



Het kweken van tuberkelbacillen bij de bestrijding der rundertuberculose : een klinisch-bacteriologische studie

<https://hdl.handle.net/1874/363942>

. g. m. 192, 1943

HET KWEEKEN VAN
TUBERKELBACILLEN BIJ DE BESTRIJDING
DER RUNDERTUBERCULOSE

D. MULDER

HET KWEKEN VAN TUBERKELBACILLEN BIJ
DE BESTRIJDING DER RUNDERTUBERCULOSE

Diss. Utrecht 1943

HET KWEKEN VAN TUBERKEL- BACILLEN BIJ DE BESTRIJDING DER RUNDERTUBERCULOSE

EEN KLINISCH-BACTERIOLOGISCHE STUDIE

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE VEEARTSENIIJKUNDE AAN DE
RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG
VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS L. VAN VUUREN,
HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN
EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN
SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN DE BE-
DENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER VEE-
ARTSENIIJKUNDE TE VERDEDIGEN OP DONDER-
DAG 1 JULI 1943 DES NAMIDDAGS TE 3 UUR

DOOR

DIRK MULDER

DIERENARTS BIJ HET MELKCONTRÔLE-STATION
„ZUID-HOLLAND” TE ROTTERDAM,
GEBOREN TE KOOG AAN DE ZAAAN

1943

Drukkerij J. van Boekhoven - Utrecht - Amsterdam



AAN MIJN OUDERS
AAN MIJN VROUW
AAN MIJN KINDEREN

Het klinisch gedeelte dezer onderzoekingen werd verricht aan de Kliniek voor Inwendige Ziekten van de Veeartsenijkundige Faculteit der Rijks-Universiteit te Utrecht (Dir. Prof. Dr. J. A. BEIJERS), het cultureel-bacteriologisch gedeelte werd uitgevoerd in het laboratorium voor de Kennis der menschelijke voedingsmiddelen van dierlijken oorsprong van deze Faculteit. (Dir. Prof. C. F. VAN OIJEN).

Bij het voltooiën van dit proefschrift grijp ik deze, mij geboden gelegenheid gaarne aan om U, hoogleeraren en docenten der Veeartsenijkundige faculteit bij het voleindigen van mijn Universitaire studie, op deze plaats mijn welgemeenden dank te betuigen.

Aan U, Hooggeleerde VAN OIJEN, Hooggeachte Promotor, ben ik zeer bijzonderen dank verschuldigd voor den steun en voorlichting, dien ik bij de bewerking van dit onderwerp van U mocht ondervinden. Uw gewaardeerde adviezen en kritische opmerkingen hebben er zeer veel toe bijgedragen dit werk te maken tot wat het geworden is.

Hooggeleerde BEIJERS, ten zeerste waardeer ik de groote gastvrijheid en steun, die ik in Uw kliniek heb mogen ontvangen om het benodigde materiaal voor het beoogde onderzoek te verzamelen. Ook voor den steun bij de bewerking van het klinisch gedeelte betuig ik U mijn oprechten dank.

Eveneens tot U, Hooggeachte VAN DER SLOOTEN, richt ik een woord van dank voor de bereidwilligheid waarmede U mij in staat stelde de juistheid der gestelde diagnoses in de opgespoorde gevallen vast te stellen.

Een bijzonder woord van dank breng ik Heeren Beheerders der Prof. Dr. D. A. de Jong-Stichting voor de waarlijk onbekrompen wijze, waarop zij het voor mij mogelijk gemaakt hebben, dit onderzoek tot een goed einde te brengen.

Ook tot U, Zeergeachte Heer PADMOS, gaat mijn dank uit voor de wijze waarop gij mij in staat gesteld hebt het werk te voltooiën.

Aan het personeel van de kliniek voor Inwendige Ziekten en Buitenpraktijk mijn dank voor de aangename medewerking.

Tevens spreek ik mijn dank uit aan de Heeren WATRIN en JONGERIJUS voor de zorg waarmede zij steeds het aan hen toebehoorende deel der werkzaamheden hebben verricht, aan collega J. HOEKSTRA — Utrecht voor het gereedmaken der praeparaten, die als micro-photo's zijn afgebeeld en aan den Heer WITMANS voor de fraaie wijze waarop hij de gekleurde teekeningen heeft vervaardigd.

Ten slotte mijn oprechten dank aan ieder, die mij op eenigerlei wijze behulpzaam is geweest bij het uitwerken van dit proefschrift.

IX

INHOUD.

	Blz.
Voorwoord	VII
Inhoud	IX

HOOFDSTUK I.

Techniek van het onderzoek	1
§ 1. Inleiding	1
§ 2. Het verzamelen der sputum-monsters	2
§ 3. Het verwerken der sputum-monsters	3
§ 4. De gebruikte voedingsbodem	4
§ 5. Het contrôleeren der geënte voedingsbodems	5
§ 6. Bepaling van de soort der op de voedingsbodems gegroeide micro-organismen.	6

HOOFDSTUK II.

Beschrijving der gevallen waarin tuberkelbacillen uit het sputum werden gekweekt	9
§ 1. Overzicht der gevallen	9
§ 2. Groep 1. Volledig onderzochte gevallen	10
§ 3. Groep 1a. Niet geheel volledig onderzochte gevallen	13
§ 4. Groep 2. Gevallen met indirecte bewijskracht; cavia met sputum ingespoten	16
§ 5. Groep 3. Idem; de sectie van het onderzochte dier levert het bewijs	18
§ 6. Groep 4. Idem; diagnose alleen op het resultaat van het cultureel onderzoek	22

HOOFDSTUK III.

De waarde van enkele nieuwere methoden van microscopisch onderzoek	24
§ 1. Inleiding	24
§ 2. Kort literatuur-overzicht omtrent de toepassing der fluo- rescentie-microscopie bij het onderzoek van sputum op tuberkelbacillen	24

	Blz.
§ 3. Vergelijking van de resultaten der Ziehl-Neelsen-kleuring met die van de fluorescentie-microscopie	28
§ 4. Vergelijking der resultaten verkregen bij het onderzoek van praeparaten gekleurd volgens ZIEHL-NEELEN en volgens JÖTTEN-HAARMANN	30
§ 5. Vergelijking van de cultuur-methode met een „anreicherungs” methode	32
§ 6. Vergelijking van de cultuurmethode met de dierproef	33

HOOFDSTUK IV.

Verschillende oriënteerende onderzoekingen	35
§ 1. Inleidende onderzoekingen	35
a. Cultuurproeven met sputa waarin bij bacterioscopisch onderzoek tuberkelbacillen zijn aangetroffen	35
b. De strijd tegen de „verontreinigingen”	36
I. Algemeen overzicht	36
II. Over het gebruik van andere concentraties H_2SO_4 of wel HCl bij het bewerken van het sputum	39
c. De duur van het onderzoek	40
§ 2. Andere voedingsbodems	43
§ 3. Onderzoek van andere secreta dan sputum.	46
§ 4. Klinisch onderzoek	50
I. De gang van het onderzoek	50
II. Het verzamelen van sputum	53

HOOFDSTUK V.

