928), ØRSKOV, JENSEN en KOBAYASHI (1928), JENSEN (1929), KUMAGAI en MOTOMURA (1929), SCHÜTZE (1930), STRONG en HICKS (1930), GREENWOOD, TOPLEY en WILSON (1931), LANGE en KAUFFMANN (1933), TOPLEY (1933), RAISTICK en TOPLEY (1934), BORCILA (1935).

b. *S. enteritidis* (var. *danysz?*): PRITCHETT (1923), SCHÜTZE (1930), BAHR (1934), (var. *dublin?*): BORCILA (1934). Verder zijn proeven genomen met *S. paratyphi-B* infectie (FRAENKEL en SCHULTZ (1927), KROGH-LUND (1927), ELBERT (1930) en met *S. typhi*-infectie (o.a. FELIX en PITT zie hoofdstuk II).

Tegen al deze infecties blijkt immuniteit op te wekken. Voor wat

betreft infectie met *S. enteritidis* (var. *danysz*?) wordt dit door PRITCHETT ten stelligste ontkend.

11. Verscheidene in de literatuur vermelde proeven zijn door de wijze van experimenteren dan wel door de wijze van beschrijving niet voor objectieve beoordeeling toegankelijk; deze zijn voor zoover hier beschreven in het voorgaande overzicht vermeld onder de nummers: 2, 4, 5, 8, 11, 15, 20, 28, 30, 32, 36, 44; 45.

Literatuur zie bladz. 109.

HOOFDSTUK VII.

SALMONELLA INFECTIE EN SALMONELLA VACCINATIE BIJ MUS MUSCULUS.

Eigen onderzoek.

If active immunisation of the mouse (.....) were an easy procedure, attended with but slight mortality arising directly from the administration of the bacterial antigen, and resulting in a high degree of resistance, it would be reasonable to attribute to the development of an acquired immunity, during the actual spread of infection, an important share in bringing the epidemic to a close.

... ..

The parenteral administration of killed cultures appears to be far more effective in increasing resistance than their administration per os.

W. W. C. TOPLEY, J. WILSON en E. R. LEWIS,
(1925).

Casuïstiek.

In aansluiting aan hetgeen in de literatuur is medegedeeld, zij hier vermeld, dat door mij 3 stammen uit muizen zijn onderzocht van verschillende herkomst.

1. Eén stam afkomstig uit een enzoëtie, die in den zomer van 1933 de fokkerij van het Instituut teisterde (stam 56'). Deze enzoëtie is niet tot staan gebracht kunnen worden door een eenmalige vaccinatie per os, zooals deze door STRONG en HICKS is beschreven. De resteerende dieren zijn opgeruimd en de fokkerij met geheel nieuw en betrouwbaar materiaal voortgezet.

2e. Eén stam in November 1934, kort na de in hoofdstuk VIII beschreven konijnensterfte in dezelfde localiteit uit een voorraadmuis geïsoleerd.

3e. Eén stam gemerkt „muis Hannover” afkomstig van Prof. MIESSNER (Hannover).

Al deze stammen bleken *S. typhi-murium* te zijn; zie hoofdstuk X.

Inleiding tot de proeven,

Voor de vaccinatieproeven werd echter *S. enteritidis* var. *dublin* gekozen en wel de stam „kalf” door WINKEL (1922) uit een kalf geïsoleerd. De meeste in de literatuur beschreven proeven zijn met *S. typhi-murium* verricht, vandaar dat het niet onbelangrijk zou zijn deze proeven te verrichten met een organisme uit de D groep; tot deze groep immers behooren zowel de verwekker van den typhus van den mensch, als van verschillende belangrijke diersalmonellosen. Te-

meer is dit van belang, waar PRITCHETT de mogelijkheid heeft ontkend tegen een infectie met een enteritidisstam te vaccineeren en ook aan BAHK dergelijke proeven niet gelukt zijn.

De in deze experimenten gebruikte muizen waren gehuisvest in Keulsche potten met turfstrooisel en vette watten, afgesloten door gazen deksels. Ze werden gehouden bij een kamertemperatuur van circa 20° C; door ventilatie, dan wel door toevoeren van kachelwarmte, werd zooveel mogelijk de stal waar deze dieren verbleven, op dezelfde temperatuur gehouden. Dit gelukte vrij gemakkelijk, daar deze ruimten maar een inhoud hadden van 1.40 bij 5,00 bij 2.75 m. Muizen van één proef verbleven steeds bijeen in hetzelfde vertrek. De dieren werden met het oog op besmettingsgevaar geheel door mij persoonlijk verzorgd. Eenmaal per dag, op werkdagen des morgens, op Zon- en feestdagen des middags, werden zij gevoederd met bruin brood, geweekt in gekookte melk en met graan (haver, tarwe en gebroken mais). Tevens werden dan alle aanwezige muizen nageteld en daarna eventuele vermisten opgezocht; veelal n.l. plegen muizen hun dooden te begraven. Indien zieke dieren werden opgemerkt, werden deze des middags nogmaals geïnspecteerd. Gedurende en na de verzorging der muizen werden de handen ontsmet met sublimaatoplossing. De doode muizen, voor zoover zij niet direct konden worden geseceerd, werden bewaard in de koelkast bij + 4° C.

Bij sectie van 436 gestorven muizen met positieve bacteriologische bevinding werd 382 maal een gezwollen milt waargenomen, 237 maal vergezeld van hardjes in de lever, 3 maal werden ook hardjes in de milt waargenomen. Soms werd ook enteritis geconstateerd.

Lang niet altijd is het sectiebeeld even duidelijk; 54 maal waren bij oppervlakkige beschouwing zelfs in het geheel geen afwijkingen waar te nemen.

Uit gestorven muizen werd geënt uit hart en milt in bouillon, en van den bouillon, indien beweging werd opgemerkt, op de Gassnerplaat. Dit kon, daar de gebruikte stam steeds goed bewegelijk bleef, zoodat onbewegelijke culturen niet in het onderzoek werden betrokken. Gele groei op de plaat werd op indolvorming en gelatinevervloeiing onderzocht, steekproefsgewijs werd ook de geheele bonte rij ingesteld en agglutinatie verricht.

Sterfgevallen tengevolge van toevallige oorzaken, bijvoorbeeld bijtonden, werden van het totaal van de proeven afgevoerd. Trad echter, wat een paar maal voorkwam, grootere sterfte onder de muizen op (b.v. streptococceninfectie, zie vaccinatieproef II), dan werd de geheele groep, waarin ziekte was voorgekomen, verder buiten beschouwing gelaten.

Als infectiemodus werd gekozen de infectie per os. Bij een voldoende virulent micro-organisme kan men deze toepassen, zonder in de fout te vervallen, waarop TEISSIER c.s. hebben gewezen (zie hoofdstuk IV). Ze heeft dan boven de parenterale het voordeel de natuurlijke infectie zoo getrouw mogelijk te imiteeren.

Ik achtte mij gerechtigd de infecties te verrichten met de maagsonde; immers het hoofdonnamegebied voor de bacillen ligt eerst in den darm. Tegen de ingewikkelde techniek weegt het voordeel op, dat kleine doses zijn te verstrekken met een groote zekerheid, dat deze binnen een zelfden tijd worden opgenomen, wat bij infectie op brood haast onmogelijk is. Ook indruppelen in den mond zal cultuurverlies met zich mede brengen en was daarom niet te verkiezen.

Als maagsonde voor de muis werd gebruikt een stukje van een hard-gummi mannencatheter met een lengte van circa 8 cm waarin aan de eene zijde een injectiecanule was geschoven, die het mogelijk maakte deze sonde aan een 1 ccm. recordspuit te verbinden. Vóór het ingeven wordt de muis in een met een glazen deksel afgesloten wijdomdsche flesch onder aethernarcose gebracht. Zoodra het stadium van tolerantie is ingetreden, wordt de muis onverwijld uit de flesch genomen, in rugligging gebracht en met de eene hand (voor den rechtshandige de linker en omgekeerd) gefixeerd. Met de andere hand wordt nu de bereids aan de gevulde spuit verbonden sonde ingebracht, waarbij vooral dient te worden opgelet, dat het dier goed gestrekt ligt met den kop achterover. Ter controle kan men zoo noodig de sonde in de maag door den buikwand heen voelen. Een volume van 0.2 à 0.4 ccm kan zonder schade worden ingebracht (de inhoud van de gevulde maag bedraagt bij de volwassen muis circa 2 ccm). Het is niet noodzakelijk de sonde in te vetten.

Moet men groote series ingeven, dan zal het door het snelle werken een enkelen keer voorkomen, dat men zonder het van te voren gemerkt te hebben in de trachea is geraakt; dit demonstreert zich, doordat de vloeistof minder gemakkelijk de spuit verlaat en ook weldra uit den mond te voorschijn treedt. Dergelijke dieren dienen uit de proef te worden verwijderd.

De aethernarcose wordt niet steeds evengoed verdragen; enkele dieren, die na afloop van de narcose flauw zijn en koud aanvoelen, kunnen door een korte verwarming (bijvoorbeeld in een thermostaat van 37° C gedurende 10 minuten) worden gered.

Ongetwijfeld bestaat hier een toestand van poikilothermie, begunstigd door het voorafgaande vasten, zooals deze door KNORR (1926) bij de muis beschreven werd en waarbij hij temperaturen van minder dan 30° C. rectaal mat. Soms vertoonden de dieren de door KNORR beschreven tonische strekkrampen. Ook bij enkele der zieke geïnfecteerde muizen werden deze waargenomen.

De methode van ingeven met de maagsonde is door mij, zoowel bij immunisatie per os als bij infectie, voor honderden muizen gebruikt, zonder dat een groot verlies tengevolge hiervan is waar te nemen geweest. Bij 1204 maal ingeven (2 × op denzelfden dag voor 1 × gerekend) zijn in totaal 62 muizen gestorven; van de laatste 454 maal (meest routine) bedroeg dit aantal slechts 10. In tegenstelling met OOMS (1934) ben ik over het gebruik van de maagsonde bij de muis niet ontevreden; bij zorgvuldig en rustig werken behoeven geen sterfgevallen voor te komen.

Toch kiese men zijn tempo, vooral met het oog op de narcose, niet te langzaam. Genoteerd werd, dat in vaccinatieproef VI 188 muizen in den tijd van 2½ uur werden ingegeven zonder assistentie.

Bij infectie werd steeds ingegeven 24 uur gegroeide cultuur in Liebig bouillon, geënt, door er een stukje milt van een aan *Salmo-*

nella-infectie gestorven muis aan toe te voegen. Van deze cultuur werden in serumbouillon zoodanige verdunningen bereid, dat het volume vloeistof, dat werd ingegeven, 0.2 ccm. bedroeg.

Infectieproeven.

Aan de immunisatieproeven diende vooraf te gaan een oriëntatie betreffende de aan te wenden infectiedosis per os.

Voorop gesteld dient, dat geen pogingen in het werk werden gesteld, de „minimale letale dosis” te bepalen; TOPLEY (1933) heeft zeer terecht er op gewezen dat er geen „standaarddier” bestaat en dat deze dosis dus individueel sterk uiteen zal loopen. Ook de gemiddelde letale dosis (L.D. 50, TREVAN (1927)) werd niet bepaald. Voor een bepaling hiervan bij een *S. typhi-murium* stam had TOPLEY 287 muizen noodig.

Dit hangt samen met de geringe helling van de karakteristieke curve van dergelijke bacterieele infecties, wat ook blijkt uit de waarneming van TOPLEY en AYRTON (1923), die bij een dosis van 0.1 ccm. en van 0.00001 ccm. cultuur dezelfde sterfte waarnamen.

De oriëntatie omvatte enkele kleine groepen en had slechts ten doel een indruk te krijgen van de infectiedosis, die in de vaccinatieproeven zouden dienen te worden toegepast; deze werd eerst verricht na voorafgaand vasten, later werd ze herhaald zonder voorafgaand vasten.

Infectieproef I.

Voeding op brood van agarcultuur (24 uur oud) na 24 uur vasten: 32:28 (5, 5, 6, 6, 6, 6, 7, 7, 8, 8, 8, 9, 9, 9, 10, 10, 10, 10, 11, 11, 11, 12, 13, 13, 14, 17, 17.)¹⁾ Sterfte 87,5% \pm 5,8%.

Infectieproef II.

Intrastomachiale infectie met de maagsonde, geringe doses 24 uur oude bouilloncultuur na een nacht vasten.

Dosis 0.01	ccm. 5 : 4 (8, 11, 11, 15) ¹⁾ .
„ 0.004	„ 4 : 2 (7, 8).
„ 0.002	„ 4 : 4 (6, 8, 9, 12).
„ 0.001	„ 3 : 2 (4, 7).
„ 0.0005	„ 4 : 3 (7, 8, 8).
„ 0.0005	„ 3 : 1 (16).
„ 0.000125	„ 3 : 3 (6, 14, 15).
„ 0.0000625	„ 3 : 2 (7, 15).

29 : 21 73,4%

¹⁾ Voorbeeld: 5 : 4 (8, 11, 11, 15) wil hier zeggen:

Van 5 geïnfecteerde dieren sterven er 4, 1 op den 8en dag, 2 op den 11en dag, 1 op den 15en dag.

Infectieproef III.

Intrastomachiale infectie met de maagsonde, geringe doses 24 uur oude bouilloncultuur zonder voorafgaand vasten:

Dosis 0.1	ccm.	4 : 1	(9).
„ 0.05	„	5 : 4	(8, 11, 24, 33).
„ 0.01	„	4 : 3	(8, 9, 18).
„ 0.005	„	5 : 4	(7, 8, 11, 13).
„ 0.001	„	5 : 5	(9, 11, 13, 20, 22).
„ 0.0001	„	4 : 1	(24).
„ 0.00001	„	4 : 0	

27 : 18 66.6%

In de infectieproeven II en III valt op, de onregelmatige verdeling van de sterfte over de kleine groepen, zoodat b.v. in de laatste proef de hoogste en de laagste dosis dezelfde geringe sterfte tengevolge hebben gehad, zij het ook dat het tijdsverloop hier toevallig sterk verschilt. Dit is alleen te wijten aan de kleine groepen, waardoor de verdeling van de sterfte te zeer van het toeval afhankelijk is.

Als wij de groepen sommeeren komen wij tot een ander resultaat, vooral indien wij er enkele contrôlegroepen uit volgende vaccinatieproeven mede vergelijken.

Infectieproef II, wisselende doses na vasten	29 : 21	73.4%
„ III, „ „ zonder „	27 : 18	66.6%
Vaccinatieproef I, (contr.) 0.01 ccm. na vasten	25 : 15	60.0% ¹⁾
„ II, „ „ „	13 : 8	62.5%
„ III, „ „ „	14 : 9	63.5%
„ IV, „ 0.05 ccm. zonder „	13 : 9	69.2%
„ VI, „ 0.01 ccm. zonder „	53 : 32	60.3%
	174 : 112	64.3%
		± 3.6%

Bij ingeven van kleine doses blijken dus de percentages te varieren tusschen 60.0% en 73.4%, verschil 13.4% ± 12.37%, quotient 1.04.

Deze groepen zijn dus geheel vergelijkbaar. Na sommatie blijkt dit percentage berekend voor alle groepen tesamen te zijn 64.3% ± 3.6%.

¹⁾ Na 21 dagen.

Met vasten :

29 : 21

25 : 15

13 : 8

14 : 9

81 : 53 65.4%

Zonder vasten :

27 : 18

13 : 9

53 : 32

93 : 59 63.4%

De infectie na vasten met kleine doses blijkt dus in wezen van de infectie zonder vasten niet te verschillen.

Uit het voorgaande volgt, dat $35.7\% \pm 3.6\%$ der muizen een zekere natuurlijke resistentie bezit ten opzichte van infectie met kleine doses cultuur per os, welke resistentie niet merkbaar vermindert door voorafgaand vasten. Dit percentage is grooter, dan dat gevonden bij de infectie op brood — n.l. $12.5\% \pm 5.8\%$. Het verschil bedraagt $23.2\% \pm 8.04\%$ (quotient 2.88).

In hoeverre het verloop en de incubatietijd door het vasten wordt beïnvloed, kunnen wij beter door vergelijking van de totale groepen met kleine doses geïnfecteerd na vasten en zonder vasten uitmaken. Voor zoover deze cijfers hierboven niet zijn aangegeven, zijn zij in de tabellen der vaccinatieproeven terug te vinden. Het blijkt, dat de grootste sterfte ligt tusschen den 7en en 13en dag na de infectie.

	na vasten		zonder vasten		totaal
Aantal geïnfect. dieren	81		93		174
Gestorven:					
3en tot 7en dag	4	4.93%	5	5.37%	9 5.17%
7en tot 13en dag	31	38.27%	35	37.63%	66 37.93%
Vóór den 13en dag	35	43.20%	40	43.01%	75 43.10%
					$\pm 3.76\%$
13en en tot 19en dag	13	16.49%	10	7.5 %	23 13.22 %
tot den 19en dag	48	59.69%	50	53.76%	98
					$56.74\% \pm 3.76\%$

Het al dan niet vasten heeft ook op het ziekteverloop geen invloed gehad.

Zoals reeds is medegedeeld, werd eerst later de infectie zonder vasten in de immunisatieproeven ingevoerd en was, zoals begrijpelijk is, de vergelijking der eerder genoemde cijfers eerst mogelijk, nadat deze proeven waren uitgevoerd. Voor deze eerste vaccinatieproeven koos ik als infectiemodus de intrastomachiale infectie met vasten vooraf. Dit vasten was echter niet zoals in de „muisvoederproef” volle 24 uur, maar slechts gedurende den nacht voorafgaande aan de infectie. Daar de intrastomachiale infectie onder narcose dient te geschieden, was het niet gewenscht de muizen te sterk te verzwakken.

Vaccinatieproeven.

Vaccinatieproef I.

Hierbij werd uitgegaan van eenmalige vaccinatie, die of per os of wel subcutaan werd toegepast. Er werden gebruikt 2 vaccins, beide bereid van een 14 dagen gegroeide vleeschbouillon cultuur; het eene werd gedood door verhitting $\frac{1}{2}$ uur bij 70° C., het andere door toevoeging van formaline 1 : 500 en verblijf van 24 uur in het thermostaat bij 37° C. Zoowel per os als subcutaan werd verstrekt een dosis van 0.2 ccm. vaccin.

De infectie vond plaats 23 dagen na de vaccinatie, er werd verstrekt 0.01 ccm. bouilloncultuur; het verdere verloop is weergegeven in de tabel I. Door het ingeven met de sonde waren geringe verliezen geleden; ter observatie kwamen:

per os gevaccineerd met verhit vaccin	22
„ „ „ „ formol „	19
subcutaan „ „ verhit „	24
„ „ „ „ formol „	24
Contrôles	25

De dieren werden gedurende een termijn van 60 dagen geobserveerd. De groepen werden elk in 2 Keulsche potten gehouden, terwijl de controles over deze potten gelijkmatig werden verdeeld; in tegenstelling hiermede werden in de volgende proeven de controles apart gehouden.

De vaccinatieproef I is daarom opmerkelijk, dat hier een beeld wordt gegeven van het langzaam spontaan voortwoekeren van een infectie. Bij beschouwing van de tabel valt op, dat omstreeks den 21en dag een evenwicht bereikt is; daarna treden, in de eene groep eerder, in de andere later, nieuwe sterfgevallen op, tot ook talrijke der tegen de eerste infectie resistente dieren ten offer zijn gevallen. Deze waarneming is in overeenstemming met hetgeen over de epizoötiologie van deze ziekte uit de literatuur is medegedeeld.

Dat de muis zoo gemakkelijk door „contact” een ernstige infectie opdoet, hangt zeker wel voor een groot deel samen met de onhygiënische omstandigheid, dat muizen van nature coprophag zijn; soms ziet men zelfs muizen de eigen onmiddellijk tevoren gedeponeerde faeces met de voorpooten naar den mond brengen en met smaak verorberen.

Hieruit volgt, dat het voor beoordeelen van immunisatieproeven op deze schaal niet gewenscht is, deze te observeeren langer dan den termijn der eerste kunstmatige infectie. Immers de tweede spontane infectie is van zoovele toevalligheden afhankelijk, dat men om deze te omzeilen zou moeten overgaan tot proeven met honderden muizen, zooals b.v. TOPLEY c.s. deze met contactinfecties verrichtten; ook het beoordeelingssysteem zou hiervoor dienen te wor-

den gewijzigd. In de volgende experimenten is hiermede dan ook rekening gehouden.

Bij beschouwing van de tabel tot den 21en dag blijkt, dat de subcutaan gevaccineerde dieren zich gelijk gedragen aan de contrôles. Men ontkomt echter niet aan den indruk, dat de per os gevaccineerde dieren in het nadeel zijn geweest.

Op den 21en dag zijn nog in leven van:

per os gevaccineerden verh. vacc.	22 : 6	27.3 %
" " " form. vacc.	19 : 5	26.3 %
gevaccineerd per os tesamen	41 : 11	26.7 %
subc. gevaccineerden verh. vacc.	24 : 11	46 %
" " " form. vacc.	24 : 10	42 %
Contrôles	25 : 10	40 %
tesamen	73 : 31	42.4 %

Vergelijkt men de per os gevaccineerden, groep voor groep, met de contrôles:

per os gevaccineerden verh. vacc.	22 : 6	27.3 %
Contrôles	25 : 10	40 %
verschil		12.7% ± 13.8%
per os gevaccineerden form. vacc.	19 : 5	26.3%
Contrôles	25 : 10	40 %
verschil		13.7% ± 14.43%

Het blijkt dat het verschil hier binnen de grenzen der waarschijnlijkheid ligt; als wij de per os gevaccineerden met alle overige vergelijken blijft dit evenzoo:

per os gevaccineerden	41 : 11	26.7%
overigen	73 : 31	42.4%
verschil		15.7% ± 9.41%
		quotient 1.67.

Bij het beëindigen van de proef zijn nog in leven:

verh. vacc. per os	22 : 4	18%	draggers	2
form. vacc. per os	19 : 3	16%	..	2
form. vacc. subc.	24 : 6	25%	..	3
verh. vacc. subc.	24 : 1	4.16%	..	0
Contrôles	25 : 4	16%	..	2

Het dragerschap werd na afmaken onderzocht door enten in bouil-

lon van de geheele milt, een nier, een stukje lever, de galblaas, enkele oesen bloed en een weinig darminhoud.

Het verloop na den 21en dag is afhankelijk van zooveel toeval, dat het niet past hier nog iets uit te concludeeren, behalve het feit, dat op 21 dagen overleven $36.8\% \pm 4.5\%$, wat overeenstemt met de cijfers uit de infectieproeven afgeleid; ook deze blijken aan de contactinfectie geleidelijk te sterven, terwijl van de overlevenden na 60 dagen $50\% \pm 25\%$ drager is.

Conclusie:

1e. Vaccinatie eenmaal subcutaan geeft geen vermeerderden weerstand tegen een infectie per os.

2e. Vaccinatie eenmaal per os geeft evenmin een vermeerderden weerstand, eerder is er een aanwijzing, dat de weerstand wordt verminderd.

Vaccinatieproef II.

Hierin werd een groep dieren 3 maal per os en een groep 3 maal subcutaan gevaccineerd; als vaccin werd gebruikt het verhitte vaccin uit de vorige proef. Doses en intervallen per os: op 3 achtereenvolgende dagen telkens 0.1 ccm. 10% *Fel tauri*; daarna 0.4 ccm. vaccin. Doses en intervallen subcutaan: 3 dagen tusschen de eerste en tweede vaccinatie, 2 dagen tusschen de tweede en de derde, dosis telkens 0.2 ccm. Infectie na ruim 3 weken (per os na 25 dagen, subcutaan na 23 dagen) met contrôles; per os na vasten 0.01 ccm. cultuur.

Terwijl bij de eenmalige subcutane injectie van vaccin geen na-deelige reactie was opgemerkt, bleek een groot deel van de muizen na de tweede injectie in een soort shocktoestand te geraken. Door verwarming werden de meeste dieren gered; in proef II stierven op deze wijze 2 van 20 dieren.

In een der potten met per os gevaccineerde dieren was spontaan sterfte tengevolge van een streptococceninfectie opgetreden, waarbij enkele gevallen van hydrops ascitis werden waargenomen ¹⁾. Daar hierdoor een selectie had kunnen plaats hebben, werden de dieren uit dezen pot (waarin de meeste per os gevaccineerde muizen zich bevonden) verder afgemaakt. De per os gevaccineerde groep is hierdoor klein.

¹⁾ zie SEIFRIED in R. JAFFÉ Anatomie und Pathologie der kleinen Laboratoriumstiere, 1931.

Verloop zie tabel 1. Afgemaakt na 25 dagen; resultaat:

per os gevaccineerd	8 : 4	50% (overleven)
contrôle	13 : 5	38%

12% ± 22.49%

subcutaan gevaccineerd	18 : 10	55.5%
contrôle	13 : 5	38 %

17.5% ± 18.9%

Dragers: gevaccineerd per os 1, gevaccineerd subcutaan 3, contrôle 2; dragerschap nagegaan door cultures uit: de geheele milt, een nier, een stukje lever, een stukje femur, enkele oesen bloed.

Verdere berekeningen zie blz. 94.

Vaccinatieproef III.

Hierin werd één groep dieren 3 maal per os gevaccineerd als in proef II en één groep eenmaal rectaal; als vaccin werd gebruikt het verhitte vaccin uit vaccinatieproeven I en II. De rectaal gevaccineerde dieren ontvingen 0.4 ccm. 10%. Fel tauri en enkele uren daarna 0.8 ccm. vaccin.

Dit rectaal inbrengen geschiedde onder diepe narcose door middel van de met vaseline ingevette maagsonde. Tengevolge van het inbrengen van de gal vertoonden alle dieren een heftige shock, ondanks onmiddellijk overbrengen in een thermostaat van 26° C. stierven er toch nog 6 van 30, het vaccin werd zonder schade verdragen.

Infectie na vasten met 0.01 cc. bouilloncultuur 27 dagen na de vaccinatie per os, 28 dagen na de vaccinatie rectaal, met contrôles.

Verloop zie tabel 1; na den 20en dag treedt in alle groepen een nieuwe sterfte in, bij het afmaken heeft een deel der dieren bacillen in het bloed. Afgemaakt na 23 dagen; resultaat:

gevacc. per os	12 : 7 (overleven)	drag	5	waarvan	4 hartbl.	+
„ rectaal	24 : 8	„	8	„	3 „	+
contrôle	14 : 5	„	4	„	2 „	+

Dragerschap nagegaan door cultures uit dezelfde organen als bij vaccinatieproef II.

Berekeningen zie blz. 94.

Vaccinatieproef IV.

Vaccinatie subcutaan tweemaal met een dag tusschenruimte, eerste maal 0.1 ccm., tweede maal 0.2 ccm. vaccin; deels met geformoliseerd vaccin deels met verhit vaccin (bereiding als in proef I). Infectie zonder vasten na 40 dagen met 0.05 ccm. bouilloncultuur. De groepen 1, 2 en 3 zijn gevaccineerd met formolvaccin, de groep 4 met verhit vaccin. Verloop zie tabel 1.

De groep 1 gedraagt zich zeer ongunstig. Dit is daaraan te wijten, dat een muis, die door een kunstfout (abusievelijk intratracheale infectie) den dag na de infectie stierf en waaruit *Salmonella* werd geïsoleerd, grootendeels door zijn makkers is opgegeten en dat deze groep zich telkens weer heeft schuldig gemaakt aan kannibalisme, waarbij vooral de buikorganen werden verscheurd, zoodat de infectie hier veel zwaarder is geweest. Resultaat: 18:3 16.66% overleefd; al deze dieren zijn drager, deze dieren laat ik verder buiten beschouwing, daar zij niet vergelijkbaar zijn met de contrôle. Verder resultaat:

Groep 2	14 : 8	57%	(overleven)	drager	1
„	3	14 : 10	70%	„	5
„	4	15 : 11	73%	„	6
contrôle	13 : 4	31%	„	„	4

Dragerschap gecontroleerd door enten van hartebloed, de geheele milt, een stukje lever, een nier en mesenteriale klieren. Het gelukte niet in tegenstelling met de vaccinatieproeven VI en VII door de enting uit mesenteriale klieren dragers aan te toonen, die anders aan de aandacht waren ontsnapt.

Berekeningen van proeven II, III en IV.

Wij nemen hier de gelegenheid waar, van deze proeven waarvan de contrôles waren:

Proef II	13 : 5	37.5%
„ III	14 : 5	36.5%
„ IV	13 : 4	30.8%

die dus een vrijwel identiek verloop hadden, enkele cijfers te sommeeren.

Vaccinatie per os 3 x:

Proef II gevacc.	8 : 4	contrôle	13 : 5
„ III „	12 : 7	„	14 : 5
tesamen	20 : 11	55.0%;	27 : 10 37.0%

verschil 18.0% \pm 14.60%, quotient 1.2.

Vergelijken wij tenslotte de peroraal 3 maal gevaccineerden met alle gelijkwaardige zonder vaccinatie geïnfecteerde dieren n.l.:

174	:	62	35.7%	dan krijgen wij:
20	:	11	55.0%	
174	:	62	35.7%	

19.3% ± 11.17% quotient 1.7.

De 3x per os gevaccineerden hebben zich dus niet slechter gehouden dan de contrôles; om aan te toonen, dat hier een winst valt te boeken, zijn de cijfers te klein.

Vaccinatie rectaal 1x (Proef III)

24	:	8	33.3%
contr. 14	:	7	50%

verschil 16.6% ± 13.36%

Deze getallen zijn te gering om uit te maken of de vaccinatie hier een ongunstigen invloed heeft gehad.

Vaccinatie subcutaan 2x (Proef IV).

Groep 2	14	:	8
„ 3	14	:	10
„ 4	15	:	11

	43	:	29	67.43%
Contr.	13	:	4	30.76%

36.67% ± 15.76% quotient 2.32.

Liever echter nemen wij deze groepen samen met proef II, vaccinatie 3x, daar hierdoor de contrôle wordt vergroot:

Vaccinatie subcutaan meermalen (Proeven II en IV)

Proef II	18	:	10	55.5%	contr	13	:	5	38%
„ IV2	14	:	8	57%	„	13	:	4	31%
„ IV3	14	:	10	70%					
„ IV4	15	:	11	73.5%					

61 : 39 63.9% ± 6.16% 26 : 9 34.6%
verschil 29.3% ± 11.69% quotient 2.50.

Vergelijken wij de subcutaan meer dan eenmaal gevaccineerden met alle gelijkwaardige zonder vaccinatie per os geïnfecteerde dieren:

174	:	62	35.7%
-----	---	----	-------

dus overeenkomend met de bovengenoemde contrôles:

26 : 9 34.6%

dan krijgen wij:

61 : 39 63.9%

174 : 62 35.7%

28.2% \pm 7.35% quotient 3.8.

Onderwerpen wij nu deze proeven aan den strengsten eisch, n.l. dat wij mede tellen alle dieren, die van de subcutaan geïmmuni-seerden tijdens de vaccinatie zijn gestorven; dit zijn in proef II 2 ex., in proef IV groep 2 3 ex., in proef IV groep 3 1 ex. en in proef IV groep 4 3 ex., dus tesamen 9 ex.

70 : 39 55.7%

174 : 62 35.7%

20.0% \pm 4.98% quotient 4.0.

Het blijkt dus, dat vaccinatie subcutaan meermalen in staat is de resistentie der dieren te verhoogen.

Vaccinatieproef V.

Hierbij werd toegepast vaccinatie per os 3 maal en vaccinatie subcutaan 2 maal. De vaccinatie per os geschiedde als in proef II, de vaccinatie subcutaan als in proef IV. De vaccinatie per os werd deels kort voor de infectie verricht (de 3 dagen onmiddellijk aan de infectie voorafgaande), deels op 3 dagen circa 3 weken voor de infectie. De vaccinatie subcutaan geschiedde 2x met een interval van 2 dagen circa 3 weken voor de infectie. Het vaccin voor de vaccinatie per os was verhit vaccin als in de vorige proeven, het vaccin voor de subcutane immunisatie het geformoliseerde vaccin. De infectie vond plaats met dalende doses zonder vasten; het groote aantal dieren maakte het gewenscht deze infectie over 3 dagen te verdeelen.

Deze infectie vertoont een geheel ander verloop dan die in de eerder beschreven proeven, vandaar dat het wenschelijk is de voorgeschiedenis van de gebruikte cultuur na te gaan. Deze had 10 passages door de muis gemaakt met den volgenden tijdsduur: 9 d., 8 d., 14 d., 7 d., 7 d., 6 d., 6 d., 17 d., 5 d., 22 d. Daarbij was steeds 24 uur oude bouilloncultuur uit de milt aan een volgende muis onmiddellijk ingegeven. De laatste muis, die weliswaar eerst 22 dagen na de infectie is gestorven, had een duidelijk positief sectiebeeld: talrijke haardjes in de lever en een sterk gezwollen milt. De milt van deze muis is op 11-VI-'34 over enkele buisjes

bouillon verdeeld en zonder vooraf bebroeden bewaard in de koelkast. Hiervan is telkens 24 uur voor de infectie een buisje in de broedstof geplaatst. Deze infectie vond eerst plaats op 19-VII, 20-VII en 21-VII. Het verloop van de infectie toont ons, dat wij hier in het bezit zijn geweest van een stam, zooals TOPLEY (1931) die van *S. typhi-murium* beschreef, die wel veel dragers maar slechts een gering aantal dooden gaf.

Voor het verloop van de infectie verwijs ik naar de tabel II.

Bezien wij eerst de groepen 1 en wel de sterfte:

gevacc. subcutaan	30 : 2	6.6%	(gestorven)
.. per os	20 : 10	50%	..
contrôle	18 : 6	33.3%	..

verschil gevacc. subc. met contrôle $26.7\% \pm 12.9\%$ quotient 2.07.
verschil gevacc. per os met contrôle $16.7\% \pm 16.15$ (in ongunstigen zin).

Hoewel hiermede niet bewezen is, dat de vaccinatie per os niet ongunstig heeft gewerkt, wagen wij er ons toch aan hier aan te nemen, dat deze groepen vrijwel aan elkaar gelijk zijn en vergelijkbaar wij ze tesamen met de subcutaan gevaccineerden:

gevacc. subc.	30 : 2	6.6%
overigen	38 : 16	42.1%
		<hr/>
		$35.5\% \pm 10.17\%$ quotient 3.48

Bezien wij nu de groepen 2:

gevacc. per os	24 : 6	25%
contrôle	13 : 2	15%

 $10\% \pm 14.17\%$

Hoewel ook hier de groep gevaccineerden per os iets in het na-deel schijnt, is dit evenmin te bewijzen.

In de groepen 3 valt het op, dat de sterfte onder de subcutaan gevaccineerde dieren pas optreedt op den 28en dag en hier nog ziekte voorkomt op den 39en dag, bij afmaken. Hier is dus tengevolge van de eerste infectie geen sterfte geweest, maar deze eerst ingezet tengevolge van een spontane infectie door indirect contact met de andere groepen. Overigens vertoonen de groepen 3, 4 en 5 dusdanige geringe sterfte, dat deze hier buiten bespreking blijve.

De groote waarde van deze proef schuilt echter hierin, dat wij een groot aantal dragers hebben kunnen waarnemen (vastgesteld bij afmaken door enten van enkele oesen hartebloed, van de geheele

milt, een stukje lever en een nier¹⁾). Het blijkt, dat deze latente infectie zelfs door de subcutane vaccinatie niet is beïnvloed kunnen worden; immers:

Groep 1 gevacc. per os	20 : 14	70%
contrôle	18 : 8	44%
		20% ± 18.93%
		quotient 1.4.

gevacc. subc.	30 : 18	60%
contrôle	18 : 8	44%
		26% ± 14.18%

Evenmin blijkt ook hier een aantoonbaar ongunstigen invloed van de vaccinatie per os; temeer is dit niet aan te nemen, daar in groep 2 juist de per os gevaccineerde groep iets gunstiger is, zij het niet significant:

24 : 8	33.3%
13 : 6	46.6%

13.3% ± 15.2%

In groep 3 zijn door de spontane herinfectie de groepen niet volkomen vergelijkbaar; wij laten deze buiten beschouwing.

Bij groep 5 controle valt op, dat de latente infectie hier ongeveer even groot is, als bij de tegelijk geïnfecteerde groepen 2.

Gr. 5 contr.	11 : 5	45.4%
Gr. 2	24 : 8	33.3%
	13 : 6	46.6%

37 : 14 37.8%

7.6% ± 16.7%

Een andere vraag is, of de infectiekans bij de infectie met cultuur op 19-VII en op 21-VII een even groote is geweest, dan wel een verschillende. Dit is van belang met het oog op de later te beschrijven kunstmatige herinfectieproef.

19-VII groep 1	20 : 14
	30 : 18
	18 : 8

68 : 40 58.8% ± 5.8%

¹⁾ Deze proef werd eerder verricht dan proef IV.

21-VII groep 2	24:8
	13:6
„ 5d	11:5

	48:19	39.5% ± 7.05%
verschil		19.3% ± 9.41% quotient 2.05.

Er moet dus worden aangenomen, dat er eenige waarschijnlijkheid bestaat, dat deze infectiemogelijkheden verschilden. Gemeend wordt, gezien het feit, dat groep 5 geheel gelijke percentages geïnfecteerden oplevert als de groepen 2 (gestorven + dragers), voor de niet afgemaakte groepen te moeten concluderen, dat deze de volgende gemiddelde percentages dragers bevatten:

Voor de groepen geïnfecteerd op	19-VII	58.8% ± 5.88%
„ „ „	21-VII	39.5% ± 7.05%

Kunstmatige herinfectie van enkele groepen uit proef V.

De groepen 4 en 5b (gevaccineerd per os) werden zonder vasten aan een herinfectie per os met 0.1 ccm. bouilloncultuur tesamen met nieuwe controles blootgesteld, respectievelijk 33 en 31 dagen na de eerste infectie. Dit geschiedde om uit te maken, hoe deze groepen zich zouden gedragen ten opzichte van een zwaardere herinfectie, zooals zich deze enkele malen spontaan in de proeven had voorgedaan.

Ter observatie kwamen, door eenig verlies tengevolge van het ingeven enz.:

Groep 4

a gevacc. per os	14:5	35.7%	(overleven)	drager	5
c „ subc.	21:3	14.7%		„	2
d Controle (oud)	26:3	11.5%		„	2

Groep 5

b gevacc. per os	13:0				
Nieuwe controle	15:1	7%		„	0

Terwijl de groep 5b van de controlegroep niet verschilt, overleven in groep 4 in alle groepen enkele dieren. Het valt hierbij op, dat de subcutaan gevaccineerde groep 4c hier niet meer in het voordeel is. Is het verschil van de groep per os en de oude controle significant?

15:5	35.7%
26:3	11.5%

24.2% ± 13.26% quotient 1.7.

Dit is dus niet aan te toonen.

Evenmin is er een significant verschil tusschen de groepen 4, waarin een relatief zware eerste infectie heeft plaats gehad en de beide andere.

14:5
21:3
26:3

61:11 18.03% ± 4.92%

$$\begin{array}{r}
 13:0 \\
 15:1 \\
 \hline
 28:1 \qquad 3.57\% \\
 18.03\% - 3.57\% = 14.46\% \pm 7.79\% \text{ quotient } 1.99.
 \end{array}$$

Hoewel dus binnen deze, voor het doel te kleine grenzen dit niet is te bewijzen, wettigen de verkregen cijfers toch de gissing, dat er mogelijk verband zou bestaan tusschen de hevigheid van de eerste infectie en den weerstand der dieren bij de tweede. Bij de groepen, die aan een mogelijkheid van latente infectie zijn blootgesteld geweest van $58.8\% \pm 5.83\%$, overleven na deze tweede zware infectie 11 dieren $18.03\% \pm 4.92\%$, terwijl van de dieren, die slechts aan een infectiemogelijkheid van $39.5\% \pm 7.05\%$ zijn blootgesteld geweest, geen enkele deze tweede infectie overleefd heeft.

Dit kan niet berusten op een door de eerste infectie veroorzaakte selectie van de sterkste dieren, immers tengevolge van deze infectie is in beide groepen elk slechts 1 dier gestorven. Het schijnt dus, dat het doorgemaakt hebben eener infectie, eventueel een nog aanwezige latente infectie, hier beschutting heeft verleend. Het meerendeel der dieren is bevonden drager te zijn; bij de 2, waar dit niet is aangetoond, bestaat de mogelijkheid nog, dat ze enkele bacillen bij zich droegen in een niet onderzocht weefsel, dan wel dat zij drager waren geweest en zich sinds dien hadden gereinigd.

Ook in vaccinatieproef I is bij het meerendeel der, 60 dagen de infectie overlevende, dieren dragerschap vastgesteld.

Vaccinatieproef VI.

De opzet van deze proef was, in afwijking van de eerder genomen experimenten, te onderzoeken in hoeverre de resultaten bij subcutane vaccinatie beter of slechter zouden zijn, als in plaats van oude bouilloncultuur voor de vaccinbereiding versche agarcultuur werd gebruikt.

Vergeleken werden:

a. vaccin bereid door afschudden van agarcultuur van *S. enteritidis dublin*, onmiddellijk van te voren gepasseerd door muis 353 (gestorven 6-V-35), met physiologische keukenzoutoplossing waaraan toegevoegd formaline 1 : 500 en 24 uur plaatsen in de broedstoof.

b. vaccin bereid met de *S. typhi* Vi-stam Ty 2 van FELIX en PITT op dezelfde wijze bereid als het eerste vaccin echter zonder muizenpassage.

Serum van een konijn, dat enkele intraveneuze injecties met dit vaccin had ontvangen, gaf korrelige agglutinatie met de *S. typhi* Vi-stam Watson (levend antigeen), welke geen korrelige agglutinatie gaf met *S. gallinarum* en *S. enteritidis* serum, waardoor de aanwezigheid van Vi-antigeen in het vaccin was aangetoond. Dr. FELIX was zoo vriendelijk beide stammen aan mij te verstrekken.

c. vaccin, bereid van dezelfde cultuur als het eerste vaccin, afgeschud met physiologische keukenzoutoplossing en verhit 10 minuten bij 100° C.

De vaccins werden verdund tot een dikte zoodanig, dat een blauwe potloodstreep op wit papier door een ermede gevulde reageerbuis juist nog was waar te nemen. Alle drie vaccins waren bereid op 8-V-35, zij werden vóór de toepassing ruim een maand (tot 14-VI) bewaard in de koelkast.

Subcutane vaccinatie driemaal, intervallen van drie dagen, infectie per os 20 dagen na de laatste vaccinatie.

Deze termijnen kwamen overeen met de typhus Vi-proeven van FELIX en PITT, deze infecteerden echter intraperitoneaal. Doses vaccin eerste maal 0.05 ccm., tweede maal 0.1 ccm., derde maal 0.2 ccm.

Deze enting werd zonder shockverschijnselen verdragen. Dit heeft mogelijk eerder aan de dosering dan aan het vaccin gelegen. Immers korten tijd later werd het restant van het typhus-vaccin gebruikt om 20 halfvolwassen caviae tijdens een spontane uitbraak van *S. enteritidis* var. *dublin* infectie driemaal subcutaan te vaccineeren. Deze ontvingen de eerste maal 0.1 ccm., 5 dagen daarna 0.2 ccm. en wederom 3 dagen later 0.4 ccm. vaccin. Bij deze laatste injectie heeft meer dan de helft van de caviae voorbijgaande shockverschijnselen vertoond.

Het was de bedoeling elk van de groepen van deze muizenproef uit ruim 50 exemplaren te doen bestaan, ieder verdeeld over 3 potten; 2 potten moesten echter wegens groote onspecifieke sterfte tengevolge van onderling vechten buiten beschouwing worden gelaten.

Infectie per os 20 dagen na de laatste vaccinatie met 0.01 ccm. 24 uur oude bouilloncultuur, observatieduur 20 à 24 dagen (doordat alle proefdieren niet op 1 dag konden worden afgemaakt). Verloop zie tabel I.

Ter observatie kwamen:

<i>S. ent. dublin</i> form. vacc.	50 : 12	24.00% (sterven).
<i>S. typhi</i> „ „	31 : 11	35.48%
<i>S. ent. dublin</i> verhit 100° C.		
vacc.	29 : 12	41.37%
Contrôle	53 : 32	60.37%

De infectie is dus vergelijkbaar met die in de proeven I, II, III en IV.

Dragers: *S. ent. dublin* form. vacc. 23, *S. typhi* form. vacc. 13, *S. ent. dublin* verhit 100° C. vacc. 7, contrôle 7. Dragerschap gecontroleerd door enten van het hart, de geheele milt, een stukje lever, beide nieren en bij de beide testikels in bouillon. Het enten van het geheele hart geschiedde, daar het hartebloed zelf noodig was voor agglutinatie. Mogelijk hierdoor, dat in alle groepen enkele dieren ba-

cillen in het hart (spier?) bleken te herbergen. (*S. ent. dublin* form. vacc. 2, *S. typhi* form. vacc. 3, *S. ent. dublin* verhit 100° C. vacc. 2, contrôle 1).

Berekeningen:

	<i>S. ent. var. dublin</i>	form. vacc.:
Geënt	50 : 12	24.00% (sterven)
Contrôle	53 : 32	60.37%

36.37% ± 9.75% quotient 3.7.

	<i>S. typhi</i>	form. vacc.:
Geënt	31 : 11	35.48%
Contrôle	53 : 32	60.37%

24.89% ± 11.30% quotient 2.2.

Vergeleken met het totaal der contrôlegroepen uit proeven I, II, III, IV en VI:

174 : 112 64.3%

Vershil 28.82% ± 8.00% quotient 3.6.

	<i>S. ent. dublin</i>	verhit 100° C. vacc.:
Geënt	29 : 12	41.37%
Contrôle	53 : 32	60.37%

19.00% ± 11.50% quotient 1.6.

Vergeleken met het totaal der contrôlegroepen:

Geënt	29 : 12	41.37%
Contrôle	174 : 112	64.30%

22.39% ± 12.00% quotient 1.9.

Heeft dus de vaccinatie met de beide formolvaccins geleid tot een signifiek resultaat, de vaccinatie met het bij 100° C. verhitte vaccin, dat door LANGE en KAUFFMANN zoowel als door SCHÜTZE met succes toegepast, is veel geringer van uitwerking en zelfs vergeleken met 174 contrôles niet signifiek te stellen.

Aangezien dit de laatste proef met subcutane vaccinatie is, zijn hier de resultaten van de proeven I, II, IV en VI met vergelijkbare contrôles gegroeped.

Subcutane enting :

a. Bouillonvaccin *S. enteritidis* var. *dublin*.

1. verhit vaccin ½ uur 70° C.

3 injecties (proef II) 18 : 10 55.5%

2 injecties (proef IV) 15 : 11 73.5%

 33 : 21 63.63%

2. Formolvaccin 1 : 500

2 injecties (proef IV2) 14 : 8 57%

2 injecties (proef IV3) 14 : 10 70%

 28 : 18 64.28%

Totaal 61 : 39 63.9%

b. Agarvaccin :

1. Formolvaccin *S. ent. dublin*

3 injecties (proef VI) 50 : 38 76.0%

2. Formolvaccin *S. typhi*

3 injecties (proef VI) 31 : 20 64.5%

3. Verhit 100° C. vaccin *S. ent. dublin*

3 injecties (proef VI) 29 : 12 58.6%

Algemeene contrôle 174 : 62 35.7%

Wij zien dus, dat de vaccins bereid door verhitting bij 70° C. dan wel door behandeling met formaline 1 : 500 resultaten opleveren van ongeveer 64%, alleen het formaline agarvaccin van den eigen stam heeft een resultaat van 76%. Het Vi-antigeen van *S. typhi* blijkt hier geen bijzonderen invloed gehad te hebben.

Vergelijken wij nu de 76% van het agarformolvaccin met de andere groepen :

bouillonvaccins 61 : 38

Typhusformolvacc. 31 : 20

 92 : 58 63.00%

formalineagarvaccin

S. ent. dublin 50 : 38 76.00%

 13.00% ± 8.12% quotient 1.6

Om uit te maken in hoeverre dit vaccin significant beter is geweest, zijn de cijfers dus nog veel te klein.

Vergelijken wij nu de groepen van proef VI wat betreft het aantal overlevende dieren, waarbij geen dragerschap werd aangetoond :

<i>S. ent. dublin</i> form. vacc.	50 : 14	28.00%
<i>S. typhi</i> form. vacc.	31 : 7	22.9 %
<i>S. ent. dublin</i> verh. 100° C.	29 : 8	27.5 %
Contrôle	53 : 14	26.4 %
Gemiddeld	163 : 43	26.3 %

Hierin is dus een regelmaat, die zich niet door de vaccinatie heeft laten beïnvloeden. Bijeengeteld blijkt bij de proeven II, III en IV, die wat afmaken betreft vergelijkbaar zijn, al is bij II en III niet uit de mesenteriale klieren geënt, een gemiddelde van 145 : 34 23.4%, waar- bij de bacil niet is aangetoond. Alles te samen wordt dit: 308 : 77 25.00% ± 2.46%.

Hieruit valt dus te concludeeren, dat meer in het bijzonder het ver- loop van de ziekte en niet zoozeer het al dan niet tot stand komen van de infectie wordt beïnvloed, evenals dit bij proef V is gebleken.

Vaccinatieproef VII.

De opzet van deze proef was, te probeeren of met het geformoli- seerde agarvaccin uit vaccinatieproef VI, per os toegediend, misschien beter resultaat zou zijn te boeken, dan met het bouillonvaccin, zooals dat in de vaccinatieproeven I tot en met V en VIII tot en met XIV, die alle eerder zijn genomen dan deze proef, is gebruikt. Immers dat vaccin gaf (toevallig?) de hoogste mate van beschutting bij subcu- tane applicatie.

De vaccinatie per os geschiedde op drie achtereenvolgende dagen. Er werd telkens op de nuchteren maag verstrekt 0.25 ccm. vaccin + 0.05 ccm. 20%-oplossing van *Fel tauri*. In afwijking van de vorige proeven werd dit tegelijkertijd gemengd ingegeven. Hierdoor werd voorkomen, dat de dieren kort op elkaar tweemaal moesten worden genarcotiseerd.

Infectie zonder vasten vooraf vond plaats 20 dagen na de laatste vaccinatie met 0.01 ccm. bouilloncultuur.

Deze infectie vertoonde evenals die in vaccinatieproef V een afwijkend ver- loop, dat zelfs, zooals nader zal worden uiteengezet, groote overeenkomst ver- toont met de groep 1 van vaccinatieproef V. De eenige overeenkomst in de infecteerende cultuur bestond hierin, dat, evenals in proef V, door ondanks tijdig infecteeren van enkele proefmuizen), op den dag voor de infectie ontbre- ken van de milt van een pas gestorven muis, moest worden gebruikt een milt, die reeds 5 dagen in bouillon in de koelkast was bewaard. Contrôle op Gassner- platen toonde aan, dat de gebruikte bouilloncultuur werkelijk de bacillen in rein- cultuur bevatte. In tegenstelling met vaccinatieproef V was de milt afkomstig van een muis, die 8 dagen na de infectie per os was gestorven. De cultuur had in totaal 5 passages door muizen gemaakt met den volgenden tijdsduur: 10 dagen.

13 dg., 10 dg., 8 dg., 8 dg. Het vermoeden bestaat dat het bewaren bij de veranderde virulentie van invloed kan zijn geweest.

Voor het verloop van de infectie verwijs ik naar de tabel I. De overblijvende dieren werden na 21 of 22 dagen afgemaakt.

Resultaat:

Gevaccineerd per os 52 : 15 28.8% (gestorven)

Contrôle 46 : 20 43.4%

14.6% ± 9.7% quotient 1.5

Van de overlevenden waren bij de gevaccineerden 12 dragers, bij de controles 9.

Gestorven + dragers: Gevaccineerden 52 : 27 51.9%

Contrôle 46 : 29 63.0%

11.1%

± 10.0%

Gemiddeld

98 : 56 57.1%

Het dragerschap is op dezelfde wijze vastgesteld als in de vaccinatiefproef VI.

Vergelijken wij hier met vaccinatiefproef V, groep 1, dan bedraagt daar het aantal gestorvenen + dragers:

20 : 14

30 : 18

18 : 8

68 : 40 58.8%

Beschouwen wij van deze proef de per os geënten, + de controles, dan blijkt, dat de sterfte daarbij bedroeg:

38 : 16 42.1%.

Veronderstellen we een oogenblik, dat de vaccinatie in proef VII, in tegenstelling met die in proef V, groep 1 (slechter dan de controles) wel resultaat heeft gehad en tellen wij de zoo juist genoemde groepen uit proef V bij onze controle:

Contrôle Proef VII 46 : 20 43.4%

Groepen uit proef V, groep 1 38 : 16 42.1%

84 : 36 42.8%

Nemen wij nu deze groep als controle, dan nog blijkt het resultaat der vaccinatie per os niet signifikant te stellen:

Gevaccineerd per os 52 : 15 28.8%

Contrôle 84 : 36 42.8%

14.0% ± 8.44%

Quotient 1,6

Al blijft het te betreuren, dat deze proef niet zoodanig is verlopen, dat de cijfers met de contrôle van proeven I tot en met IV en proef VI zijn te vergelijken, toch blijkt evenzeer uit deze proef het geringe zoo niet nihile resultaat van de vaccinatie per os. Immers in vaccinatieproef V beschutte subcutane vaccinatie tegen een zelfde infectie met een verschil van $35.5\% \pm 10.17\%$, waarbij in totaal van de gevaccineerden slechts $6,6\%$ (30 : 2) stierf.

Geven wij hier de totale resultaten van de vaccinatie per os, dan blijkt in:

Vacc. proef I een verlies van	15,7%	\pm	9,41%
„ „ II + III een winst van	18,0%	\pm	14,60%
	of 19,3%	\pm	11,17%
„ „ V ¹ een verlies van	16,7%	\pm	16,15%
„ „ V ² een verlies van	10,0%	\pm	14,17%
„ „ VII een winst van	14,0%	\pm	8,44%

Het schijnbare resultaat is dus gering en zeer wisselend, geen enkele van de cijfers is echter grooter dan tweemaal de standaarddeviatie.

De feiten eenerzijds, dat bij deze infecties door subcutane vaccinatie met dezelfde vaccins steeds significante resultaten zijn verkregen, en anderzijds, dat ook bij andere diersoorten (zie hfdst. VIII en IX) geen resultaat met vaccinatie per os is verkregen, versterken in de overtuiging, dat bij de vaccinatie per os geen enkelen invloed ten goede is waar te nemen. Een invloed ten kwade, hoe voor de hand liggend ook, in enkele van deze proeven, is door de getallen evenmin bewezen kunnen worden.

Bezien wij nog enkele gegevens betreffende het dragerschap, zooals dit bij het uitvoerigste onderzoek (vaccinatieproeven IV, VI en VII) werd onderzocht, waarbij tevens de mesenteriale klieren en in de beide laatste proeven bij de mannelijke dieren de testes werden betrokken. In de eerdere proeven was dit niet verricht, omdat gemeend werd, dat het niet noodzakelijk was. Immers TOPLEY onderzocht steeds op dragerschap alleen de milt. BAHR (1927) toonde bij een onderzoek van 297 afgemaakte ratten aan, dat de bacteriën bij deze dieren zich het langst in de milt handhaven.

In de vaccinatieproef IV was bij onderzoek van 33 afgemaakte dieren, waarvan 15 als dragers werden gediagnostiseerd, 8 maal uit de mesenteriale klieren gekweekt, waarbij geen enkele maal niet tevens uit een der andere organen *Salmonella* geïsoleerd werd. In vaccinatieproef VI daarentegen werd bij onderzoek van 96 afgemaakte dieren waaronder 42 als drager gediagnostiseerd (waarvan het hart niet positief was), 3 maal alleen uit de mesenteriale klieren *Salmonella* geïsoleerd. In vaccinatieproef VII werd bij onderzoek van 63 afgemaakte dieren, waaronder 21 als drager werden gediagnostiseerd (waarvan het hart niet

positief was), geen enkele maal alleen in de mesenteriale klieren *Salmonella* vastgesteld. In totaal werd 38 maal bij dragers (waarvan het hart niet positief was) de infectie der mesenteriale klieren vastgesteld, 20 maal gepaard gaande met infectie van de milt, 21 maal van de lever, 17 maal van de nier, 8 maal van lever, milt of nier (proef IV, al deze organen geënt in 1 buisje), 12 maal van de testes (onderzocht 86 exemplaren).

In de beide laatste proeven werden onderzocht 86 mannelijke dieren (50 uit proef VI, 36 uit proef VII); de testes met adnexa werden in bouillon bebroed. 39 van deze dieren bleken drager te zijn (waarvan het hart niet positief was); bij 17 van deze, 43,7 %, bleken de testes geïnfecteerd. Geen enkele maal werd infectie van de testes waargenomen zonder infectie van andere organen; 14 maal was tevens de milt geïnfecteerd, 14 maal de lever, 13 maal de nieren, 9 maal de mesenteriale klieren.

Dit laatste onderzoek geschiedde, daar het in het algemeen bekend is, dat *Salmonella* zich gaarne in het geslachtsapparaat vestigt. BÄHR toonde bij ratten dragerschap in de testes aan. Voor zoover mij bekend is het voor muizen niet eerder onderzocht. Wel is mij bekend, dat KEELER aanraadt mannelijke muizen hersteld van *Salmonella*-infectie van de fokkerij uit te sluiten. Hieronder namelijk zouden zich dieren bevinden, die tengevolge van doorstane diarrhee, lidtekenweefsel in het scrotum zouden bezitten en daardoor geen descendens testiculorum meer hebben. Deze hypothese klinkt onwaarschijnlijk, daar noch uit persoonlijke ervaring, noch uit de literatuur (o.a. de uitvoerige klinische beschrijving van SEIFFERT, JAHNEKE en ARNOLD) blijkt, dat diarrhee frequent bij deze ziekte van muizen zou voorkomen. Wel is mij als muizenfokker bekend, dat impotentia generandi bij muizen (b.v. bij adipositis) veelal gepaard gaat met een niet meer voorhanden zijn van de testes in het scrotum. Daarom vermoedde ik hier een aanwijzing voor mogelijke laesies der testes tengevolge van de doorgestane infectie; reden om ook bij muizen het voorkomen van *Salmonella* in de testes te onderzoeken.

Bij het afmaken in de vaccinatieproeven VI en VII werd het hartebloed gebruikt voor een bloeddruppelagglutinatie met „blauw” pullorumantigeen (bereiding zie hfdst. IX), waarmede alleen 0-agglutininen zijn aan te toonen. Hierbij werd agglutinatie waargenomen bij een totaal van 21 dieren, verdeeld als volgt:

Vaccinatieproef VI.

Form. vaccin *S. enteritidis* afgemaakt 38 : 6 (+ agglut.):

1 lever-milt-nier-mesent. klier, 1 lever-milt-nier-testes, 1 lever-milt-testes-mesent. klier, 1 lever-milt, 1 lever-mesent. klier, 1 mesent. klier.

Form. vacc. *S. typhi* afgemaakt 20 : 3 (+ agglut.):

1 lever-milt-testes, 1 nier-testes-mesent. klier, 1 lever-nier-mesent. klier.

Verhit vaccin 100° C. afgemaakt 17 : 5 (+ agglut.):

1 milt, 1 milt-nier-testes-mesenteriale klier, 1 milt-mesent. klier, 1 milt-lever-nier-mesent. klier.

Vaccinatieproef VII.

Gevacc. per os afgemaakt 37 : 5 (+ agglut.):

1 lever-milt-nier-mesent. klier, 1 lever-milt-nier-testes, 1 milt-nier, 1 milt, 1 cultuur negatief.

Contrôles afgemaakt 26 : 2 (+ agglut.):

1 lever-milt, 1 cultuur negatief.

Hieruit blijkt, dat slechts weinige der dragers een zoodanige titer van O-agglutinenen bereiken, dat deze met de bloeddruppelmethode is aan te toonen. Voor een nauwkeuriger onderzoek, zooals b.v. van LANGE en KAUFFMANN, ontbrak bij het snelle verwerken van een zoo uitgebreid materiaal de tijd.

Conclusies:

1. Muizen zijn gevoelig voor infectie per os met geringe doses *Salmonella enteritidis* var. *dublin* cultuur.

2. De hevigheid van de infectie wijzigt zich naar de virulentie van de toegediende cultuur; er is een zekere natuurlijke groepsresistentie, die groot is bij een eenmalige infectie met geringe cultuurdosering maar bij een spontaan voortwoekerende infectie onder een groep muizen zeer gering is.

3. Bij een lichten graad van infectie treedt een aanmerkelijk aantal dragers op. Dragerschap werd behalve in de milt, ook vastgesteld in lever, nier, mesenteriale klieren, en testes. Enkele van de dragers bezitten O-agglutinenen, tot zoodanige titer, dat deze door bloeddruppelagglutinatie zijn aan te toonen.

4. In de mortaliteit bij een bepaalden graad van infectie met geringe doses per os, valt een zoodanige regelmaat te bespeuren, dat deze infectie zich leent tot het toetsen van eventueel vermeerderde resistentie na een vaccinatie.

5. Vaccinatie per os dan wel rectaal of subcutaan éénmaal heeft geen nuttig effect opgeleverd.

6. Vaccinatie per os driemaal met korte intervallen geeft evenmin verhoogde resistentie.

7. Meermalige subcutane vaccinatie (tweemaal en driemaal) geeft geregeld een verhoogde groepsresistentie, mits hiervoor gebruikt wordt een niet te hoog verhitte ($\frac{1}{2}$ uur bij 70° C.) of met formaline (1 : 500) gedooide cultuur. Bij 100° C. gedooide cultuur blijkt minder goede resultaten op te leveren, die met de verkregen cijfers niet significant gesteld konden worden.

8. Zoowel oude bouilloncultuur als afgeschudde agarcultuur leveren geschikt uitgangsmateriaal voor de vaccinbereiding.

9. Zoowel *S. enteritidis* var. *dublin* als *S. typhi* (Vi-stam) leenden zich voor de bereiding van vaccin. Het met een versch gewonnen virulente *S. enteritidis* var. *dublin*-stam gemaakte agar-formol-vaccin gaf een (hoewel niet significant) gunstiger resultaat dan *S. enteritidis*

var. *dublin* bouillon-vaccin en *S. typhi* agar-vaccin, die onderling gelijke resultaten opleverden.

10. De meer of minder toxische werking van het vaccin bij subcutane injectie, was niet van invloed op de verkregen resistentie. De gunstigste resultaten werden zelfs verkregen bij de minst toxische enting (n.l. met agarvacin).

11. De verhoogde resistentie na subcutane vaccinatie, demonstreert zich in een gunstiger verloop van de ziekte, het totaalpercentage geïnfecteerden (dooden + dragers) is er niet door beïnvloed; op langer termijn is van de subcutane vaccinatie geen resultaat meer aan te toonen, zooals na herinfectie van gevaccineerde groepen blijkt.

12. Er is een aanwijzing, dat latente infectie wel eenigen vermeerderden weerstand tegen een tweede infectie verleent, deels zelfs tegen een groote infectiedosis. Mogelijk zal in een enzoötie de combinatie van vaccinatie en subminimale infectie een voldoende immuniteit geven.

LITERATUUR BEHOORENDE BIJ DE HOOFDSTUKKEN V, VI EN VII.