Literatuur-overzicht over de toepassing der kweekmethode bij het opsporen van gevallen van open tuberculose onder het rundvee	58
---	----

HOOFDSTUK VI.

Bespreking der gevallen waarin aanleiding is de kweekmethode toe te passen	65
§ 1. Toepassing bij het individueele dier	65

§ 2. Toepassing van de kweekmethode bij veestapels waar ondanks goed doorgevoerde bestrijding telkenjare nieuwe gevallen van positieve reactie optreden	68
§ 3. Te bereiken resultaten bij verschillende wijzen van toepassen der kweekmethode	70
Taak voor de Gezondheidsdiensten voor het vee	72

HOOFDSTUK VII.

Over de methoden ter bestrijding der tuberculose onder het rundvee	73
§ 1. Inleiding	73
A. Radicale methode van bestrijding der rundertuberculose	74
B. Benaderende methode van bestrijding der rundertuberculose	76
§ 2. Verschillende in de practijk toegepaste benaderende methoden	77
1. Systeem VON OSTERTAG	77
2. Systeem BANG	79
§ 3. Systemen in Nederland toegepast	80
1. Overzicht van de werkzaamheden der ter zake ingestelde commissies	80
2. Systeem POELS-LOVINK	82
3. Rijkssysteem van 1911	83
4. Vrijwillig systeem van de Friesche Gezondheidsdienst	84
5. Vrijwillig systeem van 1928 met Rijkssteun	89
Zusammenfassung	103
Summary	105
Résumé	106

HOOFDSTUK I.

Techniek van het onderzoek.§ 1. *Inleiding.*

Doel van het onderzoek is: in het kader van de tegenwoordige tuberculose-bestrijding onder het rundvee een methode te vinden, waarbij met de grootst mogelijke trefzekerheid de gevallen van open-tuberculose worden opgespoord, waarna deze smetstofverspreiders verwijderd kunnen worden. Dit is wel een eerste vereischte, wil men tot saneering van den veestapel komen.

In verschillende mededeelingen over de resultaten der thans gebruikelijke methode van tuberculose-bestrijding wordt de klacht geuit, dat het doel niet snel genoeg wordt bereikt en dat, ondanks het vele werk daaraan besteed, op enkele stallen toch nog weer nieuwe gevallen ontstaan. Alles wijst er op, dat op zulke bedrijven het opsporen van de open lijders onvoldoende is geweest. Wel wordt op deze boerderijen gestreefd naar een zoo volkomen mogelijk „tuberculose-vrije opfok” van de jonge dieren en daarbij dus naar het zoo volledig mogelijk gescheiden houden van de „gezonde” en de „reageerende” dieren, maar toegegeven moet worden, dat vooral dit laatste in de practijk op tal van moeilijkheden stuit. Hoe zorgvuldig men deze scheiding uitvoert, (zie het rapport der desbetreffende commissie uit de Mij. voor Diergeneeskunde d.d. 18 Oct. 1940 ¹⁾) steeds blijft een belangrijke mogelijkheid van onderlinge besmetting op stal zoowel als in de weide bestaan.

De hiergenoemde z.g. „hygiënische maatregelen” zullen te beter tot het doel voeren, naarmate de kans, dat er onder de „reageerende dieren” lijders aan open vormen der tuberculose voorkomen, geringer is. Daarom moet bij de bestrijding dezer ziekte het zwaartepunt gelegd worden op het ontdekken van deze smetstofverspreiders.

Voor het opsporen van smetstofverspreiders hebben wij de keuze uit 4 methoden nl.:

- A. Algemeen klinisch onderzoek;
- B. Bacterioscopisch onderzoek van se- en excreta;
- C. Dierproeven met se- en excreta;
- D. Cultuurproeven met se- en excreta.

Bij het algemeen klinisch onderzoek komen wij niet heel ver en bovendien is dit onderzoek eerst volledig, als er tevens een microscopisch onderzoek der se- en excreta plaats vindt.

Bij het bacterioscopisch onderzoek komen wij een stap verder; te verwachten is echter, dat nog een aantal gevallen ontsnappen en wel die, waar slechts enkele bacillen in het verwerkte materiaal aanwezig

¹⁾ Zie ook het bijzondere rapport der „Stalcommissie” uit deze Mij. gepubliceerd in 1941.

zijn. Dit is eenigszins te ondervangen door meer praeparaten van hetzelfde monster te maken, langer te microscopiseeren en meermalen een onderzoek in te stellen. Voor practisch gebruik komt men hier echter spoedig aan de grens van het mogelijke. ¹⁾

De dierproef kan ons nog weer dichter bij het beoogde doel brengen, maar hier komen als nadeelige factoren de lange tijdsduur en vooral de kosten van de proef in het spel, waardoor een algemeene doorvoering niet mogelijk is. Toch kan men in tal van geschriften uit den laatsten tijd den wensch beluisteren, dat bij het thans gevolgde systeem een ruimer gebruik van de dierproef voor het onderzoek van se- en excreta zou worden gemaakt en in verschillende „Gezondheidsdiensten” wordt in deze richting met succes uitbreiding aan het onderzoek gegeven. (Zie o.a. de verslagen van den Gezondheidsdienst voor Vee in Friesland.) De bovengenoemde nadeelen van de proef doen zich daarbij echter steeds sterker gevoelen.

Wij hopen in het onderstaande aan te toonen, dat de toepassing van de cultuurproef ons in staat stelt op eenvoudige wijze een aantal lijders aan open (long-)tuberculose op te sporen, die bij het gebruikelijke bacterioscopisch onderzoek der sputa niet worden ontdekt. Wij laten voorloopig in het midden of de trefzekerheid van dit door ons aanbevolen hulpmiddel even groot is, als bij de cavia-proef wordt bereikt. Eerst een ervaring over langer tijd en met een grooter materiaal dan door ons werd verwerkt, zal op deze vraag een antwoord kunnen geven.

Voor de practijk is van gewicht, dat met deze cultureele methode een aantal smetstofverspreiders worden aangewezen, die met het bacterioscopisch onderzoek der sputa niet worden ontdekt. In bijzondere gevallen, waarbij er reden is de negatieve uitslag van het bacterioscopisch en van het cultureel onderzoek in twijfel te trekken, zal men altijd nog tot toepassing van de cavia-proef kunnen overgaan. Doch het aantal dezer gevallen zal aan de uitvoering van deze proef dan geen bezwaren meer in den weg leggen.