- AMOSS, H. L. J. exp. Med. 36, 25, (1932). — AMOSS, H. L. en P. P. HASELBAUER. J. of exp. Med. 36, 107, (1922). — BAHR, L. Z. Inf. kr. h. Haustierte 27, 237, (1925), 30, 273, (1927). Dtsch tierärztl. Wschr. 38, 144, 165, (1930). Acta path. et. microbiol. scand. suppl. 23, 281, (1934). — BAINBRIDGE, F. A. J. of Path. and Bact. 13, 442, (1909) — BORCILA, J. Dtsch. tierärztl. Wschr. 43, 37, (1935). — DANYSZ, J. Ann. Inst. Pasteur, 14, 193, (1900). — EGUCHI, Ch. Z. f. Hyg. 105, 91, (1926). — ELBERT, B I. Zschr. Imm. f. 65, 452, (1930). — ELKELES, G en R. STANDFUSZ, Handb. path. Micro-org. W. Kolle u. A. v. Wasserman, 3 II, 1931). — ELTON, C. S. J. of Hyg. 31, 435, (1931). — FLEXNER, S. J. exp. Med. 36, 9, (1922). — FRÄNKEL, E. en E. SCHULTZ. Z. f. Imm. forschung 53, 478, (1927). — FRIESLEBEN, M. Dtsch. med. Wschr. 53, 1589, (1927). — GREENWOOD, M. en W. W. C. TOPLEY. J. of Hyg. 24, 45, (1925); 31, 257, 484, (1931). — HEDSTRÖM, A. Skand. vet. Tidskr. 24, 227, (1934). — IBRAHIM, H. M. en H. SCHÜTZ. British. J. Exp. Path. 9, 353, (1928). — JENSEN, K. A. Z. f. Imm. forschung 63, 298, (1928). — KAUFFMANN, F. Z. f. Hyg. 111, 233, (1930); Cbl. f. ges. Hyg. 25, 273, (1931). — KAUFFMANN, F. en C. MITSUI. Z. f. Hyg. 111, 749, (1930). — KEELER, C. E. The Laboratory Mouse, Cambridge (Mass), 1931. — KLIGLER, I. J. en L. OLITSKI. Z. f. Hyg. 111, 711, (1930). — KNORR, M. Cbl. Bakt. I. Orig. 99, 376, (1926). — KROGH LUND, G. Z. f. Imm. forschung, 59, 406, (1928). — KRUMWIEDE, C., E. VALENTINE en L. A. KOHN. J. of med. Res. 34, 449, (1919). — KUMAGAI, K. en A. MOTOMURA, C. R. Soc. Biol. 100, 493, (1929). — KUROKAWA, A. Z. f. Imm. for-

schung, 46, 464, (1926). — LANGE, B. Z. f. Hyg. 102, 226, (1924). — LANGE, B. en K. H. KESCHISCHIAN, Z. f. Hyg. 103, 568, (1924). — LANGE, B. en W. NOWOSELSKY, Z. f. Hyg. 104, 648, (1925). — LANGE, B. en M. YOSHIOKA, Z. f. Hyg. 101, 451, (1924). — LANGE, B. en F. KAUFFMANN, Z. f. Hyg. 114, 721, 115, 110, (1933). — LYNCH, C. J. J. Exp. Med., 36, 15, (1922). — LINDEN, H. Cbl. Bakt. I. Orig. 117, 184, (1930). — LOEFFLER, F. Cbl. Bakt. 11, 129, 12, 1, (1892). — MIESSNER, Cbl. Bakt. I. Orig. Beiheft. 97, 42, (1925). — NEUFELD, F. Z. f. Hyg. 101, 467, (1924). — OKAMOTO, Kl. Wschr. 5 II, 795, (1926). — ORNSTEIN, O. Z. f. Hyg. 96, 48, (1922). — ØRSKOV, J., K. A. JENSEN en K. KOBAYASKI, Z. f. Imm. forschung, 55, 34, (1928). — ØRSKOV, J. en O. MOLTKE, Z. f. Imm. forschung, 59, 136, (1928). — ØRSKOV, J. en A. SCHMIDT, Z. f. Imm. forschung, 55, 69, (1928). — PFEILLER, W. en E. ROEPKE, Berl. tierärztl. Wschr. 1916, 493. — PRITCHETT, I. W. J. of exp. Med. 39, 265, (1924), 41, 195, (1925), 43, 161, (1926), 46, 537, (1927). — RAISTICK, H. en W. W. C. TOPLEY, Brit. J. exp. Path. 15, 113, (1934). — REITER, H. en A. KUROKTAWA, Kl. Wschr. 5 II, 745, (1926). — SCHÜTZE, British J. exper. Path. 11, 34, (1930). — SEIFFERT, G., A. JAHNEKE en A. ARNOLD, Cbl. Bakt. I. Orig. 109, 193, (1928). — SEIFRIED, O. Anat. u. Path. Lab. tiere R. Jaffé, 1932, 588. — SPRINGLIT, E. Z. f. Imm. forschung 52, 25, (1927). — STRONG, L. C. en A. R. A. HICKS, C. R. Soc. Biol. 103, 123, (1931). — TOPLEY, W. W. C. The Lancet, 1919 II, 1, J. of Hyg. 19, (1920), 20, 103, (1921), The Lancet 1926 I, 477, 531, 645, 1929 I, 5522, British. J. Exp. Path. 14, 408, (1933). — TOPLEY, W. W. C. en J. AYRTON, J. of Hyg. 23, 198, (1924). — TOPLEY, W. W. C., J. AYRTON en E. R. LEWIS, J. of Hyg. 23, 223, (1924). — TOPLEY, W. W. C., M. GREENWOOD en J. WILSON, J. Path. and Bact. 34, 163, 523, (1931). — TOPLEY, W. W. C., M. GREENWOOD, J. WILSON en E. M. NEWBOLD, J. of Hyg. 27, 396, (1928). — TOPLEY, W. W. C. en J. WILSON, J. of Hyg. 24, 295, (1925). — TOPLEY, W. W. C., J. WILSON en E. R. LEWIS, J. of Hyg. 23, 421, (1925), 24, 17, (1925). — WEBSTER, L. T. J. exp. Med. 36, 71, 97, (1922), 37, 21, 33, 231, 269, 781, (1923), 38, 33, 45, (1923), 39, 129, 879, (1924), 40, 1, (1925). — WEBSTER, L. T. en C. BURN, J. Exp. Med. 46, 885, 872, 887, (1927). — WEBSTER, L. T. en I. W. PRITCHETT, J. exp. Med. 40, 397, (1924), 46, 847, (1927).

HOOFDSTUK VIII.

SALMONELLA INFECTIE EN SALMONELLA VACCINATIE BIJ CANIS FAMILIARIS EN BIJ FELIS OCREATA DOMESTICA.

Literatuur en eigen waarneming.

„Die natürliche Vertilger der Mäuse, die Katzen, sind unempfindlich für die Bacillen. Ich habe 5 Katzen mit zahlreichen der Krankheit erlegenen Haus- und Feldmäuse gefüttert, kein einziger ist erkrankt.

E. LOEFFLER (1892).

a. Inleiding.

In de literatuur treft men gegevens aan betreffende *Salmonella*-infectie bij verschillende door den mensch gehouden *Carnivora*; niet alleen van hond en huiskat, waaraan het meerendeel van dit hoofdstuk gewijd zal zijn, maar vooral van de als pelsproducenten gehouden vos, *Vulpes vulpes*, (infectie met *S. enteritidis* var. *dublin*, *S. enteritidis* var. *danzsz*, *S. typhi-murium*, *S. cholerae-suis* var. *kunzen-dorf*) en de nerz *Lutreola* (*S. typhi-murium* infectie)¹⁾. Ook bij de eveneens vleeschetende, doch tot de *Marsupialia* behorende opossum *Didelphis* is *Salmonella* infectie (*S. typhi-murium*) in gevangenschap beschreven²⁾.

De directe aanleiding te pogen vleescheters in het onderzoek te betrekken, was het feit, dat in de laatste jaren aan het Instituut voor Parasitaire- en Infectieziekten verscheidene cadavers van jonge vossen worden ingezonden welke gestorven zijn tengevolge van een spontane infectie met *S. enteritidis* var. *dublin* (zie DE BLIECK en JANSEN (1935)). Daar vossen niet ter beschikking waren, was de bedoeling na te gaan of jonge individuen van hond en huiskat voldoende gevoelig waren voor kunstmatige infectie om voor vaccinatieproeven te kunnen dienst doen. Gunstige resultaten in de praktijk met subcutane vaccinatie bij vossen waren bekend van GREEN (1925), RIEDMÜL-

1) MEYN Dtsch. tierärztl. Wschr. 1930, 565; GOLASZEWSKI (ref.) Rec. de Méd. Vétér. 1934, 81.

2) SPREHN en ALBRECHT. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1931, 499.

LER en SAXER (1930), VERGE (1931) en DE BLIECK en JANSEN (1935). Verder verrichtten RIEDMÜLLER en SAXER een kleine proef met 4 eenmaal subcutaan gevaccineerde vossen en 1 contrôlevos, waarbij na perorale infectie met cultuur de gevaccineerde vossen in het leven bleven, terwijl de contrôlevos na 10 dagen stierf; ook een vos, die gevoederd was met vleesch van een besmet konijn, stierf na 11 dagen.

Meer in het bijzonder werd dan ook de aandacht gewijd aan de vraag, of de perorale vaccinatie bij deze dieren even weinig hoopvolle resultaten zou opleveren als bij de muis werden geconstateerd.

Over spontane infecties bij den hond blijkt uit de literatuur het volgende:

KLIMENKO (1906) isoleerde uit lever en mesenterium (vermoedelijk wordt bedoeld mesenteriale klieren) van een gezonden hond van 4 maanden een „Paratyphus B" bacil, „auf dem Grund von Paralelzüchtung mit *B. enteritidis* Gärtner und *B. paratyphus-B* auf verschiedenen Nährboden, so wie von Tierversuchen und Agglutinationsproben”.

RUEDIGER (1911) isoleerde uit hart en organen van een aan rabiesinfectie gestorven hond een gramnegatief bewegelijk staafje, dat melk niet stolde, gelatine niet vervloede, geen indol vormde, zuur en gas vormde uit glucose, maltose, levulose, mannitol, inositol en galactose, niet uit lactose, saccharose en dextrine. Serologisch vertoonde deze bacil geen verwantschap met *S. typhi* en slechts geringe verwantschap met één van verschillende paratyphus culturen, waarvan de identiteit niet meer is vast te stellen. Het was bij subcutane infectie virulent voor cavia, konijn en aap. Twee honden werden hiermede per os geïnfecteerd. Eén ervan, die tevens lijdende bleek aan Uncinariasis, stierf een week na de infectie, uit hart, long en milt werd de bacil geïsoleerd. De andere hond vertoonde na een week lusteloosheid, gebrek aan eetlust en braakneiging; het dier is genezen, 3 weken na de infectie bevatte het serum van den hond agglutinen voor den bacil tot een titer van 1 : 200.

WUNSCHHEIM (1913) deelt mede, dat de cultuur „staafje 212”, die hij in 1905 te Innsbruck uit 9 van zijn 10 aan „hondeziekte” gestorven eigen honden heeft geïsoleerd en toen voor *Pasteurella* heeft gehouden, bewegelijk is en volkomen met „Paratyphus B” overeenkomt. In Berlijn heeft hij bij zeer jonge hondjes een acuut septicaemisch ziektebeeld waargenomen, dat binnen 24 uur tot den dood voerde, waarbij hij eenzelfde bacil isoleerde. In 1905 doodde hij met „staafje 212” door intraperitoneale injectie een volwassen pinscher in 18 dagen, met positieve cultuur uit hart, milt en lever. Dat het dier 5 dagen na de infectie neusuitvloeiing had, na 11 dagen een stijve achterhand en den dag voor den dood krampverschijnselen vertoonde, doet vermoeden, dat hier tevens hondeziekte in het spel was. Een 3½ maand oude hond werd binnen 24 uur door intraperitoneale injectie gedood; een subcutaan geïnfecteerde hond stierf na 3 maanden onder verschijnselen van toenemende cachexie. Op inhalatie volgde na een maand de dood met pneumonie, uit long, hart, milt en nier werd de bacil terug-

gewonnen, niet uit de lever. Voederinfectie gelukte niet. Het organisme was ook virulent voor muis, rat, cavia, konijn, kip, duif en kat (zie verder).

PFEILER en ENGELHARDT (1914) beschrijven, hoe bij de door (waarschijnlijk) een *S. enteritidis* variëteit veroorzaakte vleeschvergiftiging te Bobrau ook een hond is gestorven. Honden gevoerd met het oorspronkelijke rundvleesch, met het hondevleesch en met cultuur bleven gezond.

BRÜGGEMANN (1918) gelukte het uit faeces van een gezonden hond en van een hond met hondeziekte een organisme te kweken, dat volgens hem cultureel met paratyphus overeenkwam; indolvorming is niet onderzocht, tengevolge van den oorlogstoestand is serologisch onderzoek achterwege gebleven.

IFFERT (1920) isoleerde uit hart, milt, bronchiale klieren en beenmerg van den humerus van een jongen herdershond een bewegelijk staafje, „dasz sich sowohl in kultureller, serologischer, wie auch in pathogener Beziehung wie Paratyphus B verhielt“. Het was pathogeen voor de muis (vermoedelijk subcutane infectie), voor de vacia (subcutaan en intraperitoneaal), het konijn (intraperitoneaal en intraveneus), de duif (intraperitoneaal), terwijl het bij subcutane infectie bij den hond koorts, diarrhee en abscesvorming gaf. Honden waren er niet mee te doodden (subcutaan, intraperitoneaal en per os).

AMOSS en HASELBAUER (1922) noemen onder verschillende dierstammen, die zij met hun muizenculturen vergeleken, een van SMITH verkregen hondestam, die tot de *S. enteritidis* variëteiten blijkt te behooren.

SAVAGE en BRUCE WHITE (1925) isoleerden uit de faeces van een hond, die bloed en slijm bevatten, *Salmonella newport*.

MANIFOLD (1928) isoleerde uit faeces van een hond, die hij van Stuttgarter hondeziekte verdacht, *S. typhi-murium* („*B. aertrycke* „Mutton““).

PÜHRINGER (1929) isoleerde uit een duivenei groote mesenteriale klier van een aan gastro-enteritidis gestorven boxerreu een *S. typhi-murium*-stam (cultureel, serologisch en door muizenvoeding gedetermineerd).

KOLBE (1930) nam waar, bij een vleeschvergiftiging tengevolge van *S. typhi murium* bacillen bevattend ganzevleesch, dat behalve drie volwassen personen ook één hond ziek werd.

PYLE (1933) vond *S. enteritidis* (var.?) in 20 milten van jonge honden van 3—5 maanden en in 2 milten van honden van 2—5 jaar, gestorven aan hondeziekte (hondeziekte onderzoek Lederle Laboratories). Van 12 subcutaan met deze stammen geïnfecteerde jonge honden stierven er 9 tusschen de 17 en 24 dagen na de injectie; symptomen: entabscessen, koorts, lusteloosheid, gebrek aan eetlust; sectie: gedegeneerde lever, interstitieele nephritis, geringe catarrhale enteritis, gezwollen gering vergroote milt.

VERGE (1933) kweekte uit 2 onafhankelijke gevallen van broncho-pneumonie bij jonge honden *S. typhi-murium* die hij serologisch determineerde.

WATANEBE (1934) isoleerde uit een jongen hond, die stierf na een maand lang aan diarrhee te hebben geleden, *S. typhi-murium* die hij serologisch cultureel en door muizenvoeding determineerde; de milt van den hond was duidelijk vergroot.

Volgens BRÜGGEMANN (1918) hebben VALLET en RIMBAUDE (1910) paratyphus bacillen uit hondefaeces geïsoleerd, terwijl volgens LOVELL (1932) DALLING *S. cholerae suis* („Typus Amerika“) uit bloed en lever van een foxhound heeft geïsoleerd.

Verder zij nog vermeld, dat HÖLLER (1926) uit hartspier, nier en musculatuur van een gestorven herdershond een gramnegatief bewegelijk staafje isoleerde, dat de Barsiekow druivensuikeroplossing omzette en de Barsiekow melksuikeroplossing niet (dus geen *Alcaligenes bronchisepticus*), het ging echter verloren voor hij het verder kon determineren.

Hieraan zij toegevoegd een mondelinge mededeeling van den heer TEN THIJJE, betreffende spontane *Salmonella* infectie van een jongen hond, die 2 dagen ziek geweest was (Pathologisch Instituut, B 4314, 26-IV-1926). De milt was gezwollen met blauwachtige bloedrijke pulpa; de lever gering gezwollen met pathologische vetinfiltratie; onder het endocard van beide hartkamers werden vrij uitgebreide puntbloedingen waargenomen, evenals onder de maagserosa. Uit lever en milt werd een reïncultuur geïsoleerd van paratyphus bacillen. De hond was in de gelegenheid geweest een door de bureu uitgestrooid rattenbestrijdingsmiddel op te nemen.

Een infectiepoging met *Salmonella*, die niet uit een hond verkregen was, deden KUTSCHER en MEINICKE (1906). Zij gaven aan 2 jonge en 2 oude honden per os elk een Erlenmeyer kolfje „paratyphus B” cultuur. De dieren kregen koorts, verminderde eetlust en algemeen zwakte; na afmaken waren de bacillen niet aan te toonen.

FRAENKEL en MUCH (1911) besmetten met „paratyphus B”, uit een perityphlitisch absces van een mensch geïsoleerd, 2 volwassen honden resp. intraveneus en intraperitoneaal, die wel stierven, maar volgens hen niet tengevolge van de infectie. Een jonge hond verdroeg 10 oesen cultuur intraperitoneaal; terwijl 2 jonge honden vanaf de geboorte dagelijks 6 ccm. bouilloncultuur zonder naeel per os tot zich namen.

Ook bij de huiskat zijn *Salmonella* infecties beschreven.

Wij memoreeren in de eerste plaats, dat ZSCHOKKE (1900) uit den darm van 6 katten met croupeuze enteritis een staafje isoleerde, dat de gelatine niet vervloede, bewegelijk was, gramnegatief, en in cultuur niet de specifieke coligeur gaf. Hij noemt het een colibacil, echter houde men er rekening mede, hoe in dat zelfde jaar DÁNYSZ de Danyszbacil (*S. enteritidis* var. *danysz*) beschreef als „un coccobacille présentant l'ensemble des caractères du *B. coli* et ressemblant en cela au bacille de LOEFFLER”. Hij voederde met cultuur een jonge kat, die reeds den volgenden dag loom en rillerig was, den tweeden dag diarrhee had. De faeces, die om de 2 uur werden geloosd, waren geel, schuimig en stinkend. Dit dier is hersteld. Een tweede kat had eerst colicultuur uit een gezonde kat zonder schade per os verdragen, 6 dagen na de voeding met de virulente cultuur bezweek ze onder dezelfde verschijnselen, sectie is niet verricht.

Meer zekerheid geeft de waarneming van MORI (1905), die uit bloed, milt en lever van een afgemaakte 3 maanden oude kat afkomstig uit Sienna, waar kattensterfte heerschte (zomer 1903), een gramnegatief bewegelijk staafje isoleerde. Deze kat vertoonde hersenverschijnselen en tenslotte paralyse en was lusteloos en sterk vermagerd. Dit gramnegatieve staafje was tusschen 0.8 en 2 micron lang, zeer sterk bewegelijk, vormde geen sporen, was te dooden door verhitting bij 50 à 60° C., had 6 à 8 geesels, was facultatief anaeroob, maakte de bouillon troebel, vervloede de gelatine niet, reduceerde nitraten, vergistte glucose

en maltose (zuur en gas), zette saccharose en lactose niet om, de neutraal-roodagar werd omgezet. Dit organisme was pathogeen voor cavia, konijn, duif, egel, muis (alle subcutaan) en kat (subcutaan en per os). Vier en twintig uur na subcutane injectie van 1/3 ccm. bouilloncultuur, kregen 2 proefkatten verhooging, die 7 dagen duurde, waarna de temperatuur daalde; de dieren stierven na 10 en 15 dagen. Een andere kat werd per os geïnfecteerd met 1 ccm. bouilloncultuur, vanaf den tweeden tot den zesden dag na de voeding had zij verhooging, ook was zij lijdende aan diarrhee, daarna trad constipatie op. Ze stierf na 17 dagen, de bacillen werden niet aangetoond. Bij sectie hadden de subcutaan geïnfecteerde proefkatten een sterk hyperaemische milt, gezwollen lever en in den darm een chocolade kleurige chymus. De per os geïnfecteerde kat had bij sectie alleen deze abnormale darminhoud.

REICHEL en MUMMA (1913) isoleerden bij een sterfte onder jonge katten uit 2 cadavers een organisme, dat zij terecht groepeeren in de „paracolon, paratyphoid or hog-cholera group”. De magere cadavertjes bezaten een gezwollen bonte lever met week parenchym, gezwollen milt met donkere pulpa, gezwollen oedemateuze mesenteriale klieren en bleek darmslijmvlies met gezwollen Peyersche plaques. Bij beide katjes werd uit hart en milt een gram negatief bewegelijk staafje geïsoleerd, bij een der katjes ook uit mesenteriale klieren en ileum. Dit staafje vervloede de gelatine niet, vormde geen indol, maakte de melk eerst zuur en later alcalisch, vormde gas uit dextrose, dulcitol, maltose, mannitol en sorbitol, geen omzetting van lactose, saccharose, adonitol, inuline en dextrine. Het was pathogeen bij intraperitoneale injectie voor konijn, cavia en muis.

BOWIE, PARLANE-KINLOCH en SMITH (1926) namen bij een kat diarrhee en ernstig onwelzijn waar (1 dag lang), 48 uur na het eten van varkensvleesch, na het gebruik waarvan ook menschen ziek waren geworden, en dat *S. typhi-murium* bevatte.

KARSTEN (1927) nam bij een voedselvergiftiging, die veroorzaakt was door met *S. typhi-murium* bacillen besmet kalfsvleesch en waarvan 32 bruiloftsgasten ziek werden en een kind van 3½ jaar stierf, een kat waar, die ook van dit vleesch gegeten had; deze kat was lijdende aan diarrhee. Ook een kip vertoonde na het eten van dit vleesch lusteloosheid en diarrhee.

FRIEDLANDER (1929) isoleerde uit 3 van 4 gestorven katjes, met sectiebeeld hyperaemie van den dunnen darm en zwelling van de mesenteriale klieren, bewegelijke gramnegatieve staafjes, die geen lactose, saccharose en adonitol omzetten, die glucose, maltose, mannitol en galactose vergistten en de eosine-methyleenblauwagar (met lactose?) kleurloos lieten. Ze werden geïsoleerd: eenmaal uit het hart, tweemaal uit de milt, tweemaal uit de lever, eenmaal uit de long, driemaal uit de mesenteriale klieren en tweemaal uit den darm. Van 2 katten kwamen ze serologisch onderling overeen, de stammen van de derde kat verschilden. Agglutinatie met Schottmüller, Aertrijcke, Gaertner en Suipestifiserum gaven ze niet.

LÜTJE (1930) beschrijft in Stang en Wirth's Encyclopedie een „paratyphus” uitbraak onder verscheidene katten van een dorp.

HINDLE en FINDLAY (1932, 1933) onderzochten 300 cadavers van spontaan gestorven katten en van proefkatten in verband met een onderzoek betreffende „feline distemper”, waaronder zij zoowel verschijnselen van de respiratie tractus als darmverschijnselen verstaan. In 151 gevallen kweekten zij bewegelijke gramnegatieve staafjes, die glucose, maltose, mannitol en dulcitol vergistten, saccharose

en lactose niet aantastten; enkele stammen vormden zwak indol, de meeste niet. Eén stam werd voor hen door H. C. BROWN serologisch onderzocht. Agglutinatatie werd waargenomen met *S. enteritidis* serum tot 1 : 80 en met *S. typhi-murium* serum tot 1 : 1280; titers van deze sera worden niet vermeld. Deze stam doodde de muis intraperitoneaal in 2 à 5 dagen. Intraperitoneale injectie van ½ ccm. bouilloncultuur doodde de kat niet. Het is niet na te gaan, in hoeverre sommige van hun jonge katten (verkregen uit den handel) alleen tengevolge van *Salmonella*-infectie zijn gestorven; b.v. één katje, dat 6 dagen na een contactinfectie verhooging had en na 22 dagen in agonie werd afgemaakt.

Ik neem hier de gelegenheid waar op te merken, dat dergelijke indolvormers ook door mij 4 maal uit den darm van katten lijdende aan pseudomembraneuze enteritis zijn geïsoleerd. Deze gramnegatieve bewegelijke staafjes groeiden geel op de Gassnerplaat en kleurloos op de Endo-plaat, ze vormden gas en zuur uit druivensuiker en niet uit melksuiker, stolden de lakmoesmelk niet en kleurden deze eerst rood later blauw, ze zetten de neutraalroodagar om, vervloeden de gelatine niet, ze vormden echter indol en onderscheidden zich daardoor van *Salmonella*.

Nog zij vermeld, dat KRUMWIEDE, VALENTINE en KOHN (1919) een *Salmonella*stam beschrijven afkomstig uit een kat en behoorende in de B-groep, die serologisch volkomen identiek was (verzadiging) met muizen en cavia stammen en een konijnenstam, waarschijnlijk dus *S. typhi-murium*.

Experimenteele infecties bij katten met niet van katten afkomstige stammen zijn verricht door de volgende auteurs.

WUNSCHHEIM (1905, 1913) infecteerde een kat intraperitoneaal met ½ agarcultuur van een stam, afkomstig van een hond (staafje 212), de dood volgde na 6 dagen. Een andere kat infecteerde zich spontaan door contact met de intraperitoneaal geïnfecteerde.

SAVAGE en BRUCE WHITE (1925) infecteerde 6 katjes per os en wel 2 met *S. enteritidis*, 2 met *S. typhi-murium* en 2 met *S. paratyphi-B*. Beide met *S. enteritidis*besmette katjes vertoonden diarrhee, 1 stierf na 5 dagen met septicaemie, 1 na 18 dagen, waarbij de bacillen alleen uit den dunnen darm maar niet uit hart, bloed, lever, milt en nier werden geïsoleerd. De met *S. typhi-murium* geïnfecteerde katjes stierven respectievelijk na 5 en 11 dagen, zij hadden eerst kort voor den dood ziekteverschijnselen, ook hier was bij het acute geval septicaemie en kon bij het chronische geval de bacil alleen in den darm worden teruggevonden. Een der beide met *S. paratyphi-B*besmette katjes stierf na 4 dagen, de bacil was alleen uit den darm te isoleren; het andere werd na 25 dagen afgemaakt, de cultures waren negatief. Jammer is het, dat deze onderzoekers de mesenteriale lymphklieren niet hebben onderzocht.

Volledigheidshalve worden hier nog vermeld beschrijvingen van bij katten geïsoleerde organismen, die door Fransche auteurs van de laatste jaren in deze groep worden ondergebracht.

Zoo isoleerden VERGE en CRISTOFORONI (1928) uit het hart van een kat met enteritis een gramnegatief weinig bewegelijk staafje, dat de neutraalroodagar niet omzet, geen gas vormt uit glucose, zuur vormt uit saccharose en

geen agglutinatie geeft met typhus, paratyphus A en paratyphus B serum, doch desalniettemin door deze schrijvers als *Salmonella* wordt beschouwd.

Ook URBAIN (1933) bericht tweemaal uit hartebloed van katten met enteritis een „paratyphus B” te hebben gekweekt. Deze organismen waren niet virulent voor katten. Hun eigenschappen worden niet beschreven. Men rekene er echter mede hoe zijn medewerker VOIGNIER (1933) een dergelijke „paratyphus bacil” uit een kat beschrijft. Dit was een weinig bewegelijk gram negatief staafje, dat o.a. indol vormde en lactose omzette. Op grond van een agglutinatie met een paratyphus B serum tot 1 : 200 (!) meent hij genoemde bacil bij de paratyphus-B bacillen te moeten rubriceeren.

Dit referaat zou zeer zeker niet volledig zijn, als hier niet werd gewezen op het uitvoerige onderzoek van VENSKE (1933) die het niet gelukte in faeces van een groot aantal willekeurige honden en katten *Salmonella* aan te toonen.

Uitdrukkelijk zij hier vermeld, dat zoo min het voorgaande overzicht als de hierna volgende casuïstiek een lans willen breken voor het terecht verlaten standpunt, dat *Salmonella* in eenig causaal verband zou staan met de het eerst door ZSCHOKKE (1900) beschreven pseudomembraneuze enteritis van de kat, over de aetiologie waarvan in de laatste jaren door de onderzoekingen van URBAIN, JARMAI en DALLING meer is bekend geworden ¹⁾.

Eigen onderzoek.

De hier volgende eigen waarnemingen betreffen enkele vaccinatieproeven met jonge honden en katten, benevens een bijdrage inzake het spontaan voorkomen van *Salmonella*-infectie bij de huiskat.

1. Proeven met honden.

Vaccinatieproef VIII.

Uit een nest van 9 jonge bastaardhonden werden op den 21en en 28en levensdag (4 en 11-IV '34) 6 gevaccineerd met gedoode cultuur van *S. enteritidis dublin* geïsoleerd uit een zilvervos. Op 24-IV werden de toen circa 6 weken oude dieren alle 9 na 24 uur vasten geïnfecteerd, elk met 5 ccm. 17 uur gegroeide bouillon cultuur van denzelfden stam per os. Ziekteverschijnselen deden zich na deze infectie niet voor, zoodat ze dan ook als mislukt kan worden beschouwd.

Vaccinatieproef IX.

Inmiddels was een tweede nest jonge honden in voorbereiding. Ondanks het negatieve verloop van proef VIII is deze proef toch uitgevoerd en het is tenminste gelukt de diertjes met *Salmonella* te infecteeren.

¹⁾ URBAIN, A. Ann. Inst. Pasteur, 51, 203, (1933). — DALLING. Vet. Rec. 1934, 1137. — JARMAI. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1934, 401.

Voor de vaccinatie zoowel als voor de infectie werd gebruikt de door WINKEL uit een kalf geïsoleerde *S. enteritidis dublin* dezelfde welke voor de proeven met muizen is gebruikt en verscheidene malen door de muis had gepasseerd.

De moeder van deze hondjes was een bastaard, ter grootte van een foxterrier. De diertjes werden geboren op 12-IV-'34.

Hond 298 ontving tweemaal (3-V en 14-V) per os eerst 4 ccm. 10% oplossing Fel tauri en een kwartier daarna 15 ccm. van een 14 dagen gegroeide door verhitting ($\frac{1}{2}$ uur 70° C.) gedooide bouilloncultuur. Zoowel in deze als in de vorige proef viel op, dat de gal zeer ongaarne werd ingenomen.

Hond 299 ontving op dezelfde dagen telkens 5 ccm. van dit vaccin subcutaan.

Hond 300 bleef als contrôle.

Op 26-V-'34 werden de faeces van deze dieren, die op dien dag gespeend werden, op aanwezigheid van *Salmonella* onderzocht. Deze werd niet aangetoond, wel vele op de Gassnerplaat geelgroeiende gelatinevervloeiers en indolvormers, welke het verdere faecesonderzoek zeer bemoeijkten, waardoor steeds van elke plaat een groot aantal kolonies moest worden onderzocht. Ook werd op 28-V langzame agglutinatie van het bloedserum verricht met antigeen van *S. Enteritidis dublin* en *S. Paratyphi-B*, bij alle 3 dieren was de reactie negatief.

De infectie vond plaats als volgt. De dieren vastten vanaf 28-V des morgens. Zij ontvingen op dien morgen 4 ccm. 10% Fel tauri subcutaan en 10 ccm. Oleum ricini per os. Op 29-V te 10 uur ontvingen zij nogmaals 4 cc. 10 % Fel tauri subcutaan en tevens 4 cc. per os. Te 11 uur werden zij besmet door het opnemen van een weinig melk, waaraan toegevoegd twee 24 uur oude bouillonculturen direct uit muizen aangelegd en 3 stukjes vleesch, elk circa 10 ccm. groot, onder aseptische cautele verkregen uit de dijmusculatuur van een versch geslacht varken en 24 uur bij kamertemperatuur bewaard in bouilloncultuur van *S. enteritidis dublin*. Om 12 uur werd het gewone voedsel weer verstrekt (wittebrood, melk en vleesch).

Op 30-V waren de diertjes nog alle normaal; in den nacht van 30 op 31-V werden faeces afzonderlijk verzameld, na uitstrijken op Gassnerplaten werd *Salmonella* aangetoond.

Op 31-V waren alle 3 lusteloos, hadden geen eetlust, temperatuur 39.3, 39 en 39° C. (normaal), de faeces waren slap. Deze toestand duurde bij 298 tot 2-VI; 299 was op 1-VI weer normaal en at zelfs gulzig vleesch; 300 was op 3-VI weer genezen. De afzonderlijk verzamelde faeces gedeponneerd in de nachten van 1 op 2-VI en van 3 op 4-VI bevatten nog *Salmonella* daarna is deze in de faeces niet meer aangetoond (onderzoek 5 op 6-VI, 7 op 8-VI en 15 op 16-VI).

Agglutininenvorming na de infectie was reeds op 6-VI aan te toonen en bleef tot aan het afmaken bestaan (grofvlokkige agglutinatie). De titers waren ten opzichte van *S. enteritidis dublin* op:

	28-V	6-VI	15-VI	21-VI
298	—	1 : 400	1 : 400	1 : 200.
299	—	1 : 400	1 : 400	1 : 800.
300	—	1 : 400	1 : 400	1 : 200.

Met *S. paratyphi-B* (serum-verdunning vanaf 1 : 20), werd geen agglutinatie waargenomen.

Op 21-VI werd 299, op 22-VI werden 298 en 300 afgemaakt. Op steriele wijze

werden stukjes van lever, milt en nieren, de mesenteriale klieren, merg uit beide femurs, de galblaasinhoud en circa 1 ccm. bloed in bouillon geënt. Tevens werden Gassnerplaten aangelegd van chymus uit duodenum, ilium en rectum. Alleen uit de mesenteriale klieren van alle 3 de honden werd *S. enteritidis dublin* geïsoleerd.

Samenvatting:

1. Jonge honden waren alleen na een kunstmatige resistentie-vermindering met *S. enteritidis dublin* per os te infecteeren, er was een incubatietijd van 1½ dag. Drie en een halve week na de infectie waren de dieren nog dragers.
2. Tengevolge van de vaccinatie per os zoowel als subcutaan werden geen agglutinen gevormd, wel tengevolge van de infectie; bij de subcutaan gevaccineerde hond bereikten zij de hoogste titer.
3. Eenig gunstig resultaat van de vaccinatie is niet waargenomen.

2. Spontane infectie bij katten.

Bij katten zijn in de jaren 1933 en 1934 de volgende spontane gevallen van *Salmonella* infectie door mij waargenomen; voorop gesteld zij, dat den geheelen zomer van 1933 in de muizenfokkerij van het Instituut een infectie met *S. typhi-murium* heerschte, een bron voor de tweede uitbraak in 1934 laat zich niet aanwijzen.

Geval I.

Proefkat 50, ruim 2 maand oud, gestorven 23-VII-33. Anamnese: In het begin van de maand Juli aangekocht; op 7-VII en 12-VII per os besmet met materiaal van katten met pseudomembraneuze enteritis, waaruit geen *S. typhi-murium* was geïsoleerd; de kat was vanaf 7-VII verzorgd door den oppasser uit de muizenfokkerij. Sectie: Mager katje, lever en nieren iets gedegeneerd, milt gezwollen en bloedrijk, mesenteriale klieren gezwollen. Darm met geringen inhoud (enkele *Taeniae cucumerinae* en spoelwormen). Uit hart, milt, lever en nier werd *S. typhi-murium* geïsoleerd.

Geval II.

Proefkat 54, ruim 3 maand oud, gestorven 29-VII-33. Anamnese: In de tweede helft van de maand Juni met de moeder aangekocht; op 24-VII subcutaan geïnfecteerd met emulsie van bloed en milt van een kat met pseudomembraneuze enteritis, waaruit geen *S. typhi-murium* was geïsoleerd; vanaf dien dag verzorgd door den oppasser uit de muizenfokkerij; vanaf 25-VIII werd diarree opgemerkt. Sectie: Mager katje, lever gezwollen, darmcatarrh, verder geen afwijkingen. Uit milt en lever werd *S. typhi-murium* geïsoleerd.

Geval III.

Vijf jongen van de moeder van kat 50, circa 14 dagen oud, gestorven 31-VIII en 1-IX. Anamnese: Ongeveer een week eerder met de moeder aangekocht; de moeder heeft los over het terrein geloopt. Sectie: Twee van de diertjes hadden een goed gevulde maag (dus niet door de moeder verwaarloosd); lever en nieren waren bleek, de dunne darm met geringe slijminhoud (vele *Taeniae cucumerinae*); de 3 dieren gestorven op 31-VIII hadden compacte inhoud in het rectum, bij de 2 laatste was deze inhoud dun. Geënt werd alleen uit de beide laatste katjes; uit hart en organen werd *S. typhi-murium* geïsoleerd.

Geval IV.

Proefkat 67, 5 maand oud, gestorven 13-X-33. Anamnese: Geboren op het terrein van het Instituut in Mei 1933. Op 3-X subcutane injectie met emulsie van milt, bloed en mesenteriale klieren van een kat met pseudomembraneuse enteritis, waarin geen *S. typhi-murium* was aangetoond; 12-X stil en lusteloos, flauwe oogstand, looze braken, morgentemperatuur 39.1, middagtemperatuur 39.3. Sectie: Voedingstoestand gewoon, darmwand gering atonisch, darmmucosa iets verdikt met pleksgewijze roodheid en plaatselijk vlokkelig taai slijmig exsudaat, catarrhale enteritis, lever mogelijk iets gedege-neereerd, verder geen afwijkingen. Uit hart en organen werden sterk verontreinigde culturen verkregen; in alle werden sterk bewegelijke staafjes opgemerkt, uit de lever werd *S. typhi-murium* geïsoleerd.

Geval V tevens vaccinatieproef X.

In den zomer van 1934 werden op een zolder, waar een volwassen kat vrij in- en uitging, 9 jonge katten van 2 à 3 maand gehouden, waarvan 3 op dezen zolder bij bedoelde kat geboren en de overige van 3 verschillende adressen (geen handelaars) verkregen waren. Van deze diertjes stierven er op 30-VII en 4-VIII twee (A, B.), waarbij respectievelijk uit hart, organen en mesenteriale klieren en uit lever en mesenteriale klieren *S. typhi-murium* werd geïsoleerd. Op 6-VIII was weder een van de diertjes ziek, nu werd overgegaan tot vaccinatie per os: Op 6-VIII, 7-VIII en 8-VIII ontvingen de gezonde dieren F, G en I, en de zieke H, per os (met een theelepeltje) 7½ ccm. van een 1 maand gegroeide door verhitting gedode *S. typhi-murium* bouilloncultuur, gemengd met 2½ ccm. 10% oplossing van *Fel tauri*. Op 10-VIII was de zieke H weer voorloopig hersteld, at zelfs gulzig, toch is deze op 24-VIII gesuccombeerd. Ook de andere stierven en wel in de aangegeven volgorde:

Niet gevaccineerd	}	C	12-VIII	gestorven.
		D	13-VIII	„ .
		E	16-VIII	„ .
		F	17-VIII	„ .
Gevaccineerd	}	G	19-VIII	„ .
		H (!)	24-VIII	„ .
		I	25-VIII	„ .

Door het warme weder waren de culturen veelal sterk verontreinigd en gelukte het niet steeds *S. typhi-murium* aan te toonen, deze werd alleen geïsoleerd bij de katten: C, E, F, G en I. Het valt op, dat de gevaccineerden, waaronder er een was, die reeds ziekteverschijnselen vertoonde, langer leefden dan de controles.

De ziekteverschijnselen bestonden uit vermagering, geringe lusteloosheid, soms braken en diarree. Bij de sectie vielen op bleeke gezwollen lever en nieren, gezwollen milt en mesenteriale klieren, en darmcatarrh.

Al deze katten waren sterk besmet met vlooiën. Zoodra *Salmonella*-infectie was geconstateerd werden de katten naar een isolatiestal overgebracht. De vlooiën echter verbreidden zich in den stal onder den zolder en werden door het personeel in groote hoeveelheid op de daar aanwezige caviae en konijnen aangetroffen. Na een krachtdadige bestrijding zijn ze spoedig verdwenen. In October 1933 trad een aanvankelijk onverklaarbare sterfte aan *S. typhi-murium* infectie onder jonge konijnen van de fokkerij op. Het bleek, dat deze infectie was terug te voeren tot de jongen van het konijn no. 14, dat uit genoemden stal afkomstig bleek. Het serum van dit konijn bezat een agglutinatie titer van 1 : 3200 (grofvlokkig) voor *S. typhi-murium* agglutinatie met *S. enteritidis dublin* negatief. Het bloed van 3 andere moederkonijnen bleek geen agglutinenen ten opzichte van genoemde bacillen te bevatten ¹⁾. Temeer daar DE BLIECK en JANSSEN (1935) uit vlooiën van een zilvervos *S. enteritidis dublin* isoleerden, is het niet onwaarschijnlijk, dat de vlooiën bij de verbreiding van deze ziekte mogelijk ook bij de katjes onderling, een rol hebben gespeeld.

Nog zij opgemerkt, dat door mij circa 30 cadavers van katten, die lijdende waren geweest aan enteritiden zijn onderzocht, waarbij geen *Salmonella* is aangetoond.

¹⁾ *Salmonella* infectie bij konijnen is spaarzaam beschreven, SEIFRIED noemt in JAFFÉ's handboek (1931) publicaties van HAYTHORN, KARSTEN en EHR-LICH, benevens een persoonlijke mededeeling van TEN BROECK; hieraan kunnen nog worden toegevoegd: KRUMWIEDE c.s. (1919) l. c., LITCH en MEYER, J. Inf. Dis. 28, 27, (1921), LESBOUYRIES (1931) Rec. de Méd. Véter. 1931, 257, WITTE. Arch. Tierhk. 65, 344, (1932) en AHIYA, Ind. J. Med. Res. 22, 475, (1935).

3. Proeven bij katten.

Bij volwassen katten zijn enkele infectieproeven genomen, met *S. typhi-murium*.

De volwassen kat 49 werd subcutaan geïnfecteerd met een groote dosis bloedbouilloncultuur (2 buisjes); ze stierf binnen 24 uur.

De volwassen kater 53 werd subcutaan geïnfecteerd met 1 ccm. 24 uur gegroeide bouilloncultuur, was dien zelfden dag en de daarop volgende dagen lusteloos en had een geringe verhooging (tot 39.9). Na 21 dagen werd het dier afgemaakt, enkele oesen bloed, stukjes organen en de mesenteriale klieren werden verzameld in bouillon; uit lever en mesenteriale klieren werd *S. typhi-murium* geïsoleerd. Het bloedserum agglutineerde 21 dagen na de infectie *S. typhi-murium* tot 1 : 320.

De volwassen kater 73 werd na 24 uur vasten gevoederd met een geheele 24 uur gegroeide bouillon-cultuur gemengd met melk en brood; klinische afwijkingen werden bij het dier niet waargenomen. Na 28 dagen werd het afgemaakt, het cadaver werd verwerkt als dat van kater 53, uit de mesenteriale klieren werd *S. typhi-murium* geïsoleerd. Het bloedserum agglutineerde op den dag van afmaken *S. typhi-murium* tot 1 : 50 (korrelig), *S. enteritidis dublin* niet.

De volwassen kat 48 ontving 2 afgeschudde agarculturen van *S. typhi-murium* met melk en brood per os na vasten zonder nadeelige gevolgen; deze is niet afgemaakt.

Als contrôle zij gemeld, dat de kat 47 en de kater 77, die maandenlang met de katten 53 en 73 in afzonderlijke kooien in een zelfden stal verbleven, in denzelfden tijd zijn afgemaakt, uit deze is met dezelfde techniek geen *S. typhi-murium* geïsoleerd, agglutinatie vanaf 1 : 10 was negatief.

Vaccinatieproef XI.

Aangezien uit het voorgaande bleek, dat de mogelijkheid bestond jonge katten voor *Salmonella*-proeven te kunnen gebruiken, werden in 1935 22 jonge katten, deels zelf gefokt en voor het overige betrokken van betrouwbare particulieren, bestemd voor een vaccinatieproef per os. Het betrof hier een infectie van jonge dieren evenals b.v. de infectie bij de jonge vossen; daarom werd de eisch gesteld, dat de perorale vaccinatie zijn werking reeds na korten tijd zou dienen te ontplooiën. Het zou een voordeel ten gunste van de vaccinatie per os kunnen zijn, indien deze eerder beschutte dan de subcutane vaccinatie. Ook met het oog op de met den toenemenden leeftijd mogelijk optredende geringere gevoeligheid bij proefdieren leek het gewenscht den termijn tusschen vaccinatie en infectie korter te kiezen dan bij de proeven met muizen. De waarneming bij geval V had den indruk gegeven, dat, indien hierbij werkelijk de vaccinatie per os gunstig had gewerkt, deze werking zich slechts over een korten termijn uitstrekke.

De dieren werden volgens signalement verdeeld in 2 groepen: 11 zwarte en gestreepte dieren zonder afteekeningen (nummers 84 tot en met 94) werden

bestemd voor vaccinatie, 11 bonte en blauwe dieren (nummers 95 tot en met 105) werden als controle niet voorbehandeld. Op 20-VI-'35 waren de katjes 6—8 weken oud; ze waren alle gezond, voor zoover bekend was in het nest onder deze diertjes geen ziekte geweest.

Op 20, 21 en 22-VI werden de katjes 84 tot en met 94 per os op de nuchteren maag gevaccineerd. Zij ontvingen telkens 3 ccm. $\frac{1}{2}$ uur bij 70° C. verhitte 14 dagen gegroeide bouilloncultuur van *S. typhi-murium* + 1 ccm. 10% oplossing van *Fel tauri*, waaraan als smaakcorrigenens een weinig rietsuiker was toegevoegd. Dit vaccin werd met graagte ingenomen, vooral daar de dieren gewoon waren door mij te worden gevoederd. Het vaccin werd met een recordspuit in den bek gedruppeld.

Voor de infectie werden de diertjes tesamen gebracht in een vliegenvrij afgesloten stal, waarin zij vrij konden rondloopen. Op 29-VI, dus 7 dagen na de laatste vaccinatie, werden zij des morgens op de nuchteren maag geïnfecteerd met 2 ccm. 24 uur oude bouilloncultuur van *S. typhi-murium*. Ook de cultuur werd gretig opgenomen. Deze was geënt met den stam gewonnen uit katje A na passage van een muis kort van tevoren (voeding op brood, gestorven 4 dagen na de infectie). Twee uur na de infectie werd eenig vleesch verstrekt, des middags werd droog kattenbrood (vischmengsel) gegeven, eerst op den middag van den daarop volgende dag werd weer melk verstrekt.

Een der katten (de gevaccineerde kat 84) stierf binnen 24 uur na de infectie. Overigens vertoonde het verloop geen verschil.

Van de geënte katten stierven op: 9-VII, 85; 13-VII, 86; 16-VII, 87; 17-VII, 88; 18-VII, 89; 18-VII, 90, 22-VII, 91. Dus 11 : 8.

Van de controlédieren stierven op: 7-VII, 95; 13-VII, 96; 15-VII, 97; 16-VII, 98; 16-VII, 99; 17-VII, 100, 18-VII, 101, 19-VII, 102. Dus 11 : 8.

Het ziekteverloop en de bij de sectie waargenomen afwijkingen verschilden in wezen niet van het bij de spontane infectie waargenomene. Ook hier viel op vermagering, lusteloosheid, gebrek aan eetlust, lichtgele diarrhee soms met bloed gemengd. De sectie verschilde niet van het beschrevene in geval V; de meeste katjes hadden enkele ascariden. Bij de het eerst gestorven dieren werd zowel uit het hart als uit alle organen *S. typhi-murium* geïsoleerd (katten 84 tot en met 87, 95 tot en met 98). Bij de later gestorven dieren werd deze alleen geïsoleerd uit de organen (88 lever en milt, 89 lever, milt, nier en mesenteriale klieren, 90 lever, 91 lever, 99

mesenteriale klieren, 100 lever en mesenteriale klieren, 101 mesenteriale klieren, 102 lever).

Op 23-VII werden de overlevende 6 katten afgemaakt; deze waren alle gezond en in goeden voedingstoestand. Bij de sectie werden geen afwijkingen gevonden, ook deze diertjes bleken alle besmet met ascariden. Geënt werd in bouillon: enkele oesen harte-bloed, stukjes lever (van 2 plaatsen), stukje milt, stukje uit beide nieren, de galblaas, en verscheidene mesenteriale klieren. Alleen bij kat 105 werd in lever en mesenteriale klieren *S. typhi-murium* aangetoond.

Van deze 6 katten en van de kat 91, waarbij in de agonie bloed was afgenomen, werd agglutinatie verricht met levend *S. typhi-murium* antigeen (stam 56').

Resultaat:

Gevaccineerden

91 (gestorven)	1 : 640	korrelig
92	1 : 40	„
93	1 : 40	„
94	vanaf 1 : 10	negatief

Contrôles

103	1 : 320	korrelig
104	1 : 160	„
105	1 : 800	„ (dragerschap aangetoond)

Met levend *S. enteritidis* var. *danyisz*-antigeen werd alleen bij 105 in een verdunning van 1 : 10 geringe korrelige agglutinatie waargenomen (antigeen XII?).

In den nazomer en herfst van 1935 werden 16 zes weken oude gezonde katjes afgemaakt; geënt werd op dezelfde wijze als boven beschreven: *S. typhi-murium* werd niet aangetoond. Het serum van al deze diertjes gaf in een verdunning vanaf 1 : 10 met levend *S. typhi-murium* antigeen geen agglutinatie. Zeer vermoedelijk bezitten katten dus geen normaalagglutininen (zie ook volwassen katten 47 en 77).

De vrij lage titers van de gevaccineerde afgemaakte dieren dienen dus als positief te worden beschouwd. Wie deze lage titers en de negatieve reactie van kat 94 als gevolg van de vaccinatie zou willen beschouwen, bedenke, dat dit resultaat dan wel zeer pover zou zijn bij een infectie, waarbij blijkens de waarneming 27.2% in leven blijft. Beter is het vast te stellen, dat ook hier de vaccinatie per os geen

enkelen gunstigen invloed heeft gehad. Het zij in het midden gelaten, in hoeverre het peracute sterfgeval van katje 84 in verband met de vaccinatie zou kunnen staan.

Samenvatting:

1. Spontane *S. typhi-murium* infectie met doodelijk verloop is bij jonge katten enkele malen waargenomen.
2. Experimenteele infectie per os bij jonge katten heeft een aanzienlijke sterfte (22 : 16) tengevolge gehad.
3. Volwassen katten zijn veel minder gevoelig voor de infectie; één kat stierf na subcutane infectie met groote hoeveelheid cultuur een andere kat reageerde slechts gering op herhaalde subcutane injectie van cultuur, 2 volwassen katten werden zonder nadeel met levende cultuur gevoederd.
4. Kunstmatig geïnfecteerde volwassen katten kunnen weken lang drager blijven.
5. Op het verloop van een spontane infectie onder jonge katten heeft vaccinatie per os geen of slechts geringen invloed ten goede gehad.
6. Van vaccinatie per os bij jonge katten, een week later gevolgd door kunstmatige infectie per os, werd geen beschuttenden invloed waargenomen.

Conclusies:

1. Jonge honden leenen zich niet of zeer slecht voor proeven met *S. enteritidis* var. *dublin*.
2. Jonge katten zijn gevoelig voor spontane infectie met *S. typhi-murium*, zij zijn ook gemakkelijk experimenteel te infecteeren; bij volwassen katten gelukt de infectie veel moeilijker.
3. Vaccinatie per os driemaal geeft bij *S. typhi-murium* infectie van jonge katten (zoowel spontaan als kunstmatig) geen of slechts zeer gering gunstig resultaat.

LITERATUUR BEHOORENDE BIJ HOOFDSTUK VIII.

- AMOSS, H. L. en P. P. HASELBAUER. J. of Exper. Med. 36, 107, (1922). — BLIECK, L. DE en JAC. JANSEN, Tschr. v. Diergeneesk. 62, 457, (1935). — BOWIE, F. J. T., J. PARLANE-KINLOCH en J. SMITH, J. Hyg. 25, 444, (1926). — BRÜGGEMANN, C. Dtsch. tierärztl. Wschr. 26, 197, 206, 219 (1918). — FRAENKEL, H. en H. MUCH, Z. f. Hyg., 69, 343, (1911). — FRIEDLANDER, R. O., J.A.V.M.A. 74, 932, (1929). — GREEN, R. G., Proc.

Soc. Exper. Biol. and Med., 22, 546, 677 (1925). — HINDLE, E. en G. M. FINDLAY, J. Comp. Path. and Ther. 45, 11, (1932), Proc. Roy. Soc. Med. 26, 197, (1933). — HÖLLER, E. Dtsch. Osterr. tierärztl. Wschr. 8, 91, (1926). — IFFERT, H. Inaug. Diss. Hannover, 1920. — KARSTEN, Dtsch. tierärztl. Wschr. 1927, 781. — KLIMENKO, W. N. Cbl. Bakt. Ref. 39, 263, (1907). — KOLBE, F. Berl. tierärztl. Wschr. 1930, 43. KUTSCHER, en E. MEINICKE, Z. f. Hyg. 52, 30, (1906). — KRUMWIEDE, C., E. VALENTINE en L. A. KOHN, J. of Med. Res. 34, 449, (1919). — LOVELL, B. Vet. Rec. 12, 1052, (1932). — LÜTJE, Stang und Wirth, Tierheilk. und Tierzucht, 7, 676, (1930). — MANIFOLD, J. A., J. Roy. Army Med. Corps. 51, 402, (1928). — MORI, N. Cbl. Bakt. I. Orig. 38, 42, 186, (1905). — PFEILER, W. en F. ENGELHARDT, Mitt. Kaiserl. Wilh. Inst. f. Landwirte Bromberg, 6, 244, (1913). — PÜHRINGER, H. Wien. tierärztl. Monatschr. 16, 837, (1929). — PYLE, N. J., J.A.V.M.A. 83, 618, (1933). — REICHEL, J. en E. W. MUMMA, J. A.V.M.A. 43, 514, (1913) — RIEDMÜLLER, L. en E. SAXER, Dtsch. tierärztl. Wschr. 1930, 825. — RUEDIGER, E. H., J. Inf. Dis. 8, 486, (1911). — SAVAGE, W. G. en P. BRUCE WHITE, Med. Res. Council. Spec. Rep. Series, 91, 112, (1925). — URBAIN, A. Ann. Inst. Pasteur, 51, 203, (1933). — VENSKE, W., Cbl. Bakt. I. Orig. 130, 259, (1933). — VERGE, J., Rev Génér. de Méd. Vétér. 11, 335, (1931). Bull. Acad. Vétér de France, 7, 71, 1934). — VERGE, J. en A. N. CHRISTOFORONI, Rec. Méd. Vétér. 104, 385, (1928). — VOIGNIER, E., Thèse Fac. de Méd. Paris, 1933. — WATANEBE, S., J. Jap. Soc. Vet. Sc. 13, 90, (1934). — WUNSCHHEIM, A. von., Archiv. f. Hyg. 53, 1, (1905). Dtsch. Med. Wschr. 39, 2294, (1913). — ZSCHOKE, E., Schweiz. Arch. Thk. 42, 20, (1900).

HOOFDSTUK IX.

SALMONELLA INFECTIE EN SALMONELLA VACCINATIE BIJ COLUMBA LIVIA VAR. DOMESTICA.

Literatuur en eigen onderzoek.

Eine der wichtigsten Taubenkrankheiten ist wohl die Paratyphose.

T. v. HEELSBERGEN (1929).

Het veelvuldig inroepen van de hulp van het Instituut voor Parasitaire- en Infectieziekten door duiven-eigenaren, wier duiven waren aangetast door *Salmonella* infectie, was aanleiding, deze infectie aan een nader onderzoek te onderwerpen en huisduiven als proefdieren voor de vaccinatieproeven te gebruiken.

In Nederland wordt de laatste jaren in besmette hokken veelal subcutaan geënt met de *Salmonella typhi-murium* entstof „Arthrithol” (tweemaalige enting). Deze entstof is bereid door het dooden van uit duiven verkregen stammen met formaline 1 : 500. Dit systeem is bij de muizenproeven uitvoerig bestudeerd. Bij de vaccinatieproeven met duiven werd dan ook de aandacht geconcentreerd op de vaccinatie per os; nagegaan werd of allicht bij deze dieren daarmee positieve resultaten waren te bereiken.

Literatuuroverzicht.

a. Inleiding.

Salmonella-infectie bij duiven is met zekerheid het eerst vastgesteld door de Path. Division Bureau of Animal Industry in 1904. Deze stam, geïsoleerd door MOHLER, is door BEAUDETTE (1916) opnieuw onderzocht en gedetermineerd als *S. typhi-murium*. Er is nog een oudere publicatie van MOORE (1895), zijn stam vormde echter indol (volgens methode van KITASATO). Nadien zijn spontane *Salmonella* infecties bij duiven beschreven door ZINGLE (1914), EBERT en SCHULGINA (1924), REITSMA (1924), MEDER en LUND (1925), RICHTERS (1925), BEAUDETTE (1926), BECK en MEYER (1926), KARSTEN (1927), LAHAYE en WILLEMS (1927), BECK (1928), LEGEZYNSKI (1928), PFAU (1928), EMMEL (1929), MAYER en WÜTIG

(1929), BERGE (1929), BRUNETT (1930), CASH en DOAN (1930—'31), JANISCH (1930), RASCH (1930), WOLLAK (1930), SCHÜTT (1931), WÜTIG (1931), CLARENBURG en DORNICKX (1932), LESBOUYRIES en VERGE (1932), CERNAIANU en POPOVICI (1933), BERDICEK (1934), CERNEA (1934), JUNGHERR en WILCOX (1934), GAEDE (1935), KHALIFA (1935), MORCOS (1935).

Een infectie met *Salmonella typhi-murium* is met zekerheid of met groote waarschijnlijkheid beschreven door: MOHLER, EBERT en SCHULGINA, BEAUDETTE, BECK en MEYER, LAHAYE en WILLEMS, BERGE, MAYER en WÜTIG, BRUNETT, CASH en DOAN, JANISCH, RASCH, WOLLAK, SCHÜTT, LEGEZYNSKI, LESBOUYRIES en VERGE, VIANELLO, CLARENBURG en DORNICKX, CERNAIANU en POPOVICI, CERNEA, GAEDE, KHALIFA; ook de „Paratyphus B" genoemde vondsten van REITSMA en van MEDER en LUND, stammen die voederpathoogen waren voor de muis, zijn waarschijnlijk hierbij te rekenen. KARSTEN isoleerde in een sterfte van postduiven Schottmüller-bacillen. ZINGLE, EMMEL en BERDICEK noemen hun stammen „paratyphus B" zonder dat dit is te controleeren of te weerleggen. RICHTERS isoleerde bacillen, die hij na serologische determinatie tot de typus Schottmüller rekende; zij waren echter voederpathoogen voor de muis. Voor de bevindingen van REICHENSHAMMER verwijs ik naar blz. 134.

b. *Klinische verschijnselen. Agglutinatie.*

Door de meeste auteurs worden mededeelingen gedaan over klinische verschijnselen; uitvoerig zijn deze o.a. beschreven door WÜTIG (1931). Zij laten zich samenvatten als volgt.

De ziekte komt voor zoowel bij jonge als bij volwassen dieren. Bij de jonge dieren ziet men veelal sterfte na vermagering met enteritis gepaard gaande. (MOHLER, BEAUDETTE, BECK en MEYER, LAHAYE en WILLEMS, BERGE, WÜTIG, CLARENBURG en DORNICKX, LEGEZYNSKI). Ook wel treden hersenverschijnselen op (manegebeweging, convulsies, waggelende gang, schudden met den kop); de jonge duiven zijn onrustig en vallen uit de nesten, Dreh- of Taumelkrankheit, megrims, (RICHTERS, BEAUDETTE, vermoedelijk ook MOORE).

Ook bij volwassen dieren kan de ziekte acuut verlopen (WÜTIG); de dieren vermageren en hebben diarrhee, veelal sterven zij dan (ZINGLE, REITSMA, REICHENSHAMMER, CERNAIANU en POPOVICI). Volgens VIANELLO wordt dit proces begunstigd door coccidiose. Vaker is het verloop echter chronisch, hierbij kunnen de dieren langzaam vermageren. Ook wel manifesteert de ziekte zich door Arthritis van een of meerdere der gewrichten van de extremiteiten, dikwijls van de vleugels (REITSMA, BECK en MEYER, BERGE, EMMEL, LAHAYE en WILLEMS, MAYER en WÜTIG, JANISCH, CLARENBURG en DORNICKX, LEGEZYNSKI, BRUNETT, LESBOUYRIES en VERGE). PFAU beschreef torticollis tengevolge van *Salmonella* infectie bij

een 5 mnd. oude duif. WüTIG nam ook bij volwassen duiven stoornissen van het evenwichtsapparaat met afwijkende kophouding en verhoogde prikkelbaarheid en schrikachtigheid waar.

Onder de volwassen dieren zijn er, die hoewel uiterlijk gezond, de bacillen met zich meedragen in den darm (SCHÜTT) of het ovarium (BRUNETT), respectievelijk in de testes (WüTIG). Verschillende auteurs toonden bij dragers agglutinenen aan; volgens SCHÜTT, BRUNETT, CLARENBURG en DORNICKX bezitten normale duiven geen of nagenoeg geen agglutinenen.

SCHÜTT onderzocht serum van 120 duiven volgens de langzame methode; het gebruikte antigeen wordt niet beschreven. Hij begon zijn verdunningen bij 1 : 50. Acht van de duiven waren positief (1 titer 1 : 50; 5 titer 1 : 100, 2 titer 1 : 200); uit allen kon de bacil na afmaken worden geïsoleerd, deels ook uit de bij het leven opgevangen excrementen. Hij beschouwt titer 1 : 50 en daarboven als positief.

BRUNETT vond titers van 1 : 40 tot 1 : 2560. Deze paste eveneens langzame agglutinatie toe, de antigeenbereiding beschrijft hij niet. Hij beschouwt titer 1 : 40 en daarboven als positief.

WüTIG agglutineerde volgens hetzelfde systeem (antigeen vermoedelijk levend). Hij onderzocht zowel spontaan als experimenteel geïnfecteerde duiven. Daar het hem bij 48 duiven met titers 1 : 80 tot 1 : 6400 gelukte de bacillen te isoleren en niet bij een geval van 1 : 40, rekent hij 1 : 80 als positief, 1 : 40 als verdacht. Hij begon zijn verdunningen bij 1 : 20.

CLARENBURG en DORNICKX verrichtten agglutinaties volgens de langzame methode bij 12 dieren uit besmet milieu. Zij gebruikten levend antigeen (mondellinge mededeeling van Dr. Clarenburg). Zij namen titers van 1 : 200 tot 1 : 6400 met *S. typhi-murium* en van 1 : 50 tot 1 : 800 met *S. paratyphi-B* waar. Uit het feit, dat door verzaadiging met *S. paratyphi-B* van 2 der hoogstwaardige sera, de titer bijkans niet werd beïnvloed, doet vermoeden, dat hier ook grofvlokkige agglutinenen aanwezig waren; zij zelf vermelden evenmin als de andere auteurs het type der agglutinatie. Acht van de 12 dieren waren positief. De titers 1 : 6400, 1 : 3200 en 1 : 1600 betroffen dieren met degeneratiehaardjes in de lever; een van deze dieren stierf spontaan.

CERNAIANU en POPOVICI onderzochten volgens de langzame methode serum van 2 experimenteel per os geïnfecteerde duiven (titers 1 : 600 en 1 : 1000) en van een spontaan geïnfecteerde uitscheider (titer 1 : 900).

JUNGHERR en WILLCOX deden serumsnelagglutinatie op de verwarmde glasplaat met een antigeen van *S. typhi-murium*, bereid volgens het principe van pullorumantigeen ¹⁾. Van 550 duiven uit besmet milieu gaven hiermede 65 een positieve reactie. Ook deelen zij mede, dat 9 maal een positieve en 12 maal een dubieuze reactie bij dergelijke duiven met *S. -pullorum* antigeen werd verkregen.

Voor de door REICHENSHAMMER verrichte agglutinaties verwijs ik naar

¹⁾ Jl. Am. Vet. Med. Assn. 82, 1933, p. 487.

bladz. 134. Ook JANISCH en WOLLÀK verrichtten agglutinaties, eveneens CERNEA.

c. *Pathologische anatomie.*

Pathologisch anatomisch is het volgende waargenomen.

Bij de jonge duiven is de bevinding meestal een enteritis, waarbij LAHAYE en WILLEMS meer in het bijzonder darmulcera beschrijven. Verder is er een neiging tot vorming van necrotische haardjes; volgens BECK en MEYER bevatten deze in hoofdzaak lymphocyten, REICHENSHAMMER toonde er echter reuzencellen en epitheloïde cellen in het aan. BEAUDETTE zag haardjes in het pancreas en de dunnedarm-wand, REICHENSHAMMER in de gezwollen lever en milt en in de long. Reeds bij dieren onder de 14 dagen zagen LAHAYE en WILLEMS arthritiden van verschillende localisatie. BEAUDETTE en RICHTERS noemen verder meningitis cerebralis, welke ook in 1895 door MOORE is beschreven.

Bij de volwassen dieren valt de neiging op tot localisatie in de gewrichten en de vorming van necrotische haardjes. Deze haardjes kunnen voorkomen in de spieren (BECK en MEYER, ZINGLE, RASCH, JANISCH, CLARENBURG en DORNICKX, REICHENSHAMMER), doch ook wel elders in het lichaam: hartspier, (WOLLÀK, JANISCH), long (ZINGLE, BECK en MEYER, JANISCH), lever (ZINGLE, MEDER en LUND, BECK en MEYER, SCHÜTT), milt (MEDER en LUND, WOLLÀK), testikels (BECK en MEYER). Ook enteritiden zijn beschreven. Hierbij noemt REICHENSHAMMER nog in het bijzonder darmzweren, die volgens hem „font toujours conclure à la paratyphose”¹⁾. MEDER en LUND, BECK en MEYER, BERGE en JANISCH noemen verder nog necrosehaardjes in de darmwand, WOLLÀK zag een diphtheroïde beslag op de darmmucosa. ZINGLE noemt ulcera in den krop. Verder beschrijven BECK en MEYER, en BRUNETT ovaria met abnormale ei-follikels zooals deze bekend zijn bij hoenders, die chronisch drager zijn van *Salmonella pullorum*.

BECK en MEYER namen enkele malen salpingitis waar.

d. *Experimenteele infectie.*

Experimenteele infecties zijn gelukt aan MOHLER door subcutane injectie, voeding en contact, vermoedelijk bij volwassen duiven. REITSMA infecteerde met succes volwassen duiven door intramusculaire en intraperitoneale injectie. Een halfwassen duif doodde hij door infectie per os, 2 volwassen duiven overleefden deze. MEDER en LUND infecteerden een volwassen duif per os (3 dagen achtereen), die na 20 dagen stierf. LAHAYE en WILLEMS infecteerden jonge dieren van 1 à 10 dagen subcutaan en per os.

¹⁾ Volgens mondelinge mededeeling en demonstratie van den Heer Van Haselen is vijf maal in 1934 door hem aan het Instituut onder duiven enoötisch optredende enteritis met darmzweren als hoofdsymptoom waargenomen, waarbij *Salmonella*-infectie uit te sluiten is; de oorzaak van dit lijden is niet vastgesteld.