§ 2. *Het verzamelen der sputum-monsters.*

Voor het verkrijgen van sputum-monsters gaan wij aldus te werk:

Het betreffende rund wordt tot hoesten gebracht, hetzij door flink knijpen in het voorste gedeelte van de trachea, hetzij door het dichthouden van den neus, waarbij dan de eerste diepe inspiraties, welke na het los laten gedaan worden, een hoestprikkel veroorzaken. Heeft het dier gehoest, dan wordt direct de sputum-vanger volgens TALLGREN in den slokdarm gebracht, vóórdat het eventueel opgehoeste sputum weggeslikt is. Hierna laat men het rund slikken en haalt dan de sputum-vanger enkele malen op en neer om de aan den wand van den slokdarm klevende deeltjes ook te verzamelen. De inhoud van den beker ledigt

¹⁾ Men zie over dit onderwerp ook Hoofdstuk III van dit werk.

men in een wijmondsche flesch, indien men het monster zoo mee wil nemen naar het laboratorium.

Is daarvoor tijd beschikbaar, dan is het raadzamer den beker direct te ledigen in een petrischaal met zwarten bodem of op een zwart geverfd bord. De sputumdeeltjes zijn nu gemakkelijk te zien en kunnen met een opzuigpipet of met behulp van 2 schrijfpennen overgebracht worden in een klein fleschje of in een centrifuge-buis. Deze manipulaties worden zoo noodig enkele malen herhaald tot er voldoende d.i. minstens $\pm \frac{1}{2}$ cc. sputum verzameld is. De fleschjes worden afgesloten met een gummistop en van een nummer voorzien en zoo naar het laboratorium vervoerd. Het spreekt vanzelf, dat in dit materiaal tal van andere micro-organismen dan t.b.c.-bacillen aanwezig zijn. Het is noodig gebleken, om te voorkomen dat deze zich sterk vermeerderen en het opsporen der t.b.c.-bacillen practisch onmogelijk maken, het verdere onderzoek *ten spoedigste* (althans binnen eenige uren) in te zetten. Verzending der monsters met een openbaar middel van vervoer moet wegens den langen duur daarvan in het algemeen ontraden worden. Moet zulks toch geschieden dan dient aan het sputum een stof te worden toegevoegd, die den groei der ongewenschte microben tegengaat, zonder dat de tuberkelbacillen worden aangetast. (b.v. Kalium-bichromaat opl. 2⁰/₁₀₀ of antiformine).

Wij hebben dit middel nooit toegepast, zoodat wij er geen oordeel over kunnen vellen in hoeverre deze maatregel de doeltreffendheid van het onderzoek gunstig of ongunstig beïnvloedt. Wij hebben de monsters steeds direct na onzen terugkeer op het laboratorium verwerkt, een enkele maal werden zij gedurende een nacht in de ijskast bewaard. Zonder dat wij daarover speciale vergelijkende proeven hebben genomen meenen wij te mogen zeggen, dat dit verblijf in de ijskast den uitslag van de proef niet ongunstig heeft beïnvloed.

§ 3. *Het verwerken der sputum-monsters.*

Van het verzamelde sputum wordt een oogje afgenomen; hiervan wordt een uitstrijk-praeparaat gemaakt, dit wordt gekleurd volgens ZIEHL-NEELSEN. Worden daarin zuurvaste (t.b.c.)-bacillen gevonden, dan is het cultiveeren strikt genomen overbodig.

De rest van het sputum (zoo mogelijk $\frac{1}{2}$ à 1 cc.) gaat in een steriele reageerbuis en er wordt toegevoegd 10 cc. $\frac{1}{2}$ Normaal H₂SO₄. De buis wordt afgesloten met een uitgekookte gummistop. Het H₂SO₄ laten wij nu onder herhaald flink schudden gedurende minstens 20 minuten (beter is 40 minuten) bij kamertemperatuur inwerken. Het schudden dient vooral de eerste malen zeer intensief te gebeuren om een goede verdeling der sputumdeeltjes te bewerken en zoo een betere inwerking van het zuur op de in deze sputumdeeltjes aanwezige bacteriën, andere dan t.b.c.-bacillen, te verkrijgen.

* Nadat het zwavelzuur voldoende lang heeft ingewerkt, wordt het mengsel overgegoten in een steriele bij de centrifuge passende cuvette,

welke afgesloten wordt met een steriele gummistop. Hierna moet gecentrifugeerd worden met een omwentelingssnelheid van minstens 3000 toeren per minuut. (Dit geldt voor een centrifuge met middellijn van 27 à 30 cm. Gebruikt men een centrifuge met grooter middellijn, dan kan het toerental evenredig kleiner zijn). Men moet 15 à 20 minuten centrifugeeren om zeker te zijn, dat de tuberkelbacillen zich in het sediment bevinden. Dan kan de bovenstaande vloeistof afgeschonken, en vervangen worden door steriele physiologische NaCl-oplossing. Na sluiting van de buis (gesteriliseerde stop) wordt door krachtig schudden het sediment uitgewassen om overtollig zuur te verwijderen. Nu wordt nogmaals gedurende 20 minuten gecentrifugeerd. Het nu verkregen sediment is gereed om op den voedingsbodem gebracht te worden.

Het sediment van elk monster wordt in de cuvette, waarin het voor de laatste maal gecentrifugeerd is, na afschenken der bovenstaande vloeistof, opgenomen in 2 cc. steriele physiologische NaCl-oplossing. Dit gebeurt het eenvoudigste door middel van een wijde Pasteursche pipet, welke boven voorzien is van een klein gummidopje. Men krabt met de punt van de pipet het sediment los van den bodem der cuvette en zuigt hierna den inhoud enkele malen op en perst ze weer uit. Na de aldus verkregen homogenisatie verdeelt men de oplossing over 2 voedingsbodems volgens LOEWENSTEIN. Hierna volgt de afsluiting der cultuurbuizen met wattenprop en gummistop.

De aldus bezaaide buizen worden nu 24—36 uur bijna horizontaal in de broedstoom bij 37° C. weggelegd. Dit horizontaal liggen bevordert het zich vasthechten der aanwezige kiemen aan het voedingsbodemoppervlak. Daarna worden de buizen ter verdere bebroeding bij een temperatuur van 37° C. rechtop gezet.

§ 4. De gebruikte voedingsbodem.

Als voedingsbodem is gebruikt de bodem, zooals deze is aangegeven door LOEWENSTEIN met dien verstande, dat de glycerine is weggelaten en het Congorood is vervangen door Malachietgroen.

De samenstelling van den bodem is aldus:

Maak een oplossing van:	
Monokaliumphosfaat	0.4 g.
Magnesium sulfaat	0.04 g.
Magnesium citraat	0.1 g.
Asparagine	0.6 g.
in Aqua destillata	100 g.

Voeg toe aan 120 cc. van deze oplossing 6 g aardappelmeel en steriliseer gedurende 2 uur in een Koch'sche sterilisator.

Na afkoeling tot op 50° C. worden aan de oplossing de inhoud van 4 kippenieren (versch) toegevoegd, waarvan de schaal vóór het openen

goed schoongemaakt is met sublimaatoplossing en methylspiritus. Daarna wordt nog 10 cc. van een steriele oplossing van 2% Malachietgroen toegevoegd. Het mengsel wordt goed geschud en na coleeren door steriel gaas in een steriele kolf, opgevangen.