Met deze dieren verwekten zij tevens door contact de ziekte bij gezonde leeftijdgenooten. Halfwassen en volwassen exemplaren waren door hen per os niet te doodden. BECK infecteerde jonge duiven per os, intralaryngeaal, conjunctivaal en rectaal. MAYER en WÜTIG konden bij jonge en volwassen duiven door infectie per os geen ziekte opwekken. Wel had een injectie in een gewricht een locale arthritis tengevolge.

WÜTIG (1931) echter zag 2 jonge duiven 10 en 20 dagen na voederinfectie sterven. Bij 3 jonge duiven ontwikkelden zich geen klinische verschijnselen, bij één ontstond arthritis in aansluiting aan infectie per os. Vier oude duiven werden na infectie per os niet ziek, wel werden agglutinenen gevormd (titers 1 : 100 tot 1 : 1600). Intrapulmonale en intranasale infectie gelukte hem niet. Door voederinfectie wist hij de cyclus via het ei op te wekken. Een paar duiven werd vier weken vóór de bronst geïnfecteerd. De jongen van deze dieren stierven aan *S. typhi-murium*-infectie op den leeftijd van 3 dagen. Bij afmaken isoleerde hij de bacillen uit ovarium en testes. Een ander paar zoodanig besmette duiven legde eieren, waaruit *S. typhi-murium* werd gekweekt.

Aan CASH en DOAN gelukte voederinfectie bij volwassen duiven, CERNAIANU en POPOVICI infecteerden 2 jonge duiven per os doodelijk en wekten door voeding van culturen bij 2 volwassen dieren een agglutinatie-titer op van 1 : 600 resp. van 1 : 1000. Kunstmatige infecties met duivenstammen gelukten niet aan RICHTERS en aan BECK en MEYER.

Verder zijn kunstmatige infecties verricht met niet van duiven afkomstige stammen. ADAM en MEDER (1912) infecteerden een duif intraveneus met een voor de muis voederpathogene paratyphus-B uit een kanarievogel, vermoedelijk dus *S. typhi-murium*. Er ontwikkelden zich haarden in de borsmusculatuur, enteritis en zwelling van lever en milt. REINHOLDT (1912) infecteerde duiven met vleeschvergiftigers. Met een paratyphus „B” (*S. typhi-murium*) waren 3 maanden oude duiven zoowel door intraveneuse als door intraperitoneale injectie te doodden; een 1 jaar oude duif werd door subcutane infectie gedood, een 3 jaar oude duif door intramusculaire infectie (binnen 24 uur). Een 3 jaar oude postduif, die van te voren 5 dagen had gevast en ook nog gedurende de infectie vastte, ontving 2 dagen achtereen cultuur per os en stierf 5 dagen later. Ook met een *S. enteritidis*-cultuur gelukte infectie intraveneus en intraperitoneaal. Een subcutaan geïnfecteerde duif werd ziek maar herstelde. Een jong dier stierf 24 uur na infectie per os, terwijl een volwassen dier deze infectie overleefde.

KOSMODEMJANSKY (1929) verrichtte met van den mensch afkomstige *S. paratyphi-B* stammen infectie per os op de nuchteren maag bij volwassen duiven. Grootte doses doodden de duiven tusschen 11 en 16 uur, kleine dose-

ringen gaven vermagering en diarrhee, soms kreupelheid (van 50 dieren sterven er 23). Gelukte het bij de acuut gestorven dieren steeds de bacillen in het bloed aan te toonen, bij de na een chronisch lijden gestorven duiven gelukte dit zelden; wel vond men dan de bacillen in de darmen. Hier zij opgemerkt, dat bij *S. paratyphi-B* infectie van muizen dit verschijnsel ook bekend is ¹⁾. In het serum van chronische lijdens vond hij agglutinen tot een titer van 1 : 400, na 4 weken bereikte de titer zijn maximum; ook bevatte het bloed bacteriolytinen. Een duif, die hij met een *S. typhi-murium* cultuur per os infecteerde, stierf na 48 uur.

WÜTIG gelukte het door intraarticulaire infectie met *S. paratyphi-B* en *S. enteritidis* cultuur in tegenstelling met infectie met *S. typhi-murium* cultuur, niet arthritis op te wekken. REICHENSHAMMER voederde aan 4 jonge duiven *S. enteritidis*-cultuur, 1 van deze diertjes kreeg een arthritis tarsi en stierf na 14 dagen. Volwassen duiven kon hij met deze cultuur op geen enkele wijze infecteren.

Het is dus aan verschillende auteurs mogen gelukken zoowel volwassen als jonge duiven kunstmatig met *Salmonella* te infecteren.

d. Natuurlijke infectie.

Wat de natuurlijke infectie betreft, hierbij moeten wij gezien de gegevens uit de literatuur, rekening houden met de volgende feiten.

Voor zoover de ziekte van de volwassen duif niet zal zijn voortgekomen uit een infectie in de jeugd, zal zij in hoofdzaak geschieden door opname van excrementen van een bacillenscheider. Een waarneming van REICHENSHAMMER, al interpreteert hij haar zelf anders, wijst in die richting.

WÜTIG noemt de mogelijkheid, dat deze infectiewijze tot stand zou komen bij het versturen van reisduiven van verschillende eigenaren in één mand, of het versturen van op elkaar gestapelde duivenmanden met doorlaatbare bodems. Zijn ervaring is, dat deze ziekte zich in het begin van het „reis“-seizoen sterk pleegt uit te breiden. Op grond van gelukte kunstmatige infecties via de cloaca vermoeden BECK en MEYER, dat ook de coitus bij de infectie een rol kan spelen. Daar duiven paarsgewijze leven, zal deze infectievorm toch altijd minder belangrijk zijn, dan die met door faeces besmet voedsel en drinkwater of wel misschien door inhalatie van stof in overbevolkte vuile hokken ²⁾. Bij dezen laatsten vorm stelt BECK zich lymphogene verspreiding van de neuskeelholte uit voor; mogelijk dat ook hierbij conjunctivale infectie in het geding komt.

Infectie van de jonge duiven zal zijn oorsprong kunnen nemen:

1. Uit een besmet ei; BEAUDETTE kweekt den bacil o.m. uit de dooierrest van gestorven nestduiven, CLARENBURG en DORNICKX vonden den bacil in

¹⁾ zie: Elkeles, Ergebnisse der Hygiene 11, 1930, p. 68.

²⁾ Voor de resistentie van *Salmonella* in stof gedurende 2 jaar zie BRUCE WHITE in A System of Bacteriology Vol. 4, 1929, p. 92; ook wat betreft resistentie in water. Vermeld zij hier nog, dat het LANGE (Zschr. f. Hyg. 102, 226 (1924) gelukte met 1 millioenste oese 3 weken in leidingwater bewaarde *S. typhi-murium*, cultuur muizen intraperitoneaal doodelijk te infecteren.

6 van 200 eieren uit een besmet milieu, zij kweekten evenals BRUNETT de bacil ook uit het ovarium.

2. Door contact met de eventueel besmet geboren nestmakker: LAHAYE en WILLEMS wekten bij zeer jonge duiven experimenteele contactinfectie op.

3. Van besmette ouderdieren bij voeren uit den krop (kropzweer, ZINGLE), vermoedelijk zelden.

4. Door bezoedeling van de gevoerde kropinhoud der ouden met besmet voedsel of drinkwater.

5. In overbevolkte en vuile hokken mogelijk ook door inademing van stof of bezoedeling der slijmvliezen daarmee.

f. Vaccinatie-proeven.

Door enkele auteurs zijn vaccinatieproeven bij duiven verricht.

BECK en MEYER (1926) bereidden een verhit *S. typhi-murium* vaccin (2 uur bij 60°) en spoten daarmee 12 zieke duiven 3 maal intramusculair in. Na de 2e enting moesten 2 duiven, waarvan de toestand verergerde, worden afgeemaakt. De andere genazen, maar konden niet meer vliegen. Ook entten zij in een besmet milieu 16 uiterlijk gezonde duiven intramusculair. Tusschen de 3 en 15 dagen na de enting zijn 3 gevaccineerde dieren ziek geworden. De enting werd toen nog eenmaal herhaald. 5 dagen daarna stierf nog 1 gevaccineerde duif; 13 niet geënte contrôles bleven gezond. In een derde populatie van 40 deels zieke dieren entten zij ook zonder enig resultaat. Zij zelf zijn er dan ook van overtuigd, geen succes te hebben gehad. Tevens wijzen zij er op, dat men bij de beoordeeling van dergelijke proeven rekening er mede moet houden, dat spontane infectie van volwassen duiven maar bij 20 à 25 % aanslaat.

KOSMODEMJANSKY (1929) immuniseerde per os, met 1 uur bij 58° C. verhitte afgeschudde agar cultuur van *S. paratyphi-B*, toegediend op de nuchte ren maag. Zoo gaf hij aan 10 vastende duiven op 1 dag in 4 voedingen 1750 miljoen bacillen. Deze dieren vermagerden hierdoor allen sterk, 4 duiven stierven in de eerste 3 dagen na de vaccinatie. De overige, benevens 2 contrôles, werden na 21 dagen per os geïnfecteerd met levende cultuur. Van de gevaccineerden stierf er 1 na een maand, de anderen overleefden de infectie. De 2 contrôles waren na 24 uur al gestorven. Een 2e groep bestond uit 9 duiven, waarvan er 3 gedurende 3 dagen achtereen, 3 gedurende 2 dagen, en 3 gedurende 1 dag, per os op dezelfde wijze werden gevaccineerd. Deze dieren werden in 3 groepen resp. 6, 9 en 12 dagen na de vaccinatie geïnfecteerd en stierven alle binnen 3 weken. Verder vaccineerde hij 20 duiven met een *S. paratyphi-B* vaccin voor menselijk gebruik; hiervan stierven er 4 tengevolge van intoxicatie. De overigen werden na 33 dagen geïnfecteerd tegelijk met 10 contrôles. De sterfte der gevaccineerden bedroeg 6 (1, 1, 1, 1, 1, 5 dagen), van de contrôles 2 (1, 1 dag). Na herinfectie tesamen met nieuwe contrôles 41 dagen na de vaccinatie stierven van de 4 resterende gevaccineerden 2, van de 4 contrôledieren 4. De per os gevaccineerde dieren in deze groepen bleken vóór de infectie in hun serum geen agglutinenen te bezitten, ook beschutte hun serum de muis niet tegen infectie. De proef van PFEIFFER was negatief. Wel treden na de infectie bij de gevaccineerde dieren de agglutinenen sneller op en bereiken hooger titer dan bij de contrôles (gevaccineerden 1 : 1000, contrôles 1 : 200), ook krijgt het serum na de infectie voor de muis beschuttende kracht.

WÜTIG diende bij dieren met acute ontstekingsverschijnselen aan het elleboogsgewricht therapeutisch intramusculaire injecties toe van vaccin, dat bereid was door een normaal-osee agarcultuur in 10 ccm. physiologische keukenzoutoplossing te verdeelen en daarna 30 minuten bij 56° C. te verhitten. Elke 14 dagen werd dit in een dosis van 2 ccm. geïnjecteerd, 6 à 7 weken na de eerste injectie werd bij 33 duiven waargenomen, dat de agglutinatietiter van 1 : 6400 à 1 : 400 tot beneden 1 : 20 was gedaald, de gewrichten herstelden zich en de dieren waren soms zelfs weer in staat aan wedvluchten deel te nemen. Chronische aandoeningen behandelde hij niet op deze wijze.

VIANELLO entte in een besmet milieu, waar tevens Coccidiose heerschte, de gezonde duiven met een aggressine-vaccin, dat hij bereidde door bij caviae intraperitoneaal bouilloncultuur in te spuiten en het vocht uit de buikholte kort voor den dood in bouilloncultuur af te tappen. Aan deze vlocistof werd 0.75% Carbolzuur toegevoegd en het vaccin daarna 24 uur in de broedstroof geplaatst. Met een tusschenruimte van 7 dagen werd bij de duiven 0.5 ccm. subcutaan ingespoten (2 maal). De zieke exemplaren waren eerst verwijderd, de hokken werden tevens ontsmet en 0.2 % ijzersulfaat aan het drinkwater toegevoegd. Daarna hield de sterfte op. In hoeverre de hygiënische maatregelen hierbij een hoofdrol gespeeld hebben, is niet meer na te gaan.

LESBOUYRIES en VERGE (1932) raden een preventieve vaccinatie aan met afgeschudde 45 minuten bij 58° C. verhitte agar-cultuur intramusculair, zoo noodig de enting na 8 dagen herhalen. Zij hebben hiermee in een zeker aantal fokkerijen, waar de ziekte zich nog maar weinig had uitgebreid, goede resultaten meenen te bereiken. Vermoedelijk zullen zij tegelijkertijd ook positief agglutinerende dieren hebben verwijderd, wat zij tevens aanraden. Hierdoor is het effect van de vaccinatie moeilijk te beoordeelen. Als er onder de volwassen dieren diarrhee heerscht, kan volgens hen de vaccinatie geen resultaat meer geven.

CERNAIANU en POPOVOCI (1933) vaccineerden 5 dieren per os met gal vooraf; 3 ervan overleefden een voor de contrôles doodelijke infectie. Van 5 intramusculair geënte dieren overleefden 4 deze infectie; terwijl de contrôles binnen de 5 dagen stierven, succombeerde de gevaccineerde duif 18 dagen later. Op een til waar de ziekte heerschte, werden 16 duiven 1 maal intramusculair geënt. De sterfte hield op. Een duif, die vóór de vaccinatie was verkocht en terug kwam vliegen, werd na 2 weken verblijf op de oude til ziek en stierf 10 dagen later aan paratyphus. De infectiebron was dus door de enting niet opgeheven.

BERDICEK (1934) entte subcutaan met een bij 58° C. verhitte cultuur en 10 dagen later met 0.2 ccm. levende cultuur. Ook entte hij met een gesensibiliseerd vaccin, dat beter verdragen werd (0.1 à 0.2 ccm.) en 10 dagen later 0.2 ccm. levende cultuur. BELLNER, die het Hongaarsche artikel refereert, vermeldt geen verdere bijzonderheden.

Ik moet hie nog een enkel woord wijden aan het proefschrift van REICHENS-HAMMER (Alfort-Parijs 1932), dat behandelt „La paratyphose du pigeon et son traitement“. In de eerste plaats zij er op gewezen, dat hij de verdunning van zijn agglutinatiesera bepaald heeft met druppels serum, die hij voor 1/20 ccm. rekende zoowel onverdund als verdund, hierbij de viscositeit verwaarloozend, en dat hij met deze onnauwkeurige methode verdunningen maakte tot 1 : 10000.

Erger is, dat hij uitgaat van de volgende hypothese: Gärtnerantigeen geeft met een hoogwaardig Gärtner serum een agglutinatie van 1 : 6000 à 1 : 20000 en met een hoogwaardig Aertrycke serum (titer 1 : 40000) maar tot 1 : 150 à 1 : 600, met een Schottmüller serum (titer 1 : 20000) tot 1 : 150 à 1 : 800. Vindt hij nu een duif, waarvan het serum met een Gärtnerantigeen agglutineert tot 1 : 500, dan zegt hij: „Le bacille mis en cause est sans doute le bacille Aertrycke ou celui de SCHOTTMULLER, le bacille de GAERTNER étant agglutiné a un taux plus élevé”. Hij heeft steeds de duivensera alleen geagglutineerd met een Gärtnerantigeen, terwijl de uit duiven gewonnen stammen nooit volledig gedetermineerd zijn. Het is daarom niet mogelijk uit te maken met welke infectie hij te maken had, maar, aangenomen dat bij zijn systeem van agglutinatie geen ernstige fouten zijn begaan, doet het voorkomen van titers als 1 : 3300 en 1 : 5000 bij zieke dieren vermoeden, dat in Parijs ook *S. enteritidis*-infectie onder de duiven voorkomt. CLARENBURG en DORNINCKX immers vonden bij chronisch zieke duiven met *S. typhi-murium* infectie titers van 1 : 6400 en 1 : 2300 ten opzichte van *S. typhi-murium* antigeen; deze sera gaven met *S. enteritidis* antigeen geen agglutinatie ¹⁾.

REICHENSHAMMER vaccineerde in de praktijk met een vaccin, bereid uit een 24 uur gegroeide cultuur (vermoedelijk in een vloeibaar medium), die 45 min. bij 98° C. werd verhit. Hij spoot eenmaal intramusculair in en meende verbetering van patiënten en niet doorzetten van sterfte aan zijn vaccinatie te moeten danken. Slechts één geval zij hier genoemd, omdat dit een aardig voorbeeld van de overbrenging der ziekte geeft en tevens een der vele merkwaardige denkfouten van dezen auteur demonstreert. In dit geval deed een stockvaccin (Gärtner) een sterfte onder duiven niet tot staan komen. De ziekte was hier ontstaan door aankoop van een duif met gewrichtslijden. Nu werd deze duif gedood en de overige dieren opnieuw behandeld, maar met een auto-vaccin. De sterfte kwam tot staan. REICHENSHAMMER concludeert hieruit een betere werking van de 2e vaccinatie dan van de 1e. Wij moeten echter voorop stellen bij de beoordeeling van zijn proeven, dat verbetering van gewrichtslijden zoowel als van den algemeenen toestand van magere en zieke dieren ook spontaan kan voorkomen en dat het begrijpelijk is, dat een enzoötie tot staan wordt gebracht als de bacillenuitscheider is geëlimineerd. In het algemeen is de beoordeeling van zijn proeven niet wel mogelijk door alle gebrek aan contrôles, daarom wil ik van verdere gedetailleerde besprekingen afzien.

Samenvatting :

De in de literatuur beschreven subcutane en intramusculaire vaccinaties zijn deels verricht met therapeutische bedoeling (BECK en MEYER, WÜTIG), deels verricht in de praktijk dikwijls zonder contrôles, waardoor het resultaat moeilijk is te beoordeelen en soms een gunstigen (VIANELLO) soms een ongunstigen indruk (BECK en MEYER) geeft. De perorale vaccinatie, zooals deze door KOS-

¹⁾ Het is zelfs ernstig de vraag of de door REICHENSHAMMER gebruikte „Gärtner”-bacil wel *S. enteritidis* en geen *S. derby* was.

MODEMJANSKY werd toegepast, gaf een zeer wisselend resultaat en was toxisch voor de duiven (sterfgevallen, ook daar waar de resterende duiven niet verhoogd resistent waren), de ervaringen van CERNAIANU en POPOVICI daarentegen zijn gunstiger.

Eigen onderzoek.

a. Castuïstiek.

Over verbreiding van Salmonellose onder de duiven in Nederland vindt men in de literatuur het volgende. Het is van belang, dit hier te vermelden in verband met de eigen waarnemingen.

REITSMA (1924) heeft een uitbraak bij 1 duivenfokker beschreven. CLARENBURG en DORNICKX (1932) vermelden een verbreiding onder militaire postduiven, die zij waarnamen in het Rijks-Postduiven Station te 's-Gravenhage en mogelijk in dat te Delft, dus in 2 populaties. De stam van REITSMA, die voor de muis voederpathogeen was, is door FRENKEL en CLARENBURG op niet nader door REITSMA aangegeven wijze gedetermineerd als „Paratyphus-B". De stammen, die CLARENBURG en DORNICKX isoleerden, waren alle *S. typhi-murium*

Blijkens de Verslagen van de Werkzaamheden der Rijksseruminrichting is daar de ziekte in de laatste jaren talrijke malen post mortem gediagnostiseerd. Zoo vermeldt het Verslag over 1932, dat 26 van 65 duiven aan paratyphus bleken te hebben geleden. In 1933 werd bij 9 van 56 duiven de diagnose paratyphus gesteld. Uit deze verslagen blijkt niet of het type hierbij is vastgesteld en van hoeveel eigenaren deze dieren afkomstig zijn.

Het uitgebreidste materiaal op het gebied van duivenziekten wordt in Nederland verzameld door het Instituut voor Parasitaire- en Infectieziekten der Rijks-Universiteit te Utrecht, daar aan dit Instituut niet alleen cadavers en dieren, die bedoeld zijn om ten behoeve van het onderzoek te worden gedood, worden onderzocht, maar ook zieke duiven ter behandeling worden opgenomen.

Van 1 Januari 1933 tot 1 September 1935 werden aan het Instituut ontvangen 373 inzendingen van 300 duiveneigenaren en 21 duiven van de Kliniek voor Kleine Huisdieren. Van deze 300 eigenaren waren 295 woonachtig in Nederland, 1 in Ned. Oost Indië, 3 in Duitschland en 1 in België.

353 van deze inzendingen omvatten 458 duiven en wel 237 cadavers en 221 levende dieren, van welke laatsten er verschillende ten behoeve van het onderzoek zijn afgemaakt dan wel tijdens de verpleging zijn gestorven. 20 inzendingen bestonden uit materiaal afkomstig van

duiven (bijv. afgetapte synovia, duivenveeren, braaksel van een duif, duiveneieren, faeces, parasieten enz.).

55 inzendingen van 48 eigenaren (waarvan 1 woonachtig in Duitschland) betroffen *Salmonella* infectie.

Deze inzendingen omvatten:

23 doode duiven

46 levende duiven, waarvan:

9 gestorven tijdens de verpleging

17 afgemaakt ten behoeve van het onderzoek of op verzoek van de eigenaren na het stellen van de diagnose gedood.

2 monsters synovia uit ontstoken gewrichten.

Uit 49 duiven, waarvan 47 afkomstig van 35 duiveneigenaren en 2 als proefduif door het Instituut uit den handel betrokken, werd 48 × *Salmonella typhi-murium* en 1 × *Salmonella enteritidis* var. *dublin* geïsoleerd en wel:

27 × uit hart en organen van gestorven dieren (2 × tevens uit een gewricht, 1 × tevens uit een testikel).

15 × uit gewrichtsinhoud van 5 afgemaakte en 10 levende dieren (w.o. 2 ingestuurde monsters synovia); (2 × tevens uit de nieren, 1 × tevens uit de lever).

1 × uit lever en nier van een afgemaakte duif met chronische arthritis (niet uit het gewricht).

1 × uit lever dito.

1 × uit de lever van een duif, gestorven aan salpingitis.

1 × uit testikel en darminhoud (haemorrhagisch) van een gestorven duif (niet uit de andere organen).

1 × uit de nieren van een afgemaakte duif met chronische vermagering.

1 × uit milt en lever van een door miltruptide gestorven dier

1 × uit faeces (*S. ent.* var. *dublin*).

Bij 13 van de dieren, waaruit *Salmonella typhi-murium* is geïsoleerd werd het bloedserum op agglutininen ten opzichte van deze bacil onderzocht¹⁾. Bij 7 dieren, die lijdende waren aan arthritis.

¹⁾ De agglutinatieproef werd verricht volgens de langzame methode in buisjes. Als antigeen werd gebruikt een 24 uur gegroeide agarcultuur, afgeschud met physiologische keukenzoutoplossing (al dan niet met 0.5% carbolzuur) en zoover verdund, dat een zware streep, met blauw potlood op wit papier getrokken, achter de reageerbuis gehouden, door het erin aanwezige antigeen heen even zichtbaar was. Gelijke deelen van dit antigeen werden aan het met physiologische keukenzoutoplossing verdunde serum toegevoegd met een pipet van een totale inhoud van

werd gevonden een titer van $3 \times 1 : 80$, $1 \times 1 : 100$, $2 \times 1 : 320$, $1 \times 1 : 640$ (geënt geweest met Arthritol). Bij 4 duiven met arthritis, waarbij *S. typhi-murium* werd geïsoleerd, konden bij verdunning $1 : 10$ geen agglutinenen worden aangetoond. Bij 1 dier met enteritis was de titer op den dag voor het sterven $1 : 200$. 1 dier met geringe ataxie en vermagering had een agglutinatietiter van $1 : 160$, een maand later was deze negatief, na $1\frac{1}{2}$ maand stierf het dier, sectie levercirrhose, de bacil werd in de lever aangetoond.

Van 8 andere dieren door deze eigenaren ingezonden waarbij *Salmonella* niet is aangetoond, waren 5 lijdende aan Arthritis, 3 van deze gaven een positieve agglutinatie, titers $1 : 320$, $1 : 400$, $1 : 800$, (de beide laatsten waren geënt geweest met Arthritol). 3 waren lijdende aan vermagering al dan niet met diarrhee, het serum van 1 van deze gaf agglutinatie tot een titer van $1 : 100$.

In totaal werd bij de dieren van deze eigenaren waargenomen:

26 \times Arthritis bij 25 individuen:

19 \times van de Articulatio cubiti.

2 \times van de Articulatio carpi.

3 \times van de Articulatio humeri.

1 \times van de Articulatio tarsi.

1 \times van de Articulatio metacarpo-phalangea.

18 \times Enteritis (2 \times bij duiven van 14 dagen

1 \times bij 1 duif van 6 weken.

2 \times bij halfwassen (z.g. jonge) duiven).

Verder werd nog bij sectie waargenomen:

11 \times degeneratie en zwelling van de parenchymateuse organen (1 \times bronslever).

3 \times hypertrophische levercirrhosis.

3 \times fibrineuse peritonitis.

2 \times fibrineuse peri- en epicarditis.

4 \times necrotische hardjes in de lever (2 \times bij 14 dagen oude duiven).

1 \times necrotische hardjes in lever en milt (bij een dier met arthritis cubiti, dat na langdurige observatie spontaan is gestorven).

1 \times necrotische hardjes in milt en nieren.

0.2 ccm. met een onderverdeeling in eenheden van 0.002. Verdunningen werden ingesteld vanaf $1 : 10$ (als geen voldoende serum hiertoe aanwezig was vanaf $1 : 20$) tot minstens $1 : 640$. De reactie werd afgelezen nadat de buisjes 1 nacht bij een temperatuur van 37° C. hadden verbleven.

- 2 × necrotische haardjes in de long (14 d. oude dieren).
- 2 × genecrotiseerde testikel (cultuur positief).
- 1 × salpingitis-peritonitis met eiconcrement in de salpynx.
- 1 × verbloeding na miltruptuur.
- 1 × gastritis traumatica annex peritonitis.
- 1 × pneumonie en luchtzakontsteking.
- 1 × sterk gezwollen kop met ontsteking van de conjunctivae.

De laatste 4 bevindingen zijn van toevalligen aard; miltruptuur met verbloeding is niet zeldzaam bij duiven, in het beschreven tijdvak werden nog 4 dergelijke gevallen waargenomen, waarbij geen *Salmonella*-infectie werd aangetoond.

Twee der individuen waren duiven van circa 14 dagen oud uit een beslag, waar massale sterfte onder de nestjongen heerschte; het jaar daarvoor was *S. typhi-murium* infectie bij een volwassen doode duif vastgesteld; door den eigenaar waren naar aanleiding daarvan geen maatregelen genomen.

Hier zij opgemerkt, dat uit gestorven duiven steeds uit hart en organen, op agar en in bouillon, cultures op de gewone wijze werden aangelegd. Bij afgemaakte duiven echter werden stukjes lever en nier ter grootte van 1 à 2 ccm., de geheele milt en enkele oesen hartebleed en het geheele ovarium dan wel beide testes in bouillon geënt.

Daar spontane *S. enteritidis* var. *dublin* infectie bij duiven nog niet eerder beschreven is, dient hierbij even te worden stilgestaan. De stam werd geïsoleerd uit groene brijige faeces van een halfwassen (z.g. jonge) duif van een eigenaar, op wiens hok totaal 3 dieren ziek waren, waarvan reeds één dier was gestorven (niet voor onderzoek ontvangen). De ziekte trad plotseling op, de aangetaste duiven hadden allen groene diarrhee. De beide dieren zijn spontaan hersteld (de onderzochte duif heeft denzelfden zomer met succes aan 4 prijsvluchten tot en met Orleans deelgenomen); arthritiden of sterfte onder jongen zijn nadien niet opgetreden (schriftelijke mededeeling van den eigenaar ongeveer een jaar na de waarneming).

Verder werden nog van andere eigenaren 17 duiven geobserveerd, die lijdende waren aan Arthritis van een der vleugelgewrichten, waarbij het niet gelukte door cultuur uit de synovia de *Salmonella*-infectie vast te stellen, of, gezien het karakter van het proces, punctie niet mogeijk was. Van 13 van deze duiven werd tevens de agglutinatie ten opzichte van *Salmonella typhi-murium* verricht. Bij 8 was deze reactie positief; titers: 1 x 1 : 40; 1 x 1 : 60, 3 x 1 : 80, 1 x 1 : 160, 1 x 1 : 200, 1 x 1 : 320. Bij het dier, dat een titer 1 : 40 had, was de agglutinatie 18 dagen tevoren negatief (acute muco-purulente arthritis). Bij 5 was de agglutinatie negatief. Bij 4 werd sectie verricht met negatief resultaat. 9 werden door de eigenaars terug verlangd.

Hierbij zij opgemerkt, dat in de gevallen, waarbij de bacil in het ontstoken gewricht wel is vastgesteld, deze daarin meestal spaarzaam voorkomt en soms eerst na herhaald onderzoek werd vastgesteld, waarbij bleek dat het aanbeveling verdient, de synovia niet direct op Gassnerplaten uit te strijken, maar eerst bouilloncultuur aan te leggen. Ook deze duiven blijven ernstig verdacht.

Bij 8 duiven werd wegens de klacht traag of scheef vliegen of niet medekomen met wedvluchten agglutinatie verricht. Resultaat traag vliegen: 2 x 1 : 20, 1 x 1 : 320, 1 x negatief. Scheef vliegen: 1 x negatief. Niet medekomen: 3 x negatief. Al deze duiven zijn afgemaakt, de cultures waren negatief. Bij een duif met een dikken hak (huid en subcutis) en 1 met een cyste nabij het carpaalgewricht, afkomstig van een zelfden eigenaar, werd op verzoek agglutinatie verricht met negatief resultaat; cultures na afmaken negatief. Ook werden 14 duiven wegens vermagering, al dan niet gepaard gaande met diarrhee, onderzocht; 3 van deze gaven positieve agglutinatie titers: 2 x 1 : 40, 1 x 1 : 80 (1 afgemaakt, cultuur —); van 11 was de agglutinatie vanaf 1 : 10 negatief. Cultures uit de faeces werden niet aangelegd. Bij 2 duiven, die tengevolge van een ander lijden (trichomoniasis) stierven, was bij het leven 2 x titer 1 : 80 vastgesteld; cultuur negatief (techniek als bij gestorven dieren).

Van 10 positieve sera van de voorbesproken duiven (titers van 1 : 80 tot 1 : 640) en van 17 negatieve sera werd tevens agglutinatie verricht met *S. enteritidis* var. *dublin*, steeds met negatief resultaat.

Conclusies:

1. Herhaalde malen is spontane *Salmonella* infectie aan het Instituut voor Parasitaire en Infectieziekten, bij duiven geconstateerd.
2. De waargenomen klinische en pathologisch anatomische verschijnselen komen overeen met hetgeen in de literatuur bekend is.
3. De meest voorkomende verwekker is *Salmonella typhi-murium*.
4. Eenmaal is echter ook *Salmonella enteritidis* var. *dublin* als oorzaak van spontane ziekte vastgesteld. Deze is nog niet eerder in de literatuur als spontane infectie bij duiven beschreven.

b. Methode en beoordeling van de agglutinaties.

I. Methode.

1. Langzame methode.

Aanvankelijk werd gebruik gemaakt van antigeen, dat gedood werd door toevoeging van 0.5% carbol en 2 uur plaatsen bij 37° C.¹⁾ Het

¹⁾ De antigenen werden op dikte gebracht door vergelijken met een blauwe potloodstreep, deze concentratie komt overeen met 10x buisje no. 1 van Mac Farland's nephelometer.

bleek reeds dadelijk, dat de agglutinatie bij de duiven van overwegend korrelig type was, slechts zelden werd en wel alleen bij de sera met de hoogste titers tevens geringe flocculaire agglutinatie alleen in de laagste verdunningen waargenomen. Aangezien bij 3 sera van dieren, waarbij de bacil was aangetoond, de agglutinatie vanaf 1 : 10 negatief was, werd gevreesd dat de verkeerde wijze van dooden het resultaat bij aflezing had gedrukt. Daarom werd overgegaan tot agglutinatie met levend antigeen. Echter bleek ook hiermede, dat dragers soms bij 1 : 10 een negatieve reactie kunnen geven. Overwogen werd, dat indien men gedood antigeen zou willen gebruiken hiervoor het beste zou kunnen worden toegepast een systeem, dat de agglutinatie niet beïnvloed, b.v. alcohol antigeen zooals DAVID dit heeft aangegeven of het duurzame alcohol antigeen vlg. BIEN-GARDNER. In het eerste geval worden uitgcentrifugeerde bacillen in alcohol 96% opgeschud en 24 uur bij kamertemperatuur bewaard, waarna de alcohol wordt weggewasschen en de bacillen in physiologische keukenzoutoplossing gesuspenderd. De bereiding van het BIEN-GARDNER antigeen berust op het principe, dat carbol geen invloed heeft bij bacillen suspensies, waar de geesels in zijn verwoest. De agar-cultuur wordt hiervoor met physiologische keukenzoutoplossing, waaraan 0.5% carbolzuur is toegevoegd, afgeschud; per agarbuisje neemt men 1 à 2 ccm. vloeistof. Aan deze dichte suspensie wordt een 1/3 van het volumen aan alcohol (96%) toegevoegd. Daarna wordt het antigeen 24 uur in de broedstroof geplaatst en vervolgens gefiltreerd. Het filtraat is vóór het gebruik 5 à 6 maal te verdunnen; het heeft den naam wekenlang bij kamertemperatuur houdbaar te zijn.