Het vullen der van te voren gesteriliseerde cultuurbuizen van 16—18mm diameter, geschiedt door middel van een steriele pipet van 10 cc. inhoud. Tijdens en na het vullen verdient het aanbeveling de buis schuin te houden om bezoedeling van den tegenover het oppervlak van het cultuurmedium gelegen wand van de buis te voorkomen. Na het vullen worden de buizen afgesloten met een wattenprop. Vervolgens worden de buizen in het stollingsapparaat van LAUTENSCHLÄGER gebracht en verhit tot de temperatuur, gemeten tusschen de buizen, 80° C. is. Hierdoor stolt de voedingsbodem, terwijl er een voldoende hoeveelheid vloeistof (z.g. condensvocht) overblijft. Als deze temperatuur bereikt is, wordt de verwarmingsbron afgesloten en laat men het apparaat langzaam afkoelen. Het is gewenscht niet meer dan 3 lagen buizen op elkaar te leggen, daar anders de onderste laag te heet wordt, voordat in de bovenste buizen de gewenschte temperatuur bereikt is.

Wanneer de buizen afgekoeld zijn worden ze uit het apparaat genomen, de wattenprop wordt afgeschroeid en de buis verder afgesloten met een gesteriliseerde gummikurk.

Ter contrôle op steriliteit worden de buizen gedurende 4 dagen in de broedstoof bij 37° C. weggezet.

Hierna zijn de buizen voor het gebruik gereed.

§ 5. *Het contrôleeren der geënte voedingsbodems.*

Zooals vanzelf spreekt wordt de groei op de voedingsbodems regelmatig gecontrôleerd. *De eerste zorgvuldige contrôle* der buizen heeft plaats op den 4en—5en dag der bebroeding: deze termijn immers is als kritisch te beschouwen ter onderkenning van inmiddels gegroeide saprophyten. Het is niet te verwachten, dat op dit tijdstip reeds macroscopisch „groei” van t.b.c.-bacillenkolonies zou zijn waar te nemen, zoodat met het bloote oog zichtbare groei met aan zekerheid grenzende waarschijnlijkheid op rekening van „verontreinigers” geschreven kan worden. Ter volledige zekerheid wordt overgeënt op agar en/of bouillon, waarin dan na 24—36 uur een duidelijke groei is waar te nemen. Door het vervaardigen van uitstrijkjes kan de morphologie en de kleurbaarheid der gekweekte kiemen worden onderzocht, waarbij wordt vastgesteld dat zij geen zuurvaste staafjes zijn. Bij voldoende nauwkeurige werkwijze hebben wij echter over het algemeen geen hinder van optredende verontreinigingen.

Microscopische contrôle der culturen.

Na 10—14 dagen bebroeden wordt met een goed uitgegloeid oogje iets van het oppervlak van den bodem afgeschraapt en de buis na sluiting

weer verder bebroed, één en ander met inachtneming der aseptiek, waarbij er dus streng voor gezorgd wordt, dat er geen infectie met luchtkiemen kan plaats vinden. Met een druppeltje condensvocht wordt het afschraapsel op een voorwerpglasje uitgestreken. Na fixatie door de vlam wordt daarna het praeparaat volgens de methode van ZIEHL-NEELSEN gekleurd en dan onder den microscoop bekeken met olie-immersie 1/12 en oculair $5 \times$ (Vergrooting $\pm 900 \times$).

Is er groei opgetreden, dan zijn op dit tijdstip in de meeste gevallen in het microscopisch praeparaat de tuberkelbacillen te zien, verspreid of in kleine hoopjes liggende. (Het komt een enkele maal voor, dat bij zeer geringen groei er juist langs de kolonies afgeschraapt wordt en dat dan het microscopisch praeparaat ten onrechte negatief uitvalt. Deze miswijzing wordt bij latere waarneming gemakkelijk hersteld).

Na dit onderzoek worden alle buizen ter verdere bebroeding opnieuw in de broedstoof geplaatst bij 37° C.

Van de bij microscopisch onderzoek positief bevonden buizen wordt nagegaan na hoeveel tijd er met het bloote oog groei is te onderkennen en tevens wordt het aspect der kolonies beoordeeld.

Een dergelijk microscopisch onderzoek wordt nu om de 5 dagen herhaald bij die buizen, waarop nog geen groei is waargenomen, in totaal 4 maal, m.a.w. voor de laatste maal geschiedt zulks op den 30en dag van de bebroeding. De op dezen tijd nog steriele buizen worden dan nog 3 weken bebroed, waarbij de contrôle eenmaal per week plaats vindt. Is er na dezen tijd, dat is na 7 weken, microscopisch nog geen groei waar te nemen, dan nemen wij aan, dat in het monster geen tuberkelbacillen aanwezig waren. Het komt een enkele maal voor, dat een voedingsbodem bij het eerste onderzoek een positieve uitslag te zien geeft en dat er bij het 2e onderzoek geen bacillen gevonden worden. Voor dit feit wordt als verklaring aangenomen, dat bij het eerste afschrapen vrijwel alle bacillen verwijderd zijn en er in den tusschenliggenden tijd van 5 dagen geen voldoende groei heeft plaats gehad om bij het tweede afschrapen een positief resultaat te geven: ook is het mogelijk, dat wij met de platina-lis juist langs de kolonie heengegaan zijn. Hierom worden niet beide culturen van elk monster op denzelfden dag onderzocht maar slechts een buis en dan bij het volgende onderzoek 5 dagen later de parallelbuis en zoo verder buis 1 en 2 afwisselend.

§ 6. *Bepaling van de soort der op de voedingsbodems gegroeide microorganismen.*

Zijn de koloniën bij macroscopische bezichtiging waar te nemen, dan dient nog te worden vastgesteld, dat inderdaad culturen van tuberkelbacillen zijn verkregen.

Behalve op het algemeene aspect der culturen, wordt hier afgegaan op het resultaat van het onderzoek van een volgens ZIEHL-NEELSEN gekleurd praeparaat. Daarbij komt dan vast te staan, dat men te

doen heeft met zuur- en alcoholvaste, staafvormige micro-organismen.

Opvallend duidelijk is te zien, dat de vorm en grootte der bacillen der verschillende culturen niet uniform zijn. Het meest voorkomende verschijnsel is, dat de bacillen niet zoo slank zijn, als die welke bij kweken uit het dierlijk organisme worden gezien en dat zij den indruk maken wel „zuurvaste” maar geen t.b.c.-bacillen te zijn. Aanvankelijk geeft dit eenige moeilijkheid bij de interpretatie, maar al heel spoedig verkrijgt men daarbij een dusdanige routine, dat vergissingen niet meer storend optreden. Deze routine wordt verkregen door van dergelijke culturen suspensies te maken en deze intramusculair in te spuiten bij caviae, welke men dan na verloop van tijd al of niet aan algemeene tuberculose ziet sterven. In vrijwel alle gevallen zijn dan bij sectie van deze caviae in het uitstrijk-praeparaat van den tuberculeuzen etter uit het entkanaal en uit andere tuberculeuze processen weer de gewone slanke tuberkelbacillen te zien.