In enkele series werden deze antigenen, en tevens verhit antigeen (60° C.) en carbolantigeen, met levend antigeen vergeleken; al deze antigenen werden bereid met denzelfden *S. typhi-murium* stam (56').

1.		Carbol antigeen (Versch)		Levend antigeen.	
		Na 2 uur	Na 24 uur	Na 2 uur	Na 24 uur
Serum duif 520	1 : 10	±	+++	+++	+++
	1 : 20	±	+++	+++	+++
	1 : 40	-	±	+++	+++
	1 : 80	-	-	+	+
	1 : 160	-	-	-	±
	1 : 320	-	-	-	-
	1 : 640	-	-	-	-

		Carbol antigeen (Versch)		Levend antigeen	
		Na 2 uur	Na 24 uur	Na 2 uur	Na 24 uur
		Serum duif 521	1 : 10	+++	+++
	1 : 20	+++	+++	+++	+++
	1 : 40	-	+	+	+++
	1 : 80	-	-	±	+++
	1 : 160	-	-	-	++
	1 : 320	-	-	-	-
	1 : 640	-	-	-	-

Contrôle: serum negatieve duif 566 met beide antigenen negatief. (+++zwaar korrelig neerslag met opheldering, ++ duidelijk korrelig neerslag met opheldering, + dito met gedeeltelijke opheldering, ± gering neerslag geen opheldering).

Conclusie:

Versch carbol antigeen geeft een even snelle maar minder heftige en hooge reactie dan levend antigeen.

2.		Carbol antigeen (5 dagen oud; koelkast)		Verhit antigeen (1½ uur 60° C 5 dagen oud; koelkast)		Levend antigeen	
		na 2 uur	na 24 uur	na 2 uur	na 24 uur	na 2 uur	na 24 uur
		Serum duif 520	1 : 10	-	++	-	++
	1 : 20	-	++	-	++	+++	+++
	1 : 40	-	+	-	+	+++	+++
	1 : 80	-	-	-	-	+	+
	1 : 160	-	-	-	-	±	+
	1 : 320	-	-	-	-	-	-
	1 : 640	-	-	-	-	-	-
Serum duif 521	1 : 10	-	++	-	++	+++	+++
	1 : 20	-	++	-	++	+++	+++
	1 : 40	-	+	-	+	+	+++
	1 : 80	-	-	-	-	±	++
	1 : 160	-	-	-	-	-	+
	1 : 320	-	-	-	-	-	-
	1 : 640	-	-	-	-	-	-

Contrôle: serum negatieve duif 556 met alle 3 antigeen negatief.

Conclusie:

Carbol antigeen en bij 60° C. verhit antigeen 5 dagen bewaard in de koelkast geven een langzamere en minder hooge reactie dan

levend antigeen; de werking van het carbol antigeen is langzamer geworden dan het versche, de titers bleven gelijk.

3.

		Alcohol antigeen (DAVID) versch.		BIEN-GARDNER antigeen (versch).		Levend antigeen	
		na 2 uur	na 24 uur	na 2 uur	na 24 uur	na 2 uur	na 24 uur
Serum duif 520	1:10	+	+++	?	++	++	+++
	1:20	+	+++	?	++	++	+++
	1:40	-	±	-	-	-	++
	1:80	-	-	-	-	-	-
	1:160	-	-	-	-	-	-
	1:320	-	-	-	-	-	-
Serum duif 521	1:10	±	+++	?	+++	++	+++
	1:20	-	+++	?	+++	++	+++
	1:40	-	±	-	±	±	++
	1:80	-	-	-	-	-	±
	1:160	-	-	-	-	-	-
	1:320	-	-	-	-	-	-
	1:640	-	-	-	-	-	-
Serum duif 845	1:10	++	+++	±	+++	++	+++
	1:20	+	+++	-	+++	++	+++
	1:40	±	+++	-	+	++	+++
	1:80	-	+++	-	-	+	++
	1:160	-	±	-	-	+	+
	1:320	-	-	-	-	-	-
	1:640	-	-	-	-	-	-

Contrôle: serum negatieve duif 556 met alle 3 antigenen negatief. (? = dubieus).

Conclusie:

Versch bereid alcohol antigeen vlg. DAVID zoowel als vlg. BIEN-GARDNER geven langzamere en iets minder hoge reactie dan versch antigeen; het (niet lang houdbare) alcohol-antigeen vlg. DAVID is beter dan het vlg. BIEN-GARDNER.

4. 14 dagen later, BIEN-GARDNER's antigeen bij kamertemperatuur bewaard is nog goed, dat vlg. DAVID bewaard in de koelkast is spontaan uitgevlokt.

	BIEN-GARDNER antigeen		Levend antigeen		
	(14 dagen oud (kamertemperatuur))				
		na 2 uur	na 24 uur	na 2 uur	na 24 uur
Serum duif 845 (nieuw monster)	1 ; 10	—	++	+++	+++
	1 ; 20	—	++	+++	+++
	1 ; 40	—	++	+++	+++
	1 ; 80	—	+	++	+++
	1 ; 160	—	±	++	+++
	1 ; 320	—	—	±	++
	1 ; 640	—	—	—	++
Serum duif 561	1 ; 10	—	++	+++	+++
	1 ; 20	—	++	+++	+
	1 ; 40	—	++	+++	+++
	1 ; 80	—	++	+++	+++
	1 ; 160	—	++	++	+++
	1 ; 320	—	+	+	+++
	1 ; 640	—	—	—	++

Conclusie :

BIEN-GARDNER's antigeen is minstens 14 dagen bij kamertemperatuur houdbaar, de werking ervan is niet afgenomen, wel is de reactie trager dan versch bereid.

Het levende antigeen heeft dus de voorkeur; voor hen, die niet de beschikking hebben over koelgelegenheid om de serummonsters te bewaren tot de cultures voor versch antigeen gegroeid zijn, is het bij kamertemperatuur in voorraad te houden antigeen volgens BIEN-GARDNER aan te bevelen. Het onderzoek verloopt echter in beide gevallen even snel, immers zoo noodig is de reactie met levend antigeen reeds denzelfden dag af te lezen, terwijl men met BIEN-GARDNER's antigeen tot den volgenden dag moet wachten.

2. Snelserummethode.

Het antigeen gebruikt voor de snelserummethode op de verwarmde glasplaat was bereid als blauw pullorum-antigeen. 3 dagen gegroeide agarcultuur in Roux'sche flesschen wordt afgeschud met steriele physiologische keukenzoutoplossing waarin 1% formol is opgelost. De suspensie wordt na filtreren op zoodanige dikte gebracht, dat deze 75x zoo dik is als buisje no. 1 van Mac. Farland's Nephelometer. Daarna wordt per 100 ccm. vloeistof 3 ccm. van een 1% cristalviolet oplossing toegevoegd. Na 24 uur verblijf in de koelkast is het antigeen voor het gebruik gereed.

a. Oriëntatie; 0.08 ccm. serum met 1 druppel antigeen.

Duif	resultaat langzame methode	resultaat snelmethode
556	negatief	—
845	1 : 320	++
520	1 : 160	+
521	1 : 160	++
882	1 : 640	+++
746	1 : 40	+

Als antigeenstam werd gebruik de stam 56'.

b. titerbepaling; serie van :

0.08, 0.04, 0.02, 0.01, 0.004, ccm., overeenkomende met :
1 : 25 1 : 50 1 : 100 1 : 200 1 : 500 (zie JANSEN 1935¹⁾),
van het serum met 1 druppel antigeen.

Duif	langzame methode		snelmethode	
	titer.	hoogste	verduunning	titer
547	—	—	—	—
466	—	—	—	—
543	—	—	—	—
645	1 : 10	—	—	—
558	1 : 10	0.08	1 : 25	
489	1 : 40	0.08	1 : 25	
458	1 : 40	0.04	1 : 50	
536	1 : 40	0.04	1 : 50	
540	1 : 40	0.04	1 : 50	
609	1 : 80	0.04	1 : 50	
544	1 : 160	0.01	1 : 200	

Als antigeenstam werd gebruikt de geesellooze stam 746 (uit duif).

De vlokjes waren met beide antigenen bij deze reactie veel kleiner dan men bij agglutinatie van kippen en eenden pleegt waar te nemen.

3. Bloeddruppelmethode.

De bloeddruppelmethode stuitte op een moeilijkheid, waarvan de oorzaak nog niet is opgehelderd. Steeds werd n.l. als bloed met volgens het gewone systeem bereid antigeen werd tesamen gebracht, een vlokking van roode bloedcellen waargenomen. Dit verschijnsel zal

¹⁾ JAC. JANSEN, T. v. D. 62, 517, (1935).

door JANSEN¹⁾ uitvoerig worden beschreven. Door gebruik te maken van een spontaan geesellooze *S. typhi-murium*stam (746) werd getracht in analogie van de ervaring door JANSEN opgedaan met *S. pullorum* antigeen deze moeilijkheid te omzeilen. Echter werd ook met dit antigeen de bewuste vlokking waargenomen. Deze werd evenmin opgeheven door toevoegen van gelijke deelen 0.4% natrium oxalaat oplossing aan het antigeen (systeem DIERNHOFER²⁾) voor abortusagglutinatie). Indien de cultuursuspensie 10 minuten bij 100° C. was verhit geweest vóór het toevoegen van het cristalviolet werd geen roode vlokking meer waargenomen. De vermoedelijk tengevolge van deze verhitting geringere en onregelmatige reacties verkregen bij de serumsnelmethode (hier niet te vermelden) waren aanleiding met de bloeddruppelmethode niet verder te gaan, ook om later te noemen redenen.

II. Beoordeeling.

Hiervoor is het noodig op te sommen duiven, waarbij kort vóór afmaken met levend antigeen de titer was bepaald, en waarbij na afmaken *S. typhi-murium* werd geïsoleerd, (zoowel spontane als experimenteele gevallen): 244 negatief (< 1 : 10) (gewricht), 245! negatief (< 1 : 10) (lever), 485 negatief (< 1 : 10) (lever), 543 negatief (< 1 : 10) (milt, ovarium), 558 1 : 10 (nier, testes), 608 1 : 20 (lever, nier), 547 1 : 20 (lever, milt, nieren, testes), 540 1 : 40 (lever, 557 1 : 40 (lever, nier), 916! 1 : 40 (lever), „Kees"! 1 : 80 (gewricht), 521! 1 : 80 (gewricht), 609 1 : 80 (lever, milt), 520! 1 : 240 (gewricht), 642! 1 : 320 (gewricht).

(! = spontaan geval).

Ter vergelijking diene, dat bij 44 onbesmette duiven, afkomstig uit de gezonde fokkerij van het Instituut bij agglutinatie met levend antigeen vanaf 1 : 10 nooit agglutinenen ten opzichte van *S. typhi-murium* werden aangetoond, terwijl, zooals reeds werd opgemerkt, ook ten opzichte van *S. enteritidis* var. *dublin* zoomin in positieve als negatieve sera agglutinenen werden waargenomen.

Bij het ingezonden materiaal waren enkele duiven, die reeds subcutaan met een vaccin waren behandeld en waarvan het serum een agglutinatie-titer van 1 : 800 en van 1 : 640 bezat. In verband hier-

1) Jac. Jansen Tsch. Drgk. 62, 1253, (1935).

2) K. DIERNHOFER, Wien-tierärztl. Monatschr. 20, 753, (1933).

mede werd nagegaan in hoeverre dit vaccin agglutinenen opwekt. De duiven 884 en 885 (circa ½jaar), waarvan het serum in verdunning 1 : 10 zoomin met *S. typhi-murium* als met *S. enteritidis* var. *dublin* antigeen agglutinatief gaf, werden op 26-VII, 3-VIII en 10-VIII-34 telkens subcutaan ingespoten met 0.25 ccm. Arthritol. 5 dagen na de eerste injectie (1-VIII) waren nog geen agglutinenen aanwezig, na 2 injecties (8-VIII) gaf het serum van 884 met *S. typhi-murium* antigeen een agglutinatief tot een titer van 1 : 40, dat van 885 tot een titer van 1 : 20. Op 17-VIII, 1 week na de derde injectie, bedroeg deze titer bij beide duiven 1 : 40, dit was nog zoo op 24-VIII. Vanaf 1-IX was de reactie weer negatief. De subcutane enting zelf geeft dus geen hooge en blijvende agglutinatie-titer.

De duif 885 werd tegelijkertijd met de duiven van de vaccinatieproef XIII per os geïnfecteerd (13 en 14-IX-34). Het serum van de duif 885, die de infectie overleefde, gaf op 20-IX nog geen agglutinatief bij 1 : 10, op 27-IX echter bedroeg de titer 1 : 640, 3-X 1 : 320, 30-X 1 : 320, 8-XI 1 : 160. Op 8-XI werd de duif afgemaakt, bij de sectie werden geen afwijkingen gevonden, bouillonculturen van enkele oesen bloed, de geheele milt, beide testes, en fragmenten van lever en nieren bleven steriel.

Het bloed ten behoeve van de agglutinaties is verkregen door punctie van een der aan de binnenzijde van den vleugel onderhuids gelegen aderen, distaal van het cubitaal gewricht. Na voorzichtige verwijdering van de veeren en eventueel na reiniging met alcohol wordt de punctie verricht met een vaccinostylet. Het stuwven van de vene vindt plaats proximaal van het cubitaal gewricht door druk met den vinger. Na eenige ervaring gelukt het de duif met de eene hand te omvatten en tevens de digitaal-compressie uit te oefenen, terwijl het stylet met de andere hand wordt gevoerd. De incisie geschiedt in de lengte-richting van de vene en wel zoodanig, dat het bloed slechts druppelsgewijze uitvloeit. Het bloed wordt opgevangen in een agglutinatiebuisje, waarbij wordt zorg gedragen, dat het zich in het buisje over een zoo groot mogelijk deel van de wand afzet ter bevordering van de serumafscheiding. Is circa 2 ccm. bloed verkregen, dan wordt de stuwving opgeheven en een dun laagje watten tegen de wonde gelegd, waarna het dier in de gelegenheid wordt gesteld zijn vleugels weer te sluiten. Als regel houdt de bloeding dan na korten tijd op. Het verdient aanbeveling de duif in de eerste 48 uur geen gelegenheid tot vliegen te bieden om nabloeding te voorkomen. Slechts zelden treedt tengevolge van de punctie een subcutane bloeding uitstorting op. Een enkelen keer wijst het rhythmisch spuiten van het bloed er op, dat een dieper gelegen arterie tevens is getroffen; ook dan komt de bloeding zonder bijzondere voorzorgen gemakkelijk tot staan. De buisjes met bloed worden 24 uur op een koele plaats bewaard. De hoeveelheid van het afgescheiden serum gedurende dezen tijd verschilt. Heeft zich geen voldoende serum afgescheiden, dan kan het buisje eenigen tijd worden gecentrifugeerd.

Conclusie:

Duiven zijn niet in het bezit van normaal-agglutinenen, het serum van normale duiven is vanaf verdunning 1 : 10 negatief. Bij *Salmonella*-infectie is het agglutinatie-type overwegend korrelig. Een titer van 1 : 10 of 1 : 20 is reeds als verdacht aan te merken, in dergelijke gevallen was de cultuur na afmaken positief. Een negatieve reactie bij 1 : 10 in besmet milieu sluit niet uit, dat de duif bacillen met zich draagt¹⁾. Daar reeds titers van 1 : 10 en 1 : 20 bij de beoordeeling waarde hebben, verdient de langzame methode, die bij lager titer kan beginnen, voorkeur boven de snelle glasplaatmethode. Het antigeen zij zoo gevoelig mogelijk; in het goed geoutilleerde laboratorium verkieze men levend antigeen.

c. Infectieproeven.

1. bij volwassen dieren.

Met enkele *S. typhi-murium* stammen uit duiven werden infectieproeven bij duiven verricht. De eerste van deze proeven worden uitgevoerd met de op 13-I-33 uit synovia gekweekte stam „B. 1.”.

De 3 ruim een half jaar oude z.g.n. „jonge” duiven 401, 402 en 403 ontvingen op 29-IV-'33 respectievelijk 1, 2 en 3 ccm. 24 uur oude bouilloncultuur per os met de slokdarmsonde. Verder ontving duif 401 op 3-V-'33 0.5 ccm. bouilloncultuur intramusculair; de duif stierf 22-V-'33. De duif 402 ontving 5-V-'33 nogmaals per os 9 ccm. bouilloncultuur; deze stierf 3-VII-'33. De duif 403 ontving 5-V-'33 nogmaals per os 6 ccm. bouilloncultuur; deze stierf 22-V-'33. Uit hart en organen van deze duiven werd *S. typhi-murium* geïsoleerd.

De volwassen duif 410 vastte gedurende 3 dagen (1-V en 2-V en 3-V-'33) en ontving gedurende dien tijd dagelijks per os 3 galpillen. Deze pillen waren bereid uit tot pillenmassa ingedampde Fel tauri en waren elk van een gewicht van 100 à 120 milligram. Op 3-V-'33 werd hij met 5 ccm. bouilloncultuur per os geïnfecteerd; hij stierf op 10-V-'33; uit hart en organen werd *S. typhi-murium* geïsoleerd.

Met de stammen 385, 386 en 387, verkregen uit muizen gevoederd met de duivenstammen 919, N. t., G. m., en 357, werden besmet de enkele maanden oude z.g. „jonge” duiven 584 en 585.

Beide ontvingen op 2 achtereenvolgende dagen (28 en 29-V-'35) na vasten vanaf den vorigen dag en voortdurend tot op den namiddag van 29-V, telkens 6 ccm. gemengde bouilloncultuur per os met de slokdarmsonde. Duif 584 stierf op 7-VI, duif 585 op 4-VI; uit hart en organen werd *S. typhi-murium* geïsoleerd.

Op dezelfde wijze werden op 4 en 5-VI geïnfecteerd de „jonge” duiven 607 en 608. Deze werden geïnfecteerd met bouillonculturen uit hart en lever van

¹⁾ Weliswaar is dit o.a. van muizen bekend (TOPLEY (1929)) maar voor zoover is na te gaan bij duiven nog niet beschreven.

duif 884 (zie verder) die op 3-VI was gestorven. Duif 607 stierf 15-VI, cultuur uit hart en organen positief. Duif 608 overleefde de infectie; agglutinatie (levend antigeen op 14-VI 1 : 20, 24-VI 1 : 20, 11-VII 1 : 40, 20-VIII 1 : 20. Bij afmaken op 20-VIII werd *S. typhi-murium* uit de lever en een nier geïsoleerd.

Intramusculaire infectie werd verricht bij de (blijkens postduivenring) in 1934 geboren duif 884, dus bij de infectie 1 jaar oud.

Bij deze „oude” duif werd op 26-V-’35, na 1 dag vasten, 1 ccm. cultuur gekweekt direct uit het hart van de daags tevoren gestorven muis 385 (zie boven), in de borstspier ingespoten. De duif stierf op 3-VI, de culturen uit hart, organen en borstmusculatuur waren positief.

Bij de gestorven duiven werd bij de sectie waargenomen gering gezwollen milt, iets bleke en gezwollen nieren, bij 884 tevens bonte lever en degeneratie van de borstmusculatuur aan de zijde van de injectie. Enkele dagen voor het sterven werd diarree waargenomen; de darm was bij de sectie veelal iets geïnjecteerd.

Conclusie:

Uit deze proeven blijkt, dat volwassen of nagenoeg volwassen duiven door infectie per os met *S. typhi-murium* gedood kunnen worden. Infectie intramusculair verloopt niet sneller dan infectie per os.

2. Bij nestjongen en piepjonge duiven.

Met de cultuur „B.1.” werd op 3-V-’33 tevens een 8 dagen oud nestkuiken, 415, per os met de slokdarmsonde geïnfecteerd ($\frac{1}{2}$ ccm.). Dit kuiken, zoowel als de in de volgende proef gebruikte kuikens, werd ondergebracht in een vertrek, dat door middel van een thermoreguleator op 26 à 28° C. werd gehouden. Deze kuikens werden met de hand gevoerd met geweekt graan. Hoewel deze voeding niet overeen komt met de door de ouden verstrekte, door ontbreken van de door deze afgescheiden duivenmelk ¹⁾, zijn de dieren hiermede toch geruimen tijd in het leven te houden. Het kuiken 415 stierf 20-V-’33; bij sectie werd enteritis geconstateerd; uit hart en organen werd *S. typhi-murium* geïsoleerd.

Met een op 23-V-’33 uit het hart van een gestorven duif verkregen *S. typhi-murium* stam „D.g.” werden deze infectieproeven in het voorjaar van 1934 hervat.

Op 8-II-’34 werden twee 16 dagen oude z.g. „piepjonge” duiven 695 en 696 per os met de slokdarmsonde geïnfecteerd met de helft van een met physiologische keukenzoutoplossing afgeschudde 24 uur oude agarcultuur (schuingestolde agar in cultuurbuisjes). Op 13-II-’34 werd aan deze dieren nogmaals dezelfde dosis verstrekt en op 14-II-’34 3 ccm. 24 uur oude bouilloncultuur eveneens per os. Te beginnen 2 dagen na de infectie werden van beide dieren faeces herhaalde malen op Gassnerplaten uitgestreken, steeds met negatief resultaat. Terwijl 695 goed opgroeide, bleef 696 in groei achter en werd mager; op 23-II-’34 stierf deze, bij de sectie werd enteritis geconstateerd; uit hart, lever, milt en nier werd *S. typhi-murium* geïsoleerd, alleen uit de lever werd direct groei verkregen op

1) Zie BINET en SUREAU: J. de Méd. Vétér. 85, 407, (1933).

agar, uit de overige organen was alleen groei in de bouillon. De duif 695 overvaccinatie-proef XIII) eveneens zonder resultaat.

Agglutinaties, verricht op 5-VIII en op enkele niet genoteerde tusschenliggende tijdstippen, waren negatief. Op 10 en 11-IX werd de infectie herhaald (zie bij vaccinatie-proef XI) eveneens zonder resultaat.

Op 15-II-'34 werden de twee 9 dagen oude duiven 701 en 702, na van den vorigen middag af niet gevoerd te zijn, op de nuchtere maag met de slokdarmsonde geïnfecteerd met 2 ccm. 48 uur oude serumbouilloncultuur van stam „D.g.". Duif 702 stierf op 20-II-'34; uit hart, lever, milt en nier werd *S. typhi-murium* geïsoleerd (in bouillon). De darminhoud op Gassnerplaten uitgestreken gaf alleen blauwe kolonies. Duif 701 werd op 21-III-'34 afgemaakt, het dier was slecht opgegroeid en mager, het maakte een rachitischen indruk. Het werd gedood omdat het zich niet meer op de been kon houden. Een teengewricht bleek gezwollen te zijn; het bevatte een brokkelige inhoud, waaruit *S. typhi-murium* in reincultuur werd geïsoleerd. Op agar werd uit hart, lever, milt en nier geen groei verkregen; isolatie van *S. typhi-murium* gelukte echter door enten van steriel uitgenomen stukjes orgaan en van enkele oesen hartebloed in bouillon uit al de genoemde organen.

Met een 36 uur oude bouilloncultuur van den uit duif 701 verkregen stam werd een even oude serumagarcultuur van denzelfden stam afgeschud en met 1 ccm. van dit mengsel de 6 dagen oude duif 716 op dezelfde wijze als de voorgaanden geïnfecteerd; deze stierf op 5-III-'34. Bij sectie bleek de lever verscheidene speldeknoop groote witte hardjes te bevatten, er bestond enteritis; uit hart, lever, milt en nier werd *S. typhi-murium* geïsoleerd.

Een derde generatie werd op 14-III-'34 geïnfecteerd; de 6 dagen oude duifjes 743 en 744 ontvingen elk met de slokdarmsonde, na vanaf de vorige middag te hebben gevast, 2 ccm. van een uit het hart van 716 verkregen bouilloncultuur (in de koelkast bewaard) waarin een versche serumagarcultuur van denzelfden stam was afgeschud; 743 ontving bovendien enkele uren van te voren 1 ccm. 10% oplossing van Fel tauri. Ook deze duiven hadden van te voren gevast. Zij stierven beide op 20-III-'34; in beide levers werden hardjes gevonden, hoewel minder fraaie dan in het vorige geval; ook hier bestond enteritis, de milt was opvallend gezwollen. Uit hart, lever, milt en nier werd *S. typhi-murium* geïsoleerd. De gal heeft hier dus het verloop niet verhaast.

Met een in de koelkast bewaarde bouilloncultuur van duif 744 werd een evenzoo bewaarde agarcultuur uit dit cadaver op 22-III-'34 afgeschud en op de beschreven wijze 2 ccm. daarvan verstrekt aan de 7 dagen oude duif 760. Dit diertje stierf eerst op 20-IV-'34. Het bleef achterlijk en kaal en was slecht ter been. Bij sectie bleek de milt sterk gezwollen, een persisterende dooierrest van erwtgroote werd gevonden. Daar het dier op Zondag was gestorven en eerst des middags uit het thermostaat verwijderd was, bestond er een sterke post mortale bacteriegroei, die de cultures verontreinigde. Toch gelukte het uit milt en dooierrest *S. typhi-murium* te isoleren.

In het algemeen zij er op gewezen, dat het voornaamste symptoom dat den dood van deze diertjes aankondigt, is, dat de kropinhoud 24 uur na de voeding nog niet geheel is opgenomen.

Deze jonge duiven zijn alle afkomstig uit de fokkerij van het Instituut, waarin geen *Salmonella* infectie onder de duiven voorkomt.

Conclusie:

Duivenkuikens zijn zonder uitzondering per os met *S. typhi-murium* te infecteeren, arthritis kan aansluitende aan deze voeder-infectie optreden, meerdere passages verhoogden de virulentie niet, gal beïnvloedt het verloop niet opmerkelijk; het cultiveeren van *S. typhi-murium* uit een persistente dooierrest behoeft geen bewijs voor infectie via het ei te zijn, zooals BEAUDETTE aanneemt.

Onder „piepjonge" duiven komen evenals onder volwassen dieren resistentere exemplaren voor.

d. Vaccinatieproeven,

In den aanvang van dit onderzoek werden met duiven enkele proeven op zeer kleine schaal genomen; zij worden echter hier weergegeven, tevens daar zij gegevens betreffende de kunstmatige infectie bevatten.

Vaccinatieproef XII.

Vaccinatie per os 1 × met gal vooraf.

Op 16-VI-'33 ontvingen de volwassen duiven 451 en 452 4 galpillen en korten tijd daarna 20 ccm. door verhitting gedooide enkele dagen gegroeide bouilloncultuur van stam „B.1" per os. De duiven 453 en 454 ontvingen alleen deze dosis gedooide bouilloncultuur. Deze vaccinatie beïnvloedde de gezondheidstoestand der dieren niet. Op 24-VI-'33 werden deze duiven evenals de controleduiven 460, 461, 469 en 469 per os geïnfecteerd met een 24 uur oude agarcultuur (schuin-gestolde agar in cultuurbuis) van de stam „B.1".

Tengevolge van deze infectie stierven duif 453 (vaccinatie zonder gal vooraf) op 3-VII-'34 en duif 460 (controle) op 11-VIII-'34. Uit beide duiven werd uit hart en organen *S. typhi-murium* geïsoleerd. De duif 460 had degeneratie van het in rust verkeerend ovarium.

Het serum van de overblijvende duiven in deze proef werd op de aanwezigheid van agglutinen onderzocht. Het serum van de navolgende duiven werd op de te noemen data onderzocht met de volgende resultaten, waarbij als geringste verdunning 1 : 10 werd genomen: 452 1—8 —, 8—9 1 : 10 +, 14—9 1 : 10 +, 454 1—9 1 : 10 +, 8—9 1 : 10 +, 461 8—9 1 : 100 +, 14—9 1 : 50 +, 468 24—8 1 : 200 +, 1—9 1 : 100 +, 8—9 1 : 100 +, 14—9 1 : 100 +, 451 en 469 1—9, 14—9 beide keeren negatief.

Door een abus werd gedurende de vervulling van mijn militaire plichten in de tweede helft van de maand October deze dieren door een hulpkracht afge maakt en aan een vluchtig cultureel onderzoek onderworpen. Uit geen der dieren werd *S. typhi-murium* geïsoleerd. Vermoedelijk werd alleen geënt op agar; in geen geval werden stukjes orgaan steriel uitgenomen en in bouillon geënt. De duif 461 had bijkens het sectieverslag haarden in de lever.

Het resultaat van deze vaccinatieproef I is dus als volgt: Van 4 1x per os gevaccineerde dieren stierf na infectie per os 1 en wel 8 dagen na de infectie, 2 vormden agglutinen (titer 1:10, 1 : 10), 1 was negatief. Van 4 controle dieren

stierf 1 en wel 39 dagen na de infectie, 2 vormden agglutinenen (titer 1 : 100, 1 : 200), 1 was negatief. Van de gevaccineerden hadden 2 gal vooraf ontvangen, toevallig (?) overleefden beide de infectie.

Conclusie:

Van een gunstige invloed van vaccinatie per os is hier niets gebleken; dat de titers van de contröledieren hooger zijn dan van de gevaccineerden en dat speciaal de 2 met gal vooraf gevaccineerden de infectie overleven, wekt een schijn van resultaat, waarvan de waarschijnlijkheidskansen bij deze kleine proef niet zijn te berekenen.

Vaccinatieproef XIII.

Vaccinatie per os 3 × dagelijks met gal vooraf. Deze proef, bestaande uit circa een half jaar oude dieren, omvatte:

1 duif (886), die circa een maand van te voren 3 dagen achtereem (9-VIII, 10-VIII, 11-VIII) telkens per os met sonde 10 ccm. door verhitting gedooide cultuur 1½ uur bij 70° C.) 14 dagen gegroeide vleeschbouilloncultuur van den stam „D.g.” had ontvangen, telkens voorafgegaan door 20 ccm. van een 10% oplossing van *Fel tauri*.

1 duif (917), die dezelfde behandeling als 886 had ondergaan, doch op 3 dagen onmiddellijk aan de infectie voorafgaande (10-X, 11-X, 12-IX). Deze beide duiven vertoonden kort na de behandeling diarrhee, die zich bij 886 in een paar dagen hersteld had, de groote hoeveelheid verstrekte vloeistof kan hierbij van invloed zijn geweest.

2 controle duiven (918, 919).

1 duif, die in de jeugd een infectie had overleefd, namelijk de duif 695, zie bladz. 149.

Van al deze duiven was minstens op 14 dagen voordat zij waren gevaccineerd of wel in het experiment waren opgenomen, het serum op agglutinenen onderzocht en werd dit onderzoek wekelijks voortgezet zoolang de proef duurde. Agglutinenen ten opzichte van *S. typhi-murium* waren bij geen enkele van deze duiven vóór de infectie aangetoond. Al deze duiven ontvingen met de slokdarmsonde op 10-IX, 11-IX en 12-IX des morgens 20 ccm. 10% oplossing van *Fel tauri*. Op 10-IX en 11-IX werd daarna het gewone voedsel verstrekt; op 12-IX werd gevast, dit werd voortgezet tot den morgen van 15-IX. Op 13-IX en op 14-IX (voor zoover nog in leven) werd aan deze duiven met de slokdarmsonde verstrekt 7 ccm. cultuur van de volgende samenstelling:

3 24 uur oude serumagar-culturen stam „B.g.” afgeschud met 48 uur oude serum-bouilloncultuur van verschillende duiven *S. typhi-murium* stammen, te weten:

2 buisjes stam „D.g.”

2 buisjes stam „N.t.” (3-VIII-'34 uit de lever van een afgemaakte duif).

1 buisje stam „U.m.” (20-VIII-'34 uit het hart van een gestorven duif).

1 buisje stam „B.n.” (23-VI-'34 uit een gestorven 6 weken oude duif).

1 buisje stam „D.812” (1-V-'34 uit het gewricht van een levende duif).

1 buisje stam „O.t.” (24-VII-'34 uit het gewricht van een levende duif).