Ook de aard van het „condensvocht” wordt bij deze beoordeeling in rekening gebracht. Hoe helderder dit er uit ziet des te mooier van vorm de gegroeide bacillen zijn. Een heel lichte troebeling komt nog wel eens bij t.b.c.-bacillen culturen voor, waarbij van een verontreiniging nog geen sprake is. Wordt deze troebeling echter van dien aard, dat het oppervlak der voedingsbodems onder het condensvocht niet meer duidelijk is waar te nemen, dan is er steeds sprake van een verontreiniging der cultuur door zuur-resistente saprophyten. Aanvankelijk wordt hierdoor de beoordeeling wel bemoeilijkt, daar sommige van deze zuurvaste saprophyten ook door een langdurige inwerking van 3% zoutzure alcohol niet ontleurd worden. Het verdient aanbeveling om in deze gevallen over te enten op agar en bouillon, waarop dan na 24—36 uur in vele gevallen een duidelijke groei is waar te nemen: deze groei kan uit den aard nooit door tuberkelbacillen veroorzaakt zijn.

Een enkele maal doet zich het eigenaardige geval voor, dat deze saprophyten op de malachietgroen bevattende voedingsbodems volgens LOEWENSTEIN heel langzaam groeien en pas na 14—18 dagen microscopisch zichtbaar worden, maar dan in een zoo dun waas, dat het geheel bedriegelijk veel op den groei van tuberkelbacillen lijkt. Worden deze bacillen overgeënt op agar en/of bouillon-bodems dan is ook hier slechts een zeer vertraagde groei te bespeuren, (soms worden pas na 5 dagen kolonies gezien), zoodat niet in een kort tijdsbestek met zekerheid is uit te maken of hier sprake is van verontreinigers of niet. Omdat in dergelijke gevallen ook het condensvocht ons niet kan helpen om tot een definitieve uitspraak te komen, hebben wij gezocht naar een betrouwbare bewerking van het uitstrijk-praeparaat, waardoor er geen twijfel meer behoeft te bestaan over de identiteit der zuurvaste bacillen.

Een dergelijke methode meenen wij gevonden te hebben in de eenvoudige onderdompeling van de met carbolfuchsiene gekleurde praeparaten in kokend water gedurende 2 minuten, waarna wij deze gewoon behan-

delen met zoutzure alcohol en methyleenblauw. De hiermede verkregen resultaten zijn zeer bevredigend. Vrijwel alle saprophyten, afkomstig uit het voedsel, zooals gras, hooi en kuilvoer, die bij het gebruik van den sputumvanger volgens TALLGREN onvermijdelijk bij het sputum gemengd zijn en de behandeling met $\frac{1}{2}$ N. H_2SO_4 hebben doorstaan, worden door deze methode dusdanig aangetast dat de alcohol- en zuurvastheid verloren gaan. Wij hebben derhalve tusschen de kleuring met carbolfuchsine en de behandeling met zoutzure alcohol voor alle praeparaten deze onderdompeling in kokend water ingevoerd. De tuberkelbacillen zelf lijden door deze bewerking, voor zoover betreft hun alcohol- en zuurvastheid, absoluut niet, hetgeen wij hebben kunnen waarnemen door deze „kookmethode” herhaaldelijk uit te voeren met reïnculturen van tuberkelbacillen. Daarbij was geen verschil waar te nemen tusschen de kleuring der al of niet „gekookte” bacillen.

Het uiteindelijk bewijs dat de gekweekte culturen inderdaad tuberkelbacillen zijn, wordt gelijk bekend eerst verkregen door de dierproef. Voor een aantal gevallen hebben wij deze proef met volledig succes uitgevoerd (zie Hoofdstuk II).

Wij zijn echter van oordeel, dat wanneer bovenstaande richtlijnen nauwgezet worden toegepast, deze proef ter bevestiging van de diagnose niet noodig is. Miswijzingen in dezen zin dat een gekweekte cultuur voor een tuberkelbacillenkultuur wordt gehouden, terwijl in werkelijkheid een ander micro-organisme werd geteeld, zullen bij juiste handhaving van bovengenoemde voorzorgen niet voorkomen. Ten overvloede vermelden wij hier den raad om bij ernstigen twijfel omtrent den aard der gekweekte culturen, hetzij de kweekproef te herhalen, of tot het verrichten van een dierproef met de cultuur over te gaan.

HOOFDSTUK II.

**Beschrijving der gevallen waarin tuberkelbacillen uit
het sputum werden gekweekt.**

§ 1. *Overzicht der gevallen.*

Wij zullen in het volgende in zeer beknopten vorm een beschrijving geven der gevallen, waarin het gelukte tuberkelbacillen uit het sputum te kweken. Wij stellen voorop dat de hier genoemde dieren, behoudens een enkele uitzondering, wel op een toediening van tuberculine reageerden (positieve tuberculine-reactie, z.g. „reageerders”) maar dat zelfs bij herhaald en zeer nauwgezet microscopisch onderzoek van het sputum, daarin geen tuberkelbacillen worden gevonden. Alle hieronder genoemde dieren zouden dan ook bij de gewone routine-bestrijdingswijze als „niet open lijdens” worden beschouwd.

Met de beschrijving van deze gevallen wordt slechts een gering deel van den arbeid, die voor dit onderzoek is verricht, weergegeven. Immers bij een zeer groot aantal dieren was de uitslag van het cultureele onderzoek negatief. Beschouwingen over dit deel van het onderzoek vindt men in Hoofdstuk VI.

Helaas is het onderzoek niet in al deze gevallen even volledig verricht kunnen worden. De hier medegedeelde waarnemingen moesten ten deele bij het klinisch onderzoek, dan bij het cultureel onderzoek en vervolgens na den dood van de desbetreffende koe, resp. bij de sectie van met de culturen (of met sputum) ingespoten proefdieren worden verzameld. Er verliep soms veel tijd tusschen het eene deel van het onderzoek en het andere, terwijl de tegenwoordige maatschappelijke omstandigheden groote bezwaren voor het tijdig verzamelen der gegevens opleverden. Het resultaat van alle gevallen heeft dan ook niet dezelfde bewijskracht voor de doelmatigheid der door ons toegepaste methode. Wij kunnen in deze vier groepen onderscheiden:

Groep 1. Volledig onderzochte gevallen, waarbij het volgende komt vast te staan.

- I. Klinisch onderzoek van het dier wijst op een ernstige tuberculeuze aandoening.
- II. Bij herhaald microscopisch onderzoek, ook van het monster sputum waaruit wordt gecultiveerd, worden geen t.b.c.-bacillen aangetoond.
- III. Bij cultureel onderzoek van het sputum worden „zuurvaste” bacillen gecultiveerd, die morphologisch als tuberkelbacillen worden onderkend.
- IV. Een cavia, met deze cultuur ingespoten gaat ten gronde aan tuberculose.