Het serum van de duif 886, die de infectie overleefde, bevatte op 20-IX nog geen agglutinen; 27-IX bedroeg de agglutinatie-titer 1 : 320, 3-X 1 : 80, 30-X was de agglutinatie weer negatief. Bij afmaken op 8-XI werden geen afwijkingen

gevonden. bouillonculturen van enkele ösen bloed, de geheele milt, het geheele ovarium en fragmenten van lever en nieren bleven steriel.

De duif 917, die onmiddellijk vóór de infectie per os was gevaccineerd, stierf reeds op 14-IX, binnen 24 uur na de eerste infectie. Uit het hart en alle organen werd *S. typhi-murium* geïsoleerd.

De controleduiven 918 en 919 stierven respectievelijk op 18-IX en 23-IX, dus 5 en 10 dagen na de infectie; de laatste duif vertoonde enkele dagen diarrhee. Uit hart en alle organen werd *S. typhi-murium* geïsoleerd. (Het serum van duif 919 bevatte op 20-IX dus 3 dagen voor den dood nog geen agglutinenen).

De resistente duif 695 overleefde de infectie, agglutinenen werden bij deze 27-IX, 3-X, 30-X, 12-XI en 19-XI niet aangetoond. Op 28-XI is deze duif ten behoeve van een ander onderzoek met duivenpokstof op de dij geïnfecteerd; het dier stierf op 24-XII. Uit het sterk vermagerde cadaver werden bouillonculturen aangelegd van enkele oesen bloed, de geheele milt, beide testes en fragmenten van lever en nieren; *S. typhi-murium* werd niet aangetoond.

In deze vaccinatieproef was dus de infectie sterker dan in proef XII: Hier stierven beide controleduiven, en wel na 5 en 9 dagen. Een duif, die gedurende 3 dagen onmiddellijk aan de infectie voorafgaande per os was gevaccineerd, stierf echter reeds na 24 uur.

Een duif, die één maand voor de infectie 3 maal per os was gevaccineerd, overleefde de infectie; in het bloed werden agglutinenen aangetoond.

Een duif die reeds een eerdere infectie had doorstaan, verdroeg deze tweede infectie zonder agglutinenenvorming. De laatste 2 duiven vertoonden een gunstiger verloop dan de controledieren.

Door de geringe grootte van deze groepen is echter niet uit te maken in hoeverre het toeval in dit alles een rol gespeeld heeft.

Wel valt hier op hoe ongunstig het verloop is bij de duif, die op 3 dagen vóór de infectie per os gevaccineerd was. Deze immers stierf binnen 24 uur na een éénmalige infectie; de invloed van de gal is uitgeschakeld, doordat deze ook aan de andere dieren op dezelfde dagen is toegediend. Dat dit een zeer bijzonder geval is, blijkt wel daaruit, dat dit de eenige van 53 per os geïnfecteerde volwassen duiven is, die in zoo korten tijd stierf, de kortste termijn bij de andere dieren is 5 dagen. Ook zelfs bij zeer gevoelige nestjongen is nog een incubatietijd van enkele dagen waargenomen.

Conclusie:

Vaccin per os toegediend kort vóór de infectie schijnt eer ten kwade dan ten goede te werken.

Vaccinatieproef XIV.

Vaccinatie per os 4x om den anderen dag.

De opzet van deze proef was, de waarnemingen bij muizen en katten opgedaan te toetsen aan een ander proefdier. Gedachtig aan het feit, dat DE ZEEUW bij zeer jonge kipkuikens met vaccinatie per os eenig resultaat verkreeg, werd vermoed, dat allicht zeer jonge vogels gemakkelijker te vaccineeren zouden zijn. DE ZEEUW verstrekte 2 dagen achtereen 1 ccm. bouilloncultuur van *S. pullorum*, die

$\frac{1}{2}$ uur bij 70° was verhit, met een weinig gal. In het eigen experiment werd het vaccin met iets grooter intervallen en meer keeren verstrekt, dit in analogie met LISSOT, wat, indien het hier betreft het opwekken van een algemeene immuniteit, niet anders dan van voordeel kon zijn.

Vijftien jonge duiven, die gedurende het voorjaar van 1935 in de duivenfokkerij van het Instituut waren geboren, werden in het nest 4x gevaccineerd, zij ontvingen telkens 1 ccm. 14 dagen gegroeide bouilloncultuur, gedood door een half uur verhitten bij 70° C. (stam 919), waaraan was toegevoegd 0.25 ccm. van een 10% oplossing van Fel tauri; de vaccinatie werd zonder schade verdragen. Om de andere werden de uitgekomen diertjes niet gevaccineerd om als controle te dienen. Om vergissing bij het ingeven te voorkomen werden de gevaccineerden aan den linkerpoot, de controles aan den rechterpoot gering. Door het niet voeren en het niet laten uitvliegen der ouderdieren vóór het toedienen van het vaccin, werd bereikt, dat dit op de nuchteren maag werd opgenomen.

De duiven dienen te worden verdeeld in 2 hoofdgroepen:

I. geboren tusschen 19/III en 9/IV.

II. geboren tusschen 26/IV en 23/V.

Al deze dieren werden gelijktijdig per os geïnfecteerd op 2 achtereenvolgende dagen en wel op 13 en 14-VI, met vasten van 12-VI des morgens tot 14-VI des middags. Beide malen ontvingen zij per os met de slokdarmsonde versch gegroeide 24 uur oude bouilloncultuur van de stammen geïsoleerd uit het hart van duif 884, de milt van duif 584 en de lever van duif 585 (zie experimenteele infectie), gelijke deelen intotaal 9 ccm. Een week vóór de infectie was van alle dieren de agglutinatie volgens de langzame methode onderzocht en negatief bevonden (levend antigeen, serumverduunning vanaf 1 : 10). Na de infectie werd de agglutinatie met tussenpoozen van ongeveer een week herhaald. Voor het verloop van de infectie en van de agglutinatie zie tabel III. De uitkomst van deze proef is als volgt:

groep I. gevacc.	8 : 4 (gestorven)	Contrôle	6 : 3 (gestorven)
„ II. „	7 : 4		10 : 4 (5)
	<u>15 : 8 (53.3%)</u>		<u>16 : 7 (43.7%) (8(50%))</u>

Van de gestorven duiven waren culturen uit hart en organen steeds positief.

De dieren werden gedurende ongeveer 40 dagen geobserveerd en op 24 en 25-VII afgemaakt, behalve 2 van de controleduiven, die

nog eenigen tijd als serum-leveranten werden aangehouden. Een van deze, duif 544, stierf 14-VIII, de culturen uit hart en organen waren positief; deze is in de bovenstaande berekening tusschen haakjes bijgevoegd.

Uit de gegevens van de tabel blijkt verder, dat dragerschap en agglutininenvorming in beide groepen niet aanmerkelijk verschilden; ook de sterftijden verschilden niet:

	1e 10 dagen	2e 8 dagen	3e 9 dagen	4e 7 dagen	5e 7 dagen
gevacc.	1	3	4	0	0
contr.	1	4	0	2	0

Wat het ziektebeeld betreft, werd lusteloosheid, vermagering en diarrhee waargenomen. Bij de sectie werden afwijkingen geconstateerd als bij de infectieproeven beschreven. Bij de chronische gevallen zijn geen arthritiden geconstateerd (te weinig beweging?).

Conclusie:

Vaccinatie per os meermalen (4x) van nestjongen beschut deze als jonge duif van enkele maanden niet tegen een infectie per os, waarbij de sterfte circa 50% bedraagt.

Samenvattende conclusies:

1. In Nederland komt *Salmonella* infectie onder de duiven voor, de verwekker is meestal *Salmonella typhi-murium*.
2. Eenmaal is ook *S. enteritidis* var. *dublin* als oorzaak van spontane ziekte onder duiven waargenomen.
3. De verschijnselen komen overeen met de uit de literatuur bekende gegevens.
4. Bij Arthritis is de bacil dikwijls spaarzaam in het ontstoken gewricht aanwezig en moeilijk te isoleren.
5. Verschillende patiënten zijn in het bezit van agglutinen; op grond van cultureel onderzoek bleek, dat ook in chronische gevallen dieren den bacil bij zich kunnen dragen zonder in het bezit van agglutinen te zijn, dit bemoeilijkt de bestrijding; reeds lage titers b.v. 1 : 10 zijn als verdacht te beschouwen, aangezien duiven geen normaal-agglutinen bezitten. Vaccinatie subcutaan heeft geen hooge en blijvende titer ten gevolge.
6. Als methode van agglutinatie verdient de langzame agglutinatie met levend antigeen de voorkeur.
7. Duiven zijn per os gemakkelijk te infecteeren, ook intramusculair; intramusculaire infectie hoeft geen sneller verloop te geven dan infectie per os.

8. Vaccinatie per os (met gal vooraf) eenigen tijd voor de infectie heeft geenerlei invloed op het verloop van de infectie; er is een aanwijzing dat vaccinatie per os (met gal vooraf) kort vóór de experimenteele infectie, een ongunstiger verloop geeft, dan bij contrôle-dieren.

LITERATUUR BEHOORENDE BIJ HOOFDSTUK IX.

ADAM, J. en E. MEDER, Cbl. Bakt. I. Orig. **62**, 569, (1912). — BEAUDETTE, F. R., J. Am. Vet. Med. Assn. **68**, 645, (1926). — BECK, A., Z.schr. Inf. krankh. Haustiere, **35**, 125, (1928). — BECK, A. en E. MEYER, Z. Inf. Krankh. Haustiere, **30**, 15, (1926). — BERDICEK, V., Cbl. Bakt. I. Ref. **115**, 12, (1934). — BERGE, R., Dtsch. tierärztl. W.schr., 1929, 247. — BRUNETT, E., Cornell. Vet. **20**, 168, (1930). — CASH, J. R. en C. A. DOAN, Am. J. Path., **7**, 373, (1930). — CERNAIANU, C. en I. POPOVICI, C. R. Soc. Biol. **112**, 829, (1933). — CERNEA, J., Vet. Bull. **5**, 791, (1934). — CLARENBURG, A. en CH. G. J. DORNICKX., Tijdschr. Diergeneesk., **59**, 546, 621, 670, (1932). — EBERT, B. en O. SCHULGINA, Zbl. Bakt. I. Orig. **91**, 496, (1924). — EMMEL, M. W. J., J. Am. Vet. Med. Assn. **75**, 369, (1929). — GAEDE, H. Zschr. Fleisch und Milchhyg. **45**, 182, (1935). — JANISCH, R., Jahresber. Vet. Med. **1930 II**, 1432. — JUNGHERR, E. en K. S. WILCOX, J. Inf. Dis. **55**, 391, (1934). — KARSTEN, Dtsche tierärztl. Wschr. **1927**, 781. — KHALIFA, A. B., J. Am. Vet. Med. Assn. **86**, 24, (1935). — KOSMODEM-JANSKY, W. M., Zschr. f. Immun. forschung, **60**, 383, **64**, 17, (1929). — LAHAYE, J. en R. WILLEMS, Ann. de Méd. Vétér. **72**, 241, (1927). — LE-GEZYNSKI, Jahresber. Vet. Med. **48 II**, 1318, (1928). — LESBOUYRIES, M. M. en J. VERGE, Bull. Acad. Vétér. **5**, 294, (1932). — MAYER en WÜTIG, Dtsch. tierärztl. Wschr. **1929**, 245. — MEDER, E. en L. LUND, Dtsch. tierärztl. Wschr. **33**, 377, (1925). — MOHLER, J. R., Report Bur. of Anim. Industry, **25**, 28, (1904). — MOORE, V. A., Bull. Bur. of Anim. Industry, **8**, 71, (1895). — MORCOS, A., Vet. Jrl. **91**, 11, (1935). — PFAU, M. Jahresber. Vet. Med. **48 II**, 1318, (1928). — RASCH, K., Zschr. Inf. Krankh. Haustiere, **38**, 37, (1930). — REICHENSHAMMER, C. A., Thèse Alfort-Paris, 1932. — REINHOLDT W., Zbl. Bakt. I. Orig. **62**, 312, (1932). — REITSMA, K., Tijdschr. vergel. Geneesk. **10**, 6, (1924). — RICHTERS, E., Zschr. Vet. kunde, **1925**, 449. Rijksseruminrichting, Verslag van de Werkzaamheden, 1932, 1933. — SCHÜTT, G., Dtsch. tierärztl. Wschr. **39**, 401, (1931). — VIANELLO, G., La clinica veter. **1932**, 717. — WOLLAK, K., Jahresber. Vet. Med. **1930 II**, 1432. — WÜTIG, F. A., Inaug. Diss. Giessen, 1931. — ZINGLE, M., Zschr. Inf. krankh. Haustiere, **15**, 268, (1914).

HOOFDSTUK X.

DETERMINATIE DER GEBRUIKTE EN GEISOLEERDE *SALMONELLA* STAMMEN.

Un cocco-bacille présentant l'ensemble des caractères du
B. coli..... J. DANYSZ (1900).

Bij de determinatie is gebruik gemaakt van het KAUFMANN-WHITE-systeem, vastgesteld door het *Salmonellasubcomité* van het Nomenclatuur-comité van de International Society for Microbiology.

Sinds het uitkomen in October 1934 van het Rapport van deze commissie zijn de navolgende aanvullende mededeelingen in de literatuur verschenen.

SMITH (1934) beschreef een nieuwen stam *S. aberdeen* met structuur: XI : i : 1, 2, 3.

BRILL (1934) beschreef bij *S. abortus-equi* een tweede O-antigeen, behalve het O-antigeen IV. Hij noemde dit XII.

KAUFFMANN (1935) beschreef afwijkende vormen van *S. paratyphi-B* en *S. typhi-murium*, die verschilden door het ontbreken van het O-antigeen V. Hij gaf deze stammen de namen *S. paratyphi-B* var. *odense* en *S. typhi-murium* var. *copenhagen*. Van 626 stammen van *S. paratyphi-B* en *S. typhi-murium* waren er 64 IV-stammen. Ook ZAHN (1935) vond onder 45 *S. paratyphi-B* stammen en 74 *S. typhi-murium* stammen 4 *S. paratyphi* var. *odense* en 1 *S. typhi-murium* var. *copenhagen*.

Verder beschreef KAUFFMANN (1935) een gemeenschappelijk O-antigeen van *S. paratyphi-B*, *S. typhi-murium* en *S. stanley* eenerzijds en *S. typhi* en *S. enteritidis* anderzijds, hetwelk hij XII noemde. Deze XII is niet dezelfde als de XII van BRILL; het blijkt niet of KAUFFMANN met de Poolsche publicatie van BRILL bekend is. Volgens JANSEN (1935) zou het aanbeveling verdienen deze XII van KAUFFMANN met XIII aan te duiden. Met de XII van KAUFFMANN is aan de reeds lang bekende „medeagglutinatie” in lagere verdunningen van de B- en de D-groep een naam gegeven.

Ook heeft KAUFFMANN (1935) voorgesteld aan de *Salmo-*

nellatabel een kolom toe te voegen voor het Vi-antigeen. Volgens hem hebben *S. typhi* en *S. paratyphi-C* hetzelfde Vi-antigeen „A”.

Op grond van cultureele waarnemingen zijn verder nog twee nieuwe *S. enteritidis*-variëteiten beschreven; de *S. enteritidis* var. *chaco* door SAVINO en MENENDEZ (1935) en de *S. enteritidis* var. *essen* door HOHN (1935). Beide bezitten evenals *S. enteritidis* de factoren IX (XII?): *g*, *o*, *m*; ze zetten echter beide dulcitol ver traagd om.

Bij de **eigen onderzoekingen** werden nieuw geïsoleerde culturen, al dan niet na proefagglutinatie op het voorwerpglas onderzocht op de navolgende voedingsbodems: agar,

bouillon,

lactose-Barsiekow-oplossing 2 %.

lactose peptonkeukenzout-oplossing 2^o/_o, (in gistbuisje),

lakmoesmelk,

gelatine,

oplossing volgens Gersbach (indolvorming),

glucose Barsiekow-oplossing 2 %,

glucose pepton-keukenzout-oplossing 2^o/_o (in gistbuisje),

neutraalroodager,

en deels op saccharose Barsiekow oplossing 2^o/_o.

De verdere determinatie werd in de eerste plaats op serologische basis verricht, echter ondersteund en aangevuld door cultureel-biochemische gegevens.

Ten behoeve van de serologische onderzoekingen is herhaalde malen verzadiging moeten worden toegepast. Deze is geschied volgens de beschrijving van VAN RIEMSDIJK (1925). Alleen is uit het oogpunt van veiligheid, indien het een onderzoek gold, waarbij alleen de H-agglutinatie van belang was, aan de physiologische keukenzoutoplossing 0.5% carbolzuur toegevoegd. Betrof het voor den mensch zeer gevaarlijke bacillen, dan werd, indien het onderzoek de O-agglutinatie betrof, de verzadiging verricht met door alcohol gedooide cultuur, zooals dit door DAVID (1928) is beschreven. In dit laatste geval werden bacillen 24 uur aan de inwerking van alcohol 96 % bij kamertemperatuur blootgesteld en deze bacillen na uitwasschen met physiologische keukenzoutoplossing in overmaat aan het verdunde serum toegevoegd.

De agglutinaties werden verricht:

a) volgens de methode der proefagglutinatie (op het voorwerpglas),

b) volgens de z.g.n. uitvoerige methode (in buisjes).

Bij deze laatste methode werd steeds ook op het type der agglutinatie acht gegeven.

Een volledige determinatie vond alleen plaats van het meerendeel der uit spontane gevallen geïsoleerde stammen, van de voor proeven gebruikte laboratoriumculturen en van de uit de proefdieren gewonnen culturen, indien dit bijzondere gevallen betrof. Waar het routineonderzoek van een uitgebreid materiaal dit niet volledig mogelijk maakte, is in de hoofdstukken de oriënterende determinatie aangegeven.

In het eigen onderzoek zijn alleen gebruikt en geïsoleerd *S. typhi-murium*-stammen en *S. enteritidis*-variëteiten. De groepen B en D zullen daarom iets nader worden besproken.

B.-groep.

S. typhi-murium-stammen.

Serologisch onderzoek.

Bij de *S. typhi-murium*-stammen is aanvankelijk, vóór het bekend worden van het bestaan van *S. aberdeen*, veelal volstaan met het aantoonen van de *i*, tot voor kort alleen bij *S. typhi-murium* bekend. Hiertoe werd *S. typhi-murium* serum (IV V : *i* : 1, 2, 3) verzadigd met *S. paratyphi B* (IV V : *b* : 1, 2) en *S. cholerae suis* var. *kunzendorff* (VI VII : 1, 3, 4), waardoor dus een serum werd verkregen dat alleen *i* bevatte. Dit serum werd na de bereiding gecontroleerd met *S. paratyphi-B*, *S. cholerae suis* var. *kunzendorff* en *S. enteritidis* var. *dublin*; alleen met *S. typhi-murium* werd grofvlokkige agglutinaties waargenomen. Sinds de ontdekking van *S. aberdeen* en de mededeeling van KAUFFMANN betreffende *S. typhi-murium* var. *copenhagen* is ook aan de O-agglutinaties meer aandacht besteed. Van de nog aanwezige stammen en de nadien geïsoleerde stammen is antigeen volgens BIEN-GARDNER bereid. Agglutinaties hiermede zijn verricht met *S. typhi-murium*-serum en met *S. stanley*-serum (IV V : *d* : 1, 2), dat verzadigd was met *S. derby* (IV : *f, g*).

Bij de O-agglutinaties was reeds bij het begin der onderzoekingen de toenmaals nog als medeagglutinaties beschouwde korrelige agglutinaties in de lagere titers van de *S. enteritidis*-bacillen met *S. typhi-murium*-serum waargenomen, en evenzoo van *S. typhi-murium*-bacillen in *S. enteritidis*-serum. Daarom werden steeds verdunningen gebruikt, waarin dit verschijnsel niet meer optrad. Een systematisch onderzoek naar het voorkomen van de XII is niet meer verricht, aangezien het bestaan van deze factor, eerst bij het beëindigen der proeven aan mij bekend werd.

De geïsoleerde stammen vormden alle gas. Behalve twee stammen uit duiven, waarbij één geval waarin deze afwijkende bacil zoowel bij het leven uit het gewricht als eenige maanden later post portem uit de inwendige organen werd gekweekt, waren geesels blijvend afwezig en moest het O-agglutinaties worden volstaan, terwijl op grond van de klinische bevinding bij de duif en de voederpathogeniteit voor de muis werd aangenomen, dat het geïsoleerde organisme uit de eerste helft der B-groep (IV, V) *S. typhi-murium* was.

Van de uit spontane infecties geïsoleerde stammen, zijn 7 duivenstammen alleen onderzocht door proefagglutinaties met *S. typhi-murium*-serum, verzadigd met *S. paratyphi B* en *S. cholerae suis* var. *kunzendorf*, en negatief resultaat met *S. paratyphi B*-serum, verzadigd met *S. typhi-murium*; hierbij is dus alleen de factor *i* aangetoond. Met 9 stammen uit duiven en 8 stammen uit katten is een zelfde onderzoek geschied volgens de uitvoerige agglutinatie waarbij tevens een negatief resultaat werd waargenomen met *S. enteritidis*-serum in een verdunding, waar de XII niet meer van invloed was.

Van 3 stammen uit muizen (zie hoofdstuk VII), van 3 stammen uit katten, van een stam uit een konijn en van 30 stammen uit duiven is uitvoerige agglutinatie verricht met *S. typhi-murium*-serum verzadigd met *S. paratyphi B* en *S. cholerae suis* var. *kunzendorf* (carbolantigeen), met *S. typhi-murium*-serum (alcohol-antigeen volgens BIEN-GARDNER) en met *S. stanley*-serum verzadigd met *S. derby* (alcohol-antigeen volgens BIEN-GARDNER). Tevens werden de beide geesellooze stammen uit duiven met de beide laatste sera onderzocht. Het verzadigd *i*-serum gaf in verdunding 1 : 50 geen agglutinatie met *S. paratyphi-B* en *S. cholerae suis* var. *kunzendorf*; de H-titer ten opzichte van de onderzochte stammen varieerde van 1 op 6400 tot 1 : 800. Het *S. typhi-murium*-serum gaf met *S. enteritidis* var. *dublin* in verdunding 1 : 100 een geringe korrelige agglutinatie, met *S. enteritidis* var. *danzysz* en *S. aberdeen* (verhit 100° C.) was de reactie in verdunding 1 : 50 negatief; de O-titer t.o.v. de onderzochte stammen varieerde van 1 : 400 tot 1 : 3200. Het onverzadigde *S. stanley*-serum gaf een zwakke korrelige agglutinatie tot 1 : 100 met *S. enteritidis* var. *dublin*, na verzadiging met *S. derby* was bij 1 : 50 deze reactie negatief. Dit dient vermeld om uit te sluiten, dat in plaats van V de XII is aangetoond. Er dient hier dus een vermoeden te worden uitgesproken, dat de XII ook bij *S. derby* voorkomt. De V-titer van de geïsoleerde stammen met dit serum, dat in verdunding 1 : 50 *S. derby* en *S. abortus equi* niet meer agglutineerde, liepen uiteen van 1 : 100 tot 1 : 200 of hoger (niet onderzocht).

Hieruit kan dus worden besloten dat alle daarop onderzochte stammen de *i* bezaten en eveneens de V; *S. typhi-murium* var. *binns* en *S. typhi-murium* var. *copenhagen*, werden dus niet aangetoond.

Cultureel onderzoek.

Hoewel ook bij *S. typhi-murium* verschillende vergistingstypen zijn vastgesteld (zie o.a. KRISTENSEN en BOLJEN (1929) en KAUFFMANN (1935) is daarnaar hier geen nader onderzoek in-

gesteld, aangezien op grond van deze typen geen verdere onderverdeling bestaat.

Alleen zij hier vermeld, dat van 3 stammen van muizen, 5 stammen van katten en 19 stammen van duiven de Sternreactie is uitgevoerd met als controle *S. enteritidis* (omzetting binnen 24 uur) en *S. abortus-equi* en *S. cholerae suis*. var. *kunzendorf* (blijft negatief). Al deze *S. typhi-murium*-stammen gaven na twee dagen groei in de glycerine-fuchsinebouillon een paarsviolet verkleuring en waren dus Stern-positief (zie blz. 163).

D-groep.

Van de *Salmonellastammen* uit de D-groep, welke tijdens den duur van deze onderzoekingen zijn gedetermineerd, zijn voor deze studie alleen van belang de stam „Gärtner Kalf” geïsoleerd door WINKEL (1922) uit een kalf, welke gebruikt is voor de proeven met huismuizen en de stam „D. t.” uit een duif geïsoleerd.

Serologisch onderzoek.

1. „Gärtner Kalf”.

Agglutinatie levend antigeen met *S. enteritidis* var. *dublin*-serum tot 1 : 12800 grofvlokkig (titer 1 : 12800). Agglutinatie levend antigeen met *S. gallinarum*-serum 1 : 160 korrelig (titer 1 : 160). Agglutinatie levend antigeen met *S. oranienburg*-serum 1 : 100 negatief (*m*-titer 1 : 1600, *O*-titer t.o.v. *S. cholerae suis* var. *kunzendorf* 1 : 6400). Agglutinatie levend antigeen met *S. typhi-murium*-serum 1 : 100 korrelig gering (*O*-titer 1 : 6400). *S. enteritidis* var. *dublin* serum, titer 1 : 12800, is in verdunning 1 : 100 met den stam geheel te verzadigen.

2. „D. t.”

Agglutinatie levend antigeen met *S. enteritidis* var. *dublin*-serum 1 : 6400 grofvlokkig (titer 1 : 12800). Agglutinatie levend antigeen met *S. typhi*-serum 1 : 6400 korrelig (*O*-titer 1 : 6400). Agglutinatie levend antigeen met *S. oranienburg*-serum 1 : 100 negatief (*m*-titer 1 : 1600, *O*-titer 1 : 6400). *S. enteritidis*-serum, *H*-titer 1 : 100000, verzadigd met stam „D. t.” is in verdunning 1 : 100 negatief ten opzichte van „D. t.” en een bekende *S. enteritidis dublin*, geeft echter met *S. enteritidis* grofvlokkige agglutinatie tot in verdunning 1 : 25600. Serum bereid door herhaalde intraveneuze injecties van met formaline gedoodde cultuur van stam „D. t.” bij konijn, *H*-titer t.o.v. „D. t.” 1 : 409600, is in verdunning 1 : 50 geheel te verzadigen, t.o.v.

den stam „D. t.” met *S. enteritidis dublin*; de O-titer van dit serum t.o.v. *S. enteritidis dublin* (verhit 100° C.) is 1 : 6400.

Cultureel onderzoek.

Behalve aan een serologisch onderzoek werden de *S. enteritidis* variëteiten ook aan een cultureel onderzoek onderworpen.

BAHR (1930 geeft aan, dat de aan hem bekende 4 Gärtner-typen overeenkomende met *S. enteritidis*, *S. enteritidis* var. *danyysz*, var. *S. enteritidis* var. *dublin* en *S. enteritidis* var. *rostock* wat betreft de vergisting van arabinose en rhamnose (als onderscheidingsmiddel voor de

	Arabinose	Rhamnose
<i>S. enteritidis</i>	+	+
<i>S. enteritidis</i> var. <i>danyysz</i>	+	+
<i>S. enteritidis</i> var. <i>dublin</i>	—	+
<i>S. enteritidis</i> var. <i>rostock</i>	+	—

+ = gas binnen 24 uur;

— = geen gas na 6 dagen.

BAHR gebruikte als medium een ½ %-oplossing in bouillon. *S. enteritidis* var. *danyysz* onderscheidde hij door de verschillende snelheid van de reactie in de rhamnose-wei van BITTER.

HOHN en HERRMANN (1934) gebruiken behalve de arabinose en de rhamnose als onderscheidingsmiddel voor de *S. enteritidis* var. *moscow* dulcitol. Zij geven aan:

	Arabinose	Rhamnose	Dulcitol
<i>S. enteritidis</i>	++	++	++
<i>S. ent.</i> var. <i>danyysz</i>	++	++	++
<i>S. ent.</i> var. <i>dublin</i>	—	++	++
<i>S. ent.</i> var. <i>rostock</i>	++	—	++
<i>S. ent.</i> var. <i>moscow</i>	++	++	—

++ = zuur en gas;

— = geen zuur en geen gas na 2 dagen.

Zij gebruikten als medium een 1 %-oplossing in Hottingerbouillon.

Op het eerste gezicht afwijkende resultaten wat betreft de omzetting van de rhamnose geeft de tabel van KAUFFMANN (1930). Hierbij diene men in het oog te houden, dat deze onderzoeker Barsiekow-bodems observeerde van manitol, maltose, arabinose, dulcitol en inositol en rhamnosewei volgens BITTER. Deze laatste wordt afgelezen na 20 uur. De Barsiekow-bodems werden dagen lang geobserveerd; KAUFFMANN (1934) observeert 30 dagen. Hij geeft aan:

	Arabinose	Rhamnose (BITTER)	Dulcitol
<i>S. enteritidis</i>	+	+	+
<i>S. ent.</i> var. <i>danyysz</i>	+	—+	+
<i>S. ent.</i> var. <i>dublin</i>	— of —+	—	+
<i>S. ent.</i> var. <i>rostock</i>	+	—	+
<i>S. ent.</i> var. <i>moscow</i>	+	+	—+

+ = omzetting binnen 24 uur.

— = geen omzetting.

—+ = vertraagde omzetting.

Ter verdere differentiatie is ook aangegeven de groei in de glycerine-fuchsinebouillon volgens STERN.

KAUFFMANN (1930) geeft deze reactie aan als volgt: *S. enteritidis* +, *S. enteritidis* var. *danzysz* —, *S. enteritidis* var. *dublin* —+ (2 à 5 dagen), *S. enteritidis* var. *rostock* —, *S. enteritidis* var. *moscow* —+, (7 dagen). De opgave van HOHN en HERRMANN, dat *S. enteritidis* var. *moscow* in Sternbouillon binnen 24 uur positief is, berust waarschijnlijk daarop, dat deze in plaats daarvan *S. enteritidis* var. *essen* hebben geobserveerd.

Volgens ELKELES (1930) is de bouillon volgens STERN eerst positief bij het optreden van een duidelijk purperviolette verkleuring.

S. enteritidis var. *essen* en *S. enteritidis* var. *moscow* gedragen zich op de gistbuisjes als *S. enteritidis* var. *moscow* (zie HOHN en HERRMANN (1935) en SAVINO en MENENDEZ (1935)). Volgens HOHN en HERRMANN (1935) is de Stern-reactie van *S. enteritidis* var. *chaco* vertraagd en van *S. enteritidis* var. *essen* snel positief.

Bij het eigen onderzoek werd gebruik gemaakt van 2% -oplossingen in Barsiekow-bodems en in peptonkeukenzoutoplossing (gistbuisje) van arabinose, rhamnose, dulcitol en mannitol.

De laatste werd tevens gebruikt omdat, hoewel KAUFFMANN in zijn oorspronkelijk overzicht heeft aangegeven, dat alle *S. enteritidis*-variëteiten deze omzetten, hij later (1935) mededeelt, dat BADGER uit een cavia een *S. enteritidis* met formule IX : g.o.m heeft geïsoleerd, die mannitol niet ontleedt.

De oplossingen werden bereid volgens de in het laboratorium gebruikelijke systeem voor druivensuiker en melksuiker-oplossingen. Het gebruik van peptonkeukenzoutoplossing voor de gasvorming in plaats van bouillon kan niet anders dan gunstig zijn; HILGERS en SCHIMAZU (1932) toonden aan, dat de eerste bodem het beste voor bestudeering van de gasvorming geschikt is. De glycerine-fuchsinebouillon volgens STERN werd bereid volgens een recept van DRESCHER en HOPFENGÄRTNER en afgesteld op ph. 7,8. Bij ph. 8, zooals KAUFFMANN (1930) aangeeft, gelukte het niet positieve reacties te verkrijgen.

Geënt werd steeds met één oese 24 uur oude bouilloncultuur.

Behalve de stammen „Gärtner-Kalf” en „D.t.” werden ter vergelijking ook onderzocht: *S. enteritidis* (Jenastam, Instituut Robert Koch), *S. enteritidis* var. *dublin* (uit een kalf), *S. enteritidis* var. *dublin* (uit een zilvervos DE BLIECK en JANSEN, 1934), *S. enteritidis* var. *danzysz* (uit Ratin geïsoleerd), *S. enteritidis* var. *danzysz* (spontaan agglutinabele stam Rijks-Seruminrichting; 2 stammen uit cultuur voor rattenbestrijding, 1 uit cultuur voor muizenbestrijding), *S. enteritidis* var. *moscow* (National Collection of Type Cultures), *S. enteritidis* var. *essen* (stam eend I, JANSEN), *S. enteritidis* var. *chaco*, stammen 300, 301, 397 en 470 (SAVINO en MENENDEZ, afkomstig van HOHN), 1 stam gemerkt „Rat Hannover”, die bij serologisch onderzoek *S. enteritidis* var. *dublin* blijkt te zijn en verder nog als negatieve controles voor de Stern-reactie *S. cholerae suis* var. *kunzendorf*, *S. abortus-equi* en *S. pullorum*.