- V. Bij onderzoek van de longen van het onderzochte dier worden daarin tuberculeuze processen gevonden, die als „open tuberculose” moeten worden beschouwd.

Groep 2. Gevallen met indirecte bewijskracht.

Hierbij worden de punten I, II, III en V volledig uitgevoerd, maar in plaats van IV, treedt inspuiting van een cavia met het verwerkte sputum, bij welk proefdier tuberculose wordt vastgesteld.

Groep 3. Gevallen met indirecte bewijskracht.

Ook in deze gevallen zijn de punten I, II en III volledig tot hun recht gekomen, er is geen caviaproef verricht (noch met cultuur, noch met sputum), maar bij de sectie van het onderzochte dier (punt V) is open t.b.c. vastgesteld.

Groep 4. Gevallen met indirecte bewijskracht.

In de resteerende gevallen beperkt het onderzoek zich tot de punten I, II en III en wordt alleen op grond van morphologische en cultureele eigenschappen van de gekweekte micro-organismen besloten, dat t.b.c. bacillen zijn aangetoond.

Wij zullen de gevallen, waarbij het onderzoek een positieve uitslag opleverde, gerangschikt naar bovenstaande groepen hieronder kort weergeven.

§ 2. Groep 1. *Volledig onderzochte gevallen.*

(Klinisch onderzoek; microscopisch onderzoek sputum; cultureel onderzoek sputum; cavia met cultuur ingespoten; open t.b.c. in de long van de onderzochte koe aangetroffen).

Geval 1. Rund BeO 2299.

Klinisch onderzoek: Mager dier. Hoest niet spontaan. Bij auscultatie iets chiemen te hooren. Het dier is met veel moeite tot hoesten te brengen, enkele vochtige hoeststooten waarbij weinig sputum wordt opgehoest. Uierklieren iets verhard, geen knobbels, overige klieren normaal.

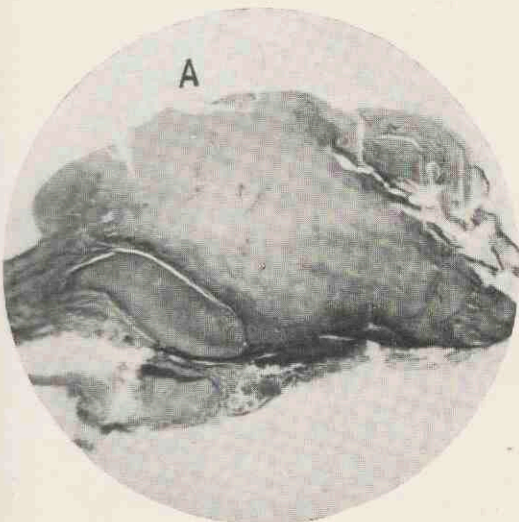
Microscopisch onderzoek: Na herhaald onderzoek in het sputum 1 *verdachte bacil* gevonden. In het melksediment geen afwijkingen.

Cultuur. Ingezet op 22-4-'41, micr. groei op 3-5-'41 (11 dagen), macr. groei op 19-5-'41 (27 dagen).

Cavia. Ingespoten met cultuur op 7-9-'41, gestorven op 3-12-'41; sectie: Algemeene tuberculose, Ziehl-Neelsen praeparaten van milt, lever en entkanaal positief.

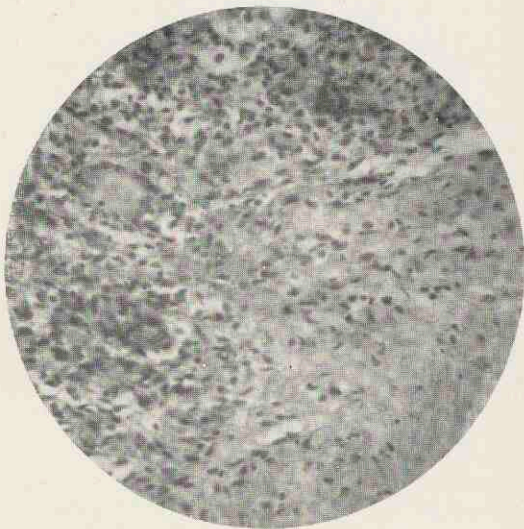
Sectie rund. Op 23-5-'41 in de longen enkele verkaasde haarden, *ulcera in trachea en bronchien*. T.b.c. van retroph, bronch. en mediast. en supramammaire lymphklieren. (Zie fig. 1 en 2).

Fig. 1



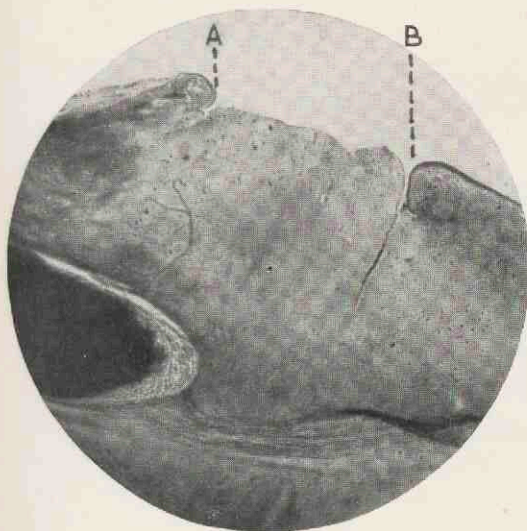
vergrooting 15 x
Tuberculeuze ulcus in bronchus. Bij A open
verbinding van ulcus met lumen.

Fig. 2



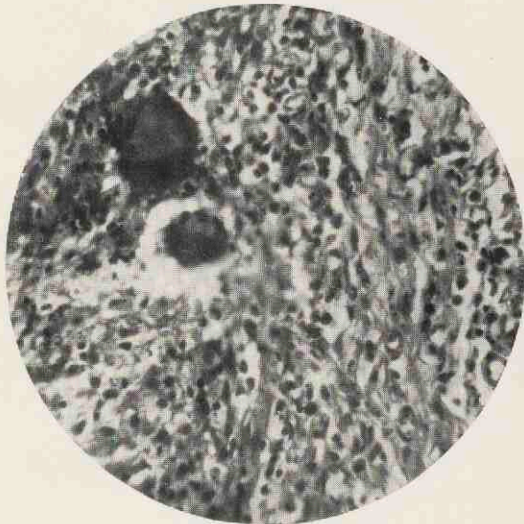
vergrooting 260 x
Weefsel van nevenstaand ulcus: reuzencellen.

Fig. 3



vergrooting 15 x
Doorsnede door een tuberculeuze ulcus in het
slijmvlies van een bronchus. Tusschen A en B
is het slijmvlies onderbroken en dringt tuber-
culeuze pus in den bronchus door.

Fig. 4



vergrooting 260 x
Sterkere vergrooting van het tuberculeuze weefsel
uit nevenstaand haardje: twee reuzencellen.

Geval 2. Rund Mas. 3079.

Klinisch onderzoek: Het dier verkeert in een goeden voedingstoestand, haarkleed glad en glanzend. Auscultatie laat geen afwijkende geruischen hooren. Spontaan hoesten wordt niet opgemerkt. Na dichthouden van den neus volgt een hoestbui waarbij veel sputum wordt opgehoest.

Microscopisch onderzoek: Het sputum bevat geen tuberkelbacillen ook niet bij een 2e onderzoek dat 5 weken later wordt verricht.

Cultuur. Ingezet op 12-7-'41; micr. groei op 28-7 (na 16 dagen), macr. groei op 9-8, na 28 dagen bebroeden.

Cavia. Ingespoten met cultuur op 15-8-'41, gestorven op 27-9. Sectie Algemeene tuberculose: Ziehl-Neelsen praeparaten uit organen en entkanaal positief.

Sectie rund op 21-8-'41. In de longen verschillende kleine kaashaarden, enkele doorbraken in kleine bronchien. T.b.c. van bronchiale- en medistinale lymphklieren.

Geval 3. Rund Ut. 920.

Klinisch onderzoek: Een dier in goeden voedingstoestand hoest niet spontaan. Bij auscultatie geen afwijkingen te hooren. Retropharyngeale klieren iets gezwollen, andere klieren normaal. Na knijpen in de trachea een krachtige, droge hoest met matige hoeveelheid sputum.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is 3 maal onderzocht met telkens een negatieve bevinding.

Cultuur. Ingezet op 12-9-'41; micr. groei op 27-9 (15 dagen) en macr. groei op 6-10-'41 (25 dagen).

Cavia. Ingespoten met cultuur op 7-10-'41. Gestorven op 2-2-'42. Sectie Algemeene tuberculose, milt, lever, longen en lymphklieren. Ziehl-Neelsen praeparaten positief.

Sectie rund op 4-11-'41. In de longen een kleine haard met doorbraak in kleine bronchus. T.b.c. van retroph.-, bronch.-, mediast.- en mesent. lymphklieren. Chronische niet tuberculeuze pleuritis.

Geval 4. Rund Ut. 930.

Klinisch onderzoek: Rund in vrij goeden voedingstoestand, haarkleed iets dor. Spontaan hoesten wordt niet waargenomen. Ademhaling normaal. Bij auscultatie op enkele verspreide plaatsen verscherpt vesiculair ademen te hooren. Na knijpen in de trachea heeft het dier een krachtigen, iets vochtigen hoest waarbij een matige hoeveelheid sputum wordt opgegeven. De voelbare lymphklieren zijn alle normaal van grootte en consistentie.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is 3 maal onderzocht, steeds met negatief resultaat.

Cultuur. Ingezet op 12-9-'41, micr. groei op 22-9 (10 dagen) en macr. groei op 30-9-'41, na 18 dagen bebroeden.

Cavia. Ingespoten met cultuur op 7-10-'41. Gestorven op 17-12-'41. Sectie algemeene tuberculose, Ziehl-Neelsen praeparaten uit organen en entkanaal positief.

Sectie rund op 6-1-'42. In de longen enkele tub. haardjes met een doorbraak in fijne bronchus. T.b.c. van bronch.-, mediast.-, mesent.-, portale- en borstholteklieren en van pleura, peritoneum en lever.

Geval 5. Rund NY 8195.

Klinisch onderzoek: Dier in matigen voedingstoestand, hoest op stal af en toe met tamelijk krachtigen, vochtigen hoest. Er is echter weinig sputum te verkrijgen. Auscultatie geeft links en rechts chiemen te hooren. Retrophar. klieren iets gezwollen, de andere zijn normaal van grootte en consistentie.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is 3 maal onderzocht en telkens was de bevinding „tuberkelbacillen niet aangetoond“.

Cultuur. Ingezet op 20-3-'42: micr. positief op 15-4 (26 dagen) en macr. positief op 24-4-'42 (35 dagen).

Cavia. Ingespoten met cultuur op 8-5-'42. Gestorven op 30-5-'42. Sectie algemeene t.b.c. Ziehl-Neelsen-praeparaten positief.

Sectie rund op 17-9-'42. In de longen enkele tuberculeuze haardjes met een *doorbraak in een kleinen bronchus*. T.b.c. van retrophar., bronch.- en mediast. lymphklieren. (Zie gekleurde afbeelding).

Geval 6. Rund LC 1337.

Klinisch onderzoek: Het dier verkeert in een matigen voedingstoestand en is wat ruig van haar. Spontaan hoesten wordt niet opgemerkt. Bij auscultatie beiderzijds op enkele plaatsen chiemen te hooren. De klieren voelen normaal aan. Na knijpen in de trachea volgt een krachtige hoest met matige hoeveelheid sputum.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is 3 maal onderzocht, de 3e maal ook het sediment van een „opgeloste“ hoeveelheid. (Zie hoofdstuk 3 § 5). Alle praeparaten waren negatief.

Cultuur. Ingezet op 1-5-'42, micr. groei op 21-5 (20 dagen) en macr. groei op 28-5-'42, na 28 dagen bebroeden.

Cavia. Ingespoten met cultuur op 4-6-'42. Gestorven 14-7-'42. Sectie algemeene tuberculose, milt, lever, longen, gezwollen klieren. Vocht in de buikholte. Ziehl-Neelsen-praeparaten positief.

Sectie rund op 16-7-'42. In de longen 2 verkaasde haarden met *doorbraken in kleine bronchien*. T.b.c. van bronch.- en mediast. lymphklieren. (Zie gekleurde afbeelding).

Geval 7. Rund LC 1339.

Klinisch onderzoek: Het dier verkeert in matigen voedingstoestand en heeft een ruig haarkleed. Spontaan hoesten wordt een heel enkele maal waargenomen. Bij auscultatie chiemen en piepen te hooren. Lymphklieren normaal. Na knijpen in de trachea een krachtige, vochtige hoest met tamelijk veel sputum.

Microscopisch onderzoek: Het sputumonderzoek op tuberkelbacillen was 3 maal negatief.

Cultuur. Ingezet op 1-5-'42: micr. groei op 21-5 (20 dagen) en macr. groei op 28-5, na 27 dagen bebroeden.

Cavia. Ingespoten met cultuur op 4-6-'42: gestorven op 7-7-'42. Sectie algemeene tuberculose, milt, lever en longen; klieren vergroot. Ziehl-Neelsen-praeparaten positief.

Sectie rund op 16-7-'42. In de longen enkele verkaasde haarden met *doorbraken in bronchien*. T.b.c. van bronch.- en mediast. klieren.

Geval 8. Rund Bezooijen.