Arabinose:	zuur en gas na:	beoordeeling:
„Gärtner kalf”	3 à 5 dg.	— +
„D. t.”	4 „ 7 „	— +
<i>S. enteritidis</i> var. <i>dublin</i> , kalf	4 „ 8 „	— +
<i>S. ent.</i> var. <i>dublin</i> , vos	3 „ 4 „	— +
<i>S. ent.</i> var. <i>dublin</i> , rat Hannover	2 „ 5 „	— +
<i>S. enteritidis</i>	1 dag	+
<i>S. ent.</i> var. <i>danyisz</i> , (Ratin)	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>danyisz</i> , (R.S.I.) muis	1 „	+
rat 1	1 „	+
rat 2	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>moscow</i>	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>essen</i>	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>chaco</i> 300,	1 „	+
301,	1 „	+
397,	1 „	+
470,	1 „	+

Rhamnose	zuur en gas na:	beoordeeling:
„Gärtner kalf”	2 dagen	— +
„D. t.”	2 „	— +
<i>S. enteritidis</i> var. <i>dublin</i> kalf	2à 3 dg.	— +
<i>S. ent.</i> var. <i>dublin</i> , vos	2 „ 6 „	— +
<i>S. ent.</i> var. <i>dublin</i> , rat Hannover	2 dagen	— +
<i>S. enteritidis</i>	1 dag	+
<i>S. ent.</i> var. <i>danyisz</i> (Ratin)	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>danyisz</i> (R.S.I.) muis	1 „	+
rat 1	1 „	+
rat 2	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>moscow</i>	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>essen</i> ,	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>chaco</i> 300,	1 „	+
301,	1 „	+
397,	1 „	+
470,	1 „	+

Dulcitol	zuur en gas na:	beoordeeling:
„Gärtner kalf”	1 dag	+
„D. t.”	1 „	+
<i>S. enteritidis</i> var. <i>dublin</i> kalf	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>dublin</i> , vos	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>dublin</i> , rat Hannover	1 „	+
<i>S. enteritidis</i>	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>danyisz</i> (Ratin)	1 „	+
<i>S. ent.</i> var. <i>danyisz</i> (R.S.I.) muis	1 „	+
rat 1	1 „	+
rat 2	1 „	+

Dulcitol (vervolg)	zuur en gas na:	beoordeeling:
<i>S. ent.</i> var. <i>moscow</i>	5 dagen	— +
<i>S. ent.</i> var. <i>essen</i> ,	5	— +
<i>S. ent.</i> var. <i>chaco</i> 300,	2 "	— +
301,	3 "	— +
397,	3 "	— +
470,	3 "	— +

Mannitol werd door alle der onderzochte stammen binnen 24 uur omgezet.

Glycerine-fuchsinebouillon volgens STERN:

	omzetting na:	
„Gärtner kalf“	5 dagen, paars	
„D. t.“	3 " , "	
<i>S. enteritidis</i> var. <i>dublin</i> kalf	3 " , "	
<i>S. ent.</i> var. <i>dublin</i> , vos	3 " , "	
<i>S. ent.</i> var. <i>dublin</i> , rat Hannover	4 " , "	
<i>S. enteritidis</i>	1 dag , "	
<i>S. ent.</i> var. <i>danysz</i> (Ratin)	—	
<i>S. ent.</i> var. <i>danysz</i> (R.S.I.) muis	—	
rat 1	—	
rat 2	—	
<i>S. ent.</i> var. <i>moscow</i>	—	
<i>S. ent.</i> var. <i>essen</i> ,	1 dag , "	
<i>S. ent.</i> var. <i>chaco</i> 300,	—	} (na 5 dagen, worden wel rose)
301,	—	
397,	—	
470,	—	
<i>S. cholerae suis.</i> var. <i>kunzendorf</i> ,	—	
<i>S. abortus-equi</i> ,	—	
<i>S. pullorum</i> ,	—	

De cultureele eigenschappen van de stammen „Gärtner, Kalf“ en „D. t.“ bevestigen de serologische diagnose, die voor „D. t.“ voldoende was. Voor Gärtner kalf echter niet voldoende was (aangezien geen eigen serum was bereid) namelijk *S. enteritidis* var. *dublin*.

Conclusies:

1. Van 3 stammen uit muizen, van 3 stammen uit katten, van 1 stam uit een konijn en van 30 stammen uit duiven zijn aangetoond de factoren IV, V en i. Van 8 stammen uit katten en 16 stammen uit

duiven is alleen de factor *i* aangetoond. Van 2 geesellooze stammen uit duiven konden alleen de factoren *IV* en *V* worden aangetoond.

De eerste stammen zijn dus met zekerheid *S. typhi-murium*, de andere met groote waarschijnlijkheid.

2. De *S. enteritidis*-stammen, „Gärtner-Kalf” en „D. t.” (uit een duif) zijn beide *S. enteritidis* var. *dublin*.

LITERATUUR BEHOORENDE BIJ HOOFDSTUK X.

- BAHR, L., Dtsch. tierärztl. Wochenschr., **38**, 144, 165, (1930). — BRILL, J., Jahresber. Vet. Med. **56**, 253, (1935). — DRESCHER en HOPFENGÄRTNER, Münch. tierärztl. Wochenschr. **84**, 195, (1933). — ELKELES, Ergebnisse Hygiene, **11**, 68, (1930). — HERRMANN, W., Cbl. Bakt. I. Orig. **114**, 108, (1929). — HILGERS, P. en F. SCHIMAZU, Cbl. Bakt. I. Orig. **124**, 316, (1932). HOHN, J. en W. HERRMANN, Cbl. Bakt. I. Orig. **133**, 183, (1934). **134**, 277, (1935). — JANSEN, JAC., Tschr. Drgeneesk. **62**, 1253, (1935). — KAUFFMANN, F., Zschr. f. Hyg. **111**, 210, (1930). **116**, 368, 617, (1935), Cbl. Bakt. I. Orig. **132**, 337, (1934). — KRISTENSEN en BOLJEN Cbl. Bakt. I. Orig. **114**, 86, (1929). — RIEMSDIJK, M. VAN, Bacteriologische Serologische Methoden enz., Amsterdam, 1925. — SAVINO, E. en P. E. MENENDEZ, G. R. Soc. Biol. **118**, 491, (1935). — SMITH, J. Journ. of Hyg. **34**, 356, (1934). — WINKEL, A. J., Tdschr. v. Diergeneesk. **49**, 559, (1922). — ZAHN, E., Zeitschr. f. Immun. forschung, **86**, 162, (1935). — DAVID, H., Cbl. Bakt. I Orig. **109**, 416, (1928).

HOOFDSTUK XI.

NABETRACHTING EN CONCLUSIES.

Most members of the general public and some scientific writers use language which implies that it is reasonable to hope that bacterial vaccines, or similar immunizing agents, may be found which will place the vaccinated, vis à vis with some particular risk (.....) precisely in the (mythical) position of King Mithradates ¹⁾ who could consume the most deadly poisons as table beverages.

M. GREENWOOD, W. W. C. TOPLEY en
J. WILSON (1931).

Bij de bestudeering van de literatuur was gebleken, dat van de subcutane preventieve enting tegen *Salmonella* infectie verscheidene resultaten zijn beschreven, waarover het oordeel der waarnemers wisselt. Hetzelfde is het geval bij de perorale enting. Voor zoover uit de praktijkwaarnemingen objectief conclusies waren te trekken, maakten de mededeelingen betreffende de subcutane vaccinatie een gunstiger indruk, dan die betreffende de vaccinatie per os. Weliswaar werd hier de invloed ondervonden van het feit, dat van de subcutane enting uitgebreider gegevens bestaan dan van de perorale.

Bij bestudeering van literatuur over vaccinatie bij muizen werden enkele gevallen gevonden waarbij door vaccinatie per os vermeerderde weerstand zou zijn opgewekt. Veel van wat bij dit soort proeven is beschreven als perorale vaccinatie blijkt een niet nosogene infectie met een levende cultuur te zijn geweest, wat het mechanisme natuurlijk geheel verandert.

Met subcutane vaccinatie zijn evenals met andere parenterale methoden bij deze diersoort gunstige resultaten bereikt, al is een absolute immuniteit niet verkregen.

Bij beschouwing van de eigen resultaten dient te worden vooropgesteld, dat van de verrichte experimenten zich tot het formuleeren

¹⁾ Zie KOLLE, Cbl. Bakt. I. Orig. 104, Beiheft, 90, (1927).

van conclusies alleen leenen de vaccinatieproeven I, II, III, IV, V, VI, VII, XI en XIV.

De proeven IX, X, XII en XIII zijn op te kleine schaal genomen; bij de proef VIII is de infectie mislukt. Behalve in de proef X, die een geval van spontane infectie betrof, is als eenige verontschuldiging aan te voeren een aanvankelijk onvoldoende inzicht, naast te ver doorgevoerde economie onder den drang der tijden.

Deze fout is tevens gemaakt onder invloed van tal van publicaties, waarin echter de resultaten van dergelijke proeven wel tot het trekken van conclusies zijn gebruikt.

Zij zijn hier vermeld, in de eerste plaats omdat zij gegevens omtrent de infectiemodus leveren, en in de tweede plaats in vergelijking met de andere proeven, om te demonstreeren tot welke foutieve conclusies men zou kunnen geraken, indien men op grond van dit soort proeven een oordeel ging vellen.

De opzet der proeven was:

a. na te gaan in hoeverre verhoogde resistentie door subcutane vaccinatie bij muizen was op te wekken.

b. te onderzoeken of ook na vaccinatie per os bij muizen verhoogde resistentie was waar te nemen, waarbij vaccins werden gebruikt, die bij subcutane vaccinatie een immuniseerende waarde hadden gedemonstreerd.

c. in aansluiting op gedane waarnemingen na te gaan of bij andere diersoorten met vaccinatie per os resultaten waren te bereiken.

De meeste van de proeven zijn genomen met vaccins bereid van langdurig (14 dagen) gegroeide bouilloncultuur. Dit vond zijn oorsprong in een aanvankelijke toeneiging tot de antiviruseer van BES-REDKA. De resultaten met dit bouillonvaccin bij subcutane applicatie waren niet beter, dan die met op doelmatige wijze bereide agarvaccins; het had daarom geen zin, zooals in het omgekeerde geval in de bedoeling had gelegen, te trachten na te gaan welke componenten bij een eventueel beter resultaat van het bouillonvaccin een rol zouden hebben gespeeld.

Zooals in hoofdstuk VII is medegedeeld, is met meermalige subcutane vaccinatie verhoogde resistentie tegen infectie verkregen kunnen worden. In de hoofdstukken VII, VIII en IX is bij groepen van voldoende grootte van muizen, duiven en katten nooit eenige significante aanwijzing voor resultaat van perorale vaccinatie waargenomen.

De subcutane vaccinatie werd alleen verricht bij de huismuis. Hierbij werd opgemerkt, dat de beschuttingsduur der vaccinatie waarschijnlijk niet langer is dan enkele weken (kunstmatige en spontane herinfecties).

Er dient op te worden gewezen, dat vermoedelijk de schuld van dit verschijnsel niet bij de vaccinatie, doch bij het proefdier ligt. Ook TSUNEKAWA (1924) ¹⁾ nam dit waar bij vaccinatieproeven met *S. typhi* bij muizen. Deze schrijver stelt vast, dat zoowel bij vaccinatie met *S. typhi* als met pneumococci en streptococci de verhoogde resistentie veel sneller afneemt dan bijvoorbeeld bij *caviae*. Hij brengt dit verschijnsel in samenhang met het geringer lichaamsgewicht en de snellere stofwisseling van de muis. Het dient in verband hiermede te worden opgemerkt, dat GREENWOOD (1929) ²⁾ naar aanleiding van door HILL (1925) verzamelde cijfers den leeftijd van de huismuis heeft bestudeerd. Het bleek hem, dat de gemiddelde leeftijd in deze diersoort 636.5 dagen bedraagt. Hieruit leidde hij af, dat een muizendag overeenkomt met 0.081 menschenlevensjaar.

Omgerekend blijkt dus een muizendag overeen te komen met een menschenmaand. Zonder deze berekening ten volle op de verkregen cijfers te willen toepassen, maakt dit feit het werkelijk begrijpelijk, dat de resultaten ten opzichte van een muizenleven bevredigend zijn en voor groote dieren de beschutting vermoedelijk veel langer tijd zal aanhouden. Omdat over den duur hiervan bij muizen toch geen direct over te brengen gegevens zijn te verzamelen, is er vanaf gezien den alleen theoretisch belangrijken juist den duur van de beschutting na subcutane vaccinatie bij muizen vast te stellen.

Het niet gelukken van de vaccinatie per os in de eigen proeven dwingt niet om een absoluut ontkennend oordeel over deze uit te spreken. Wel geeft dit verschijnsel de aanwijzing, dat, in het midden gelaten of de perorale enting eenig resultaat oplevert, deze moeilijk op de juiste wijze is te appliceren bij de verschillende diersoorten. Dit zou met zich medebrengen, dat een systeem van perorale vaccinatie zou moeten worden uitgewerkt op de diersoort, waarop men deze in de praktijk zou willen toepassen.

Zou dit bijvoorbeeld bij duiven, dieren waarvoor aanvankelijk de bedoeling bestond een bruikbare perorale vaccinatie te construeeren, nog mogelijk zijn, het beproeven van verschillende doses, intervallen, sensibilisatoren, enz. laat ons zeggen op vossen of kalveren, zou al zeer kostbaar worden.

¹⁾ S. TSUNEKAWA, Zschr. f. Hyg. 103, 649, (1924).

²⁾ M. GREENWOOD, J. of Hyg. 28, 269, (1929).

Daarbij is, als men de op theoretischen grondslag aan perorale vaccinatie toegekende onmiddellijke werking op zijde stelt, aan de vaccinatie waarlijk niet zoo een groot voordeel verbonden in vergelijk met de subcutane. Meer in het bijzonder lijkt het een voordeel, dat de subcutane vaccinatie zal dienen te geschieden door een deskundige, die op deze wijze de applicatie zoowel als de resultaten onder zijn onmiddellijke contrôle heeft, terwijl, zelfs al zou de perorale applicatie niet door den eigenaar zelf geschieden, men dan nog wat betreft nevenomstandigheden b.v. vasten vooraf, zou moeten blijven vertrouwen op de voldoende betrouwbaarheid van den verzorger. Daarnaast zal vasten vooraf voor jonge zoogdieren, die bij de moeder verblijven (b.v. vossen) zijn moeilijkheden kunnen opleveren. Nog meer dan bij subcutane enting zal bij perorale enting een deel van de vaccinverstrekking voor dieren allicht in handen van leeken en kwakzalvers geraken, wat de betrouwbaarheid van de vaccins (die vooral bij een dergelijk subtiel systeem, stelle dat het ware toe te passen, van veel belang zal zijn) niet ten goede zou komen en daardoor strijdig zijn met het algemeen belang.

Bij de subcutane vaccinatieproeven is de overwegende beteekenis van het O-antigeen bij de vaccinatie wederom bevestigd. Met het *S. typhi* vaccin werd tegen *S. enteritidis* var. *dublin* infectie een gunstig resultaat verkregen. Echter bleek het in dit vaccin aanwezige Vi-antigeen A niet in staat deze vaccinatie beter te doen zijn, dan de vaccinatie met de *S. enteritidis* var. *dublin* vaccins. Dit onderzoek werd verricht voordat kennis was genomen van de mededeeling van KAUFFMANN (1935) over de vermoedelijke soortspecifieke verdeeling van het Vi-antigeen. De komende jaren zullen betreffende het Vi-antigeen vermoedelijk meer licht verspreiden. Voorloopig zal met het oog op dit antigeen dienen te worden in acht genomen wat in hoofdstuk II in het algemeen betreffende vaccinbereiding is opgemerkt¹⁾.

Voor de diergeneeskundige praktijk blijkt dus de subcutane vaccinatie van beide systemen de meest aangewezen. Een 2 à 3-malige injectie met intervallen van enkele dagen zal hiervoor kunnen worden toegepast. Het vrij hoge dragerschap onder de muizen, waar-

¹⁾ Nieuwe gegevens betreffende Vi-antigeen zie FELIX c.s. J. Hyg. 35, 421, 428, (1935), hierin wordt o.a. vaccinatie met een Vi-R-stam beschreven.

bij echter de onhygiënische levenswijze van muizen eenerzijds en de herhaalde besmettingskans door contact anderzijds als factoren niet zijn uit te sluiten, doet hierbij echter nogmaals wijzen op de oude waarheid, dat naast vaccinatie bij de praktische bestrijding de hygiënische maatregelen niet dienen te worden verwaarloosd. Immers zooals aan het begin van dit hoofdstuk is geciteerd wijzen ook GREENWOOD c.s. op het relatieve van elke „immunitet”. (In dit proefschrift is daarom zooveel mogelijk dit woord vervangen door „verhoogde resistentie”).

Het laat zich echter denken, dat het spontane ziekteverloop meer zal gelijken op dat in de proeven V en VII, dan op dat in de andere muizenproeven. Het resultaat daarbij met subcutane enting verkregen was zeer bevredigend; tenminste als men hierbij in rekening wil brengen, dat van de talrijke dragers zich onder meer normale omstandigheden nog verscheidene zouden hebben gereinigd.

In ieder geval zal bij een goed uitgevoerde bestrijding van deze ziekten kunstmatig vermindering van de infectiekans naast de toepassing van vaccinatie een groote rol dienen te spelen.

De resultaten bij dit onderzoek bereikt brengen geen nieuwe gezichtspunten, zij dragen echter het hunne bij ter bevestiging van wat reeds was vastgesteld, al was daaraan door de waarnemers niet altijd de interpretatie gegeven, die er in deze studie aan wordt verleend.

Tenslotte is ook de experimentator slechts een toeschouwer bij experimenten, die de natuur voor zijn oogen doet geschieden. Het zou daarom veel ongeloofwaardiger zijn, als nieuwe geheel strijdige uitkomsten waren verkregen, dan wanneer, vooral na onderlinge vergelijking, de resultaten meerendeels blijken overeen te stemmen.

CONCLUSIES:

1. Experimenteele *Salmonella*-infectie per os met geringe dosis is bij muizen een geschikte methode ter toetsing van vermeerderde groepsresistentie.
2. Jonge katten zijn gevoelig voor spontane infectie met *S. typhimurium* zoowel als voor experimenteele infectie, per os.
3. Onder duiven komt veelvuldig spontane *S. typhimurium* infectie voor. Zij zijn gevoelig voor experimenteele infectie per os.

4. Bij proeven met muizen blijkt, dat eenmalige subcutane, rectale en perorale vaccinatie geen resultaat oplevert.

5. Meermale vaccinatie per os op heeft zoo min bij muizen als bij katten en duiven eenig resultaat opgeleverd.

6. Tweemalige en driemalige subcutane vaccinatie leverde bij muizen gunstige resultaten; de indruk werd gewekt, dat vooral het verloop van de ziekte milder was en niet zoozeer de primaire invasie werd beïnvloed, daar het totaal aantal geïnfecteerden (dooden + dragers) niet werd gewijzigd.

7. Uit de literatuur blijkt, dat deze ervaringen vele oudere waarnemingen bevestigen. De gunstige resultaten der perorale vaccinatie in de literatuur beschreven bieden veelal geen weerstand aan een kritische beschouwing.

8. Subcutane vaccinatie tweemaal of driemaal is een methode, die naast hygiënische maatregelen tot bestrijding en voorkoming van *Salmonella* infectie ook onder huisdieren dient te worden aanbevolen.

9. Aangezien de subcutane vaccinatie voornamelijk het verloop van de ziekte gunstig beïnvloedt en niet zoozeer de primaire invasie verhindert, zal deze vooral daar op haar plaats zijn, waar in de eerste plaats het leven van het individu behouden dient te worden; bij het uitroeien van een deels latente infectie onder een populatie dienen de hygiënische maatregelen op den voorgrond te staan.

10. Als vaccin kan aanbevolen worden: met physiologische keukenzoutoplossing afgeschudde agarcultuur, gedood door toevoeging van formaline 1 op 500 en 24 uur plaatsen in de broedstof; zijnde dit een eenvoudig en snel uit te voeren procedé dat geheel in overeenstemming is met het huidig wetenschappelijk inzicht in de anti-geenwerking van de vaccins.

11. Vaccinatie per os is een proces, dat mogelijk zijn theoretische waarde heeft, doch veel minder gemakkelijk is te modificeeren voor verschillende diersoorten, zoodat het geen aanbeveling verdient deze, zonder een uitgebreide voorafgaande experimenteele ervaring, op een bepaalde diersoort practisch toe te passen.

TABELLEN I, II en III.

Vaccinatieproef						II			III		IV				VI				VII			
Groep																						
voorbh.	sube 1 x	sube 1 z	per os 1 x	per os 1 x	controle	sube 3 x	per os 3 x	controle	rectaal 1 x	per os 3 x	controle	sube 2 x	sube 2 x	sube 2 x	controle	sube 3 x	sube 3 x	sube 3 x	controle	per os 3 x	controle	
vaccinatie	verhit 70° C bouillon	formaline 1:500 bouillon	verhit 70° C. bouillon	formaline 1:500 bouillon		verhit 70° C. bouillon	verhit 70° C. bouillon		verhit 70° C. bouillon	verhit 70° C. bouillon		formaline 1:500 bouillon	formaline 1:500 bouillon	verhit 70° C. bouillon		S. ent. dubl. form. 1:500 agar	S. typhi form. 1:500 agar	S. ent. dubl. verh. 100° C agar		S. ent. dubl. form. 1:500 agar		
Aantal proefdieren	24	24	22	19	25	18	8	13	24	12		14	14	14	15	13	50	31	29	53	52	46
Dag																						
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0
5	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	4	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	2
7	1	1	3	0	3	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	2	2	3	4
8	2	1	3	2	3	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	2	6	1	1	1
9	2	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	2	4	2	3	3
10	1	3	2	2	2	1	0	0	2	0	0	0	0	3	0	0	2	0	2	1	0	0
11	1	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	0	0	3	5	1	4	1	4	2	2	2
12	1	0	1	1	0	3	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1	1	1	1	1	0	0
13	2	0	3	1	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2	1	1	3
14	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	1
15	0	0	0	0	1	2	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0
16	0	0	0	1	0	0	2	1	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
17	2	2	1	2	2	1	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
18	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
20	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
41	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
43	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
44	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
49	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
52	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
53	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
57	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
59	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

TABEL I. Verloop van de sterfte in de vaccinatieproeven I, II, III, IV, VI en VII.

Toelichting: De dagen zijn gerekend vanaf de infectie, d.w.z. 1 dag, 2 dagen enz. na de infectie.

De cijfers geven weer hoeveel dieren op een bepaalden dag zijn gestorven.

De dag van afmaken der overlevenden is vet gedrukt.

TABEL II

Vaccinatie

proef V

Groep	Voor- behandeling	Infectie- datum	Dosis cultuur	Observatie- tijd	Aantal dieren	Ge- storven	Percentage gestorven	Sterfdagen	Dragers	Gestor- venen + dragere	Percentage gestorvenen + dragere
1a	vacc. per os. 3w.	19-VII	0.1cc	29d.	20	: 10	50%	9, 10, 10, 10, 11, 11, 12, 13, 16, 21d.	4	14	70%
1c	vacc. subc.	19-VII	0.1cc	36d.	30	: 2	6.6%	11, 13d.	16	18	60%
1d	contr.	19-VII	0.1cc	36d.	18	: 6	33.3%	12, 12, 14, 15, 16, 17d.	2	8	44%
2b	vacc. per os. 3d.	21-VII	0.1cc	34d.	24	: 6	25%	7, 11, 13, 13, 14, 15d.	2	8	33.3%
2d	contr.	21-VII	0.1cc	35d.	13	: 2	15%	11, 16d.	4	6	46.6%
3a	vacc. per os. 3w.	20-VII	0.01cc	38d.	10	: 1	10%	15d.	4	5	50%
3c	vacc. subc.	20-VII	0.01cc	39d.	28	: 5	18%	28, 28, 30, 36, 38d.	9 ¹⁾	14	50%
3d.	contr.	20-VII	0.01cc	40d.	26	: 4	15%	17, 31, 36, 37d.	13 ²⁾	17	65%
4a	vacc. per os. 3w.	19-VII	0.001cc	33d.	17	: 0	0.00%				
4c	vacc. subc.	19-VII	0.001cc	33d.	27	: 0	0.00%				
4d	contr.	19-VII	0.001cc	33d.	32	: 1	3%				
5b	vacc. per os. 3d.	21-VII	0.001cc	31d.	17	: 1	6%	23d.			
5d	contr.	21-VII	0.001cc	31d.	11	: 0	0.00%		5	5	45.4%

Herinfectie op
21-VIII¹⁾ Bij 2 cultuur uit harteblod positief.²⁾ Bij 2 cultuur uit harteblod positief.

Toelichting zie bladz. 96.

TABEL III

Vaccinatieproef XIV

Infectie 13 en 14 VI 1935

G E V A C C I N E E R D P E R O S	Duif	geboren	gevaccineerd	gestorven	24 VI	gestorven	2 VII	gestorven	11 VII	gestorven	18 VII	gestorven	24 of 25 VII	cultuur afgemaakt	Opmerkingen
	I	468	19 III	9 IV—16 IV		—	—	—	—		1:20			1:10	
	466	19 III	..		—	—	1:80	—	1:40		1:20		—	—	
	464	25 III	..		—	—	—	7 VII	—		1:10		1:40	—	
	458	31 III	..		—	—	1:640	—	1:40		1:10		—	—	
	461	31 III	..		—	—	1:320	10 VII	—		—		—	—	
	463	31 III	..		1:320	—	1:40	8 VII	—		—		—	—	
	471	5 IV	..		—	—	1:20	—	1:160		1:20		—	—	
	486	9 IV	13 IV—20 IV		1:40	29 VI	—	—	—		—		—	—	
II	543	26 IV	11 V—18 V		—	—	—	—	—		—		—	Milt Ovarium	
	541	1 V	..		— ¹⁾	29 VI	—	—	—		—		1:20	beide nieren, lever milt, testes	
	547	1 V	..		—	—	—	—	—		—		—	—	
	539	3 V	..		—	28 VI	—	—	—		—		—	—	
	537	7 V	..	24 VI	—	—	—	—	—		—		—	—	
	558	12 V	16 V—23 V		1:20	—	1:320	—	—		1:10		1:10	lever, nier, testes	
	560	12 V	16 V—23 V		1:640	—	1:80	3 VII	1:20		—		—	—	
C O N T R O L E	I	609	16 III		1:40	—	1:640	—	1:80		—		1:80	lever, milt	
		456	19 III		— ¹⁾	29 VI	—	—	—		13 VII		—	—	
		459	30 III		1:40	—	1:40	—	1:80		—		1:40	—	
		489	13 III		1:20	—	1:320	—	1:40		—		—	—	
		470	5 IV		— ¹⁾	27 VI	—	—	—		—		—	lever	
		485	10 IV		—	—	—	—	—		—		—	—	
	II	535	20 IV		1:20	—	1:320	—	1:160		13 VII		1:160	1:640	535 { 6 VIII 1:320, 20 VIII 1:320 23 VIII afgemaakt —
		536	20 IV		—	—	—	—	1:40		—		1:40	1:40	—
		544	25 IV		1:160	—	1:160	—	1:160		14 VII		1:160	1:160	544 { 6 VIII 1:80 gestorven 14 VIII +
		542	1 V		1:40	—	1:40	—	1:160		—		—	—	—
		540	3 V		—	—	1:80	—	1:80		—		1:20	1:40	lever
		538	7 V		—	29 VI	—	—	1:40		—		1:40	1:40	lever, nier
		557	12 V		1:40	—	1:40	—	1:40		—		—	—	—
		642	? V ²⁾		24 VI	—	—	—	—		—		—	—	—
		643	? V ²⁾		1:40	27 VI	—	—	—		—		—	—	—
	645	? V ²⁾		1:80	—	1:160	—	1:10		—		—	1:10	—	

Toelichting:

Deze tabel is te lezen als volgt: Duif 468 is geboren op 19-III, gevaccineerd (4 × om den anderen dag) tusschen 9-IV en 16-IV, op 24-VI en 2-VII serum onderzocht met negatief resultaat, op 11-VII bedroeg de titer 1 : 20, enz., het dier overleefde de proef, cultuur bij afmaken was negatief. Duif 486, geboren op 9-IV, werd vacci-

neerd als voren, op 24-VI werd een titer vastgesteld van 1 : 40, de duif stierf op 29-VI, enz.

1) Van het zieke individu slechts zooveel bloed verkregen dat de verdunningen op 1 : 40 moesten worden begonnen.

2) Datum niet aangeteekend.

INHOUD

		Blz.
HOOFDSTUK	I. Ter Inleiding	1
HOOFDSTUK	II. Genus <i>Salmonella</i> Eigenschappen, antigeenstructuur ...	4
HOOFDSTUK	III. Beoordeelingswijze van waargenomen cijfers	18
HOOFDSTUK	IV. Vaccinatie subcutaan en per os en de daarmede verkregen resultaten... ..	23
HOOFDSTUK	V. <i>Salmonella</i> -infectie bij <i>Mus musculus</i>	50
HOOFDSTUK	VI. <i>Salmonella</i> -vaccinatie bij <i>Mus mus-</i> <i>culus</i>	59
HOOFDSTUK	VII. <i>Salmonella</i> -infectie en <i>Salmonella</i> -vac- cinatie bij <i>Mus musculus</i> (eigen onder- zoek)	84
HOOFDSTUK	VIII. <i>Salmonella</i> -infectie en <i>Salmonella</i> -vac- cinatie bij <i>Carnivora</i>	111
HOOFDSTUK	IX. <i>Salmonella</i> -infectie en <i>Salmonella</i> -vac- cinatie bij <i>Columba livia</i> var. <i>domestica</i>	127
HOOFDSTUK	X. Determinatie der gebruikte en geïso- leerde <i>Salmonella</i> -stammen	157
HOOFDSTUK	XI. Nabetrachting en conclusies	167
TABELLEN	I, II en III	
Literatuur	zie bladz.	16, 22, 48, 109, 125, 156, 166

STELLINGEN

I.

Levende culturen van *Salmonella enteritidis* var. *danysz* zijn niet ongevaarlijk voor den mensch en voor huisdieren; ter bestrijding van ratten en muizen dienen zij alleen onder direct deskundig toezicht te worden toegepast.

II.

De symptomen bij de kat, die leiden tot het stellen van de diagnose infectieuse pseudomembraneuse enteritis zijn niet zoodanig typisch, dat andere ziekteoorzaken (o.a. vergiftiging) zonder sectie kunnen worden uitgesloten.

III.

Zoolang de Wet de operaties op gezonde dieren aan anderen dan veeartsen toestaat, is het de plicht van den practiseerenden dierenarts ter voorkoming van onnoodig dierenleed ook „mode-operaties” te verrichten, voor zoover deze niet als poging tot bedrog zijn aan te merken.

IV.

De huismuis is voor het bestudeeren van de aetiologie der vleeschvergiftigingen geen geschikt object.

V.

Het verdient aanbeveling te onderzoeken in hoeverre voor de bereiding van kleine hoeveelheden agglutineerend serum van *Salmonella* de rat het konijn kan vervangen.

VI.

De bevoegdheid in artikel 8 van de Vleeschkeuringswet aan de plaatselijke Vleeschkeuringsdienst verleend ten opzichte van het onderzoek van vleesch, dat uit eene andere gemeente wordt ingevoerd, dient zoodanig te worden uitgebreid, dat ook op andere afwijkingen kan worden onderzocht, dan die in het eerste lid van dat artikel worden vermeld.

VII.

De oorzaak van het gemakkelijker rechts galopperen der meeste paarden dient te worden gezocht in een bij het paard aanwezigen aanleg, en niet, zooals LUDWIG (1932) aanneemt, in het rechts-beenig zijn van het meerendeel der ruiters („die gröszere Agilität und Kraft des rechten Beines”), ook de volgens dezen schrijver bij het paard bestaande rechtswendigheid laat zich op dezen grond verklaren.

(W. LUDWIG Das Rechts-Links-Problem
Monogr. Ges. geb. der Physiol. Bnd. 27).

VIII.

Ten onrechte meenen BAERMAN en ZUELZER (1928) de identiteit van de pathogene spirochaeten van de typus *Spirochaeta icterogenes* syn. *icterohaemorrhagiae* en de daarmede verwante water-spirochaeten van dezelfde typus bewezen te hebben.

(C. bl. Bakt I Orig. 105, 347, (1928)).

IX.

De door NIEBERLE (1928) als „Paratyphus-knötchen” beschreven haardvorming in de lever komt ook bij andere ziekten dan bij *Salmonellainfectie* voor.

(Arch. Tierheilk. 57, 521, (1928)).