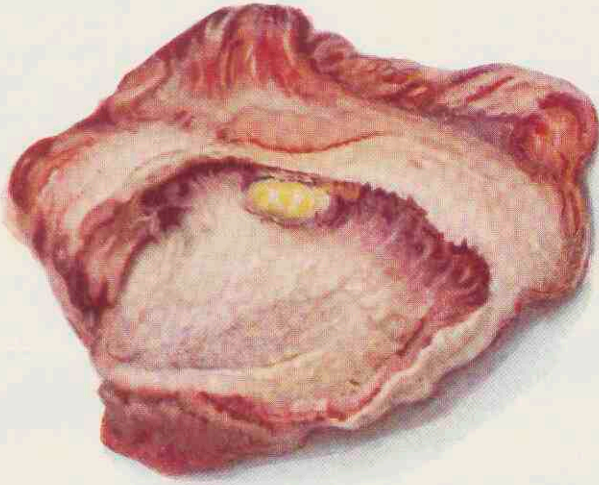
Klinisch onderzoek: Het dier hoest af en toe spontaan en gaat achteruit. Klieren normaal van grootte en consistentie. Auscultatie en percussie normaal. Na de tuberculinatatie is het dier heel ziek, kreunt en heeft geen eetlust; *toch is de plaatselijke reactie op de tuberculinatatie negatief*. Er is veel sputum te verkrijgen.

Microscopisch onderzoek: Het Ziehl-Neelsen-praeparaat van het sputum is negatief.

Cultuur. Ingezet op 4-9-'41: micr. positief op 22-9 (18 dagen) en macr. positief op 2-10-'41, na 28 dagen bebroeden.

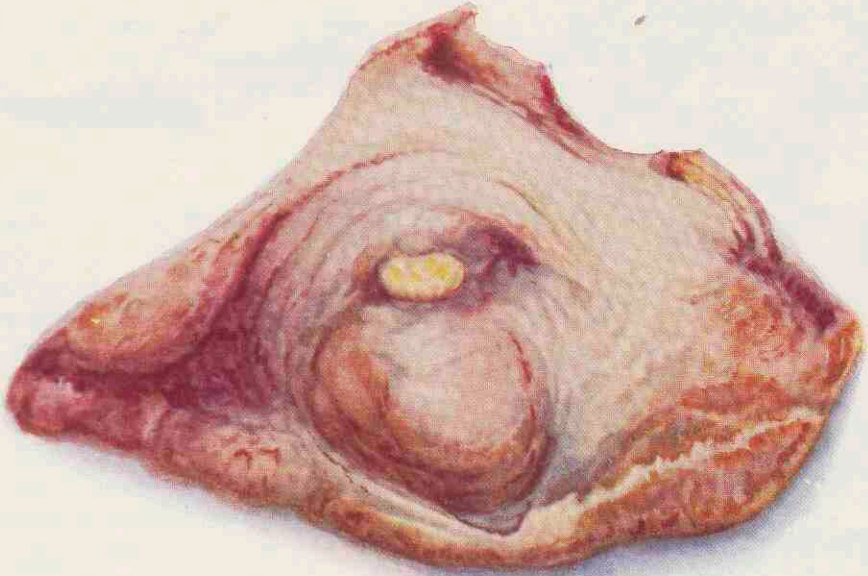
Cavia. Ingespoten met cultuur op 7-10-'41. Gestorven op 24-2-'42. Sectie algemeene tuberculose, Ziehl-Neelsen-praeparaten positief.

Geval No. 5.



Opegeknijpte bronchus in stukje longweefsel. Een geel propje tuberculeuze pus dringt uit een haard in het lumen van den bronchus.

Geval No. 6.



Stukje longweefsel met opegeknijpten bronchus. Tuberculeuze pus (geel) vloeit uit een achter den bronchus gelegen haard in het lumen daarvan.

Sectie rund. T.b.c. van longen, veel haarden achter in de hoofdkwabben, bronch., mediast.- en mesent. klieren. Op enkele plaatsen tuberculeuze bronchiolitis. Nieren parenchymateus gedegeneerd.

Geval 9. Rund Stien O.

Klinisch onderzoek: Is door ons niet verricht. Het dier komt uit een koppel vee welke juist een week te voren geheel onderzocht was. Hierbij was bij het dier geen afwijking waargenomen. Het rund verkeert in goeden voedingstoestand. Spontaan hoesten is tijdens het onderzoek niet gehoord. Er is na den kunstmatig opgewekten hoest weinig sputum te krijgen.

Microscopisch onderzoek: Het sputum bevatte geen tuberkelbacillen, ook niet bij het voorgaande onderzoek.

Cultuur. Uit het sputum aangelegd op 27-8-'42. Er is microscopisch groei waar te nemen; op 16-9-'42 (20 dagen) en op 23-9-'42 is er duidelijk groei te zien met het bloote oog (27 dagen).

Cavia. Ingespoten met cultuur op 12-11-'42. Gestorven op 7-12-'42. Sectie algemeene tuberculose. Gezwollen milt, lever en klieren. Ziehl-Neelsen-praeparaten uit deze organen en uit de entplaats zijn positief.

Sectie rund. In de longen enkele haarden, heel kleine ulcus in een fijne bronchus.

Als men voorgaande gevallen samenvat, kan worden vastgesteld dat bij 9 dieren, waarvan er 8 op de tuberculine injectie reageerden doch waarbij het veelal herhaald microscopisch onderzoek van het sputum steeds negatief was (uitgezonderd één geval, waarbij éénmaal één „verdachte” bacil werd gevonden), door het aanleggen van culturen tuberkelbacillen uit het sputum werden gekweekt. Dat inderdaad tuberkelbacillen werden geteeld bleek door inenting van de culturen bij cavia's, waarna de proefdieren aan tuberculose stierven.

Bij de koeien werden (bij sectie) in de longen tuberculeuze processen ontdekt, die als „open tuberculose” betiteld moeten worden.

§ 3. Groep 1a. Niet geheel volledig onderzochte gevallen.

Bij deze groep kan nog een tiental gevallen worden gevoegd (groep 1a) waarbij het klinisch onderzoek werd verricht, het microscopisch onderzoek van het sputum negatief was, terwijl toch door het kweken daaruit een cultuur van tuberkelbacillen werd verkregen. De pathogeniteit van de cultuur werd bij de cavia aangetoond. Het gelukte echter niet de longen der onderzochte koeien ter onderzoek te krijgen.

De verslagen dezer gevallen volgen hieronder.

Geval 10. Rund 1563.

Klinisch onderzoek: Rund in matigen voedingstoestand. Hoest niet spontaan. Bij auscultatie op enkele plaatsen chiemen en verscherpt vesiculair ademen te hooren. Voelbare lymphklieren normaal. Krachtige hoest na knijpen in de trachea, waarna een matige hoeveelheid sputum is te verkrijgen.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is 4 maal onderzocht, telkens met een negatief resultaat.

Cultuur. Ingezet 17-10-'41: micr. positief op 30-10 (13 dagen) en macr. positief op 17-11-'41, na 31 dagen bebroeden.

Cavia. Ingespoten met cultuur op 24-12-'41. Gestorven op 30-3-'42. Sectie algemeene tuberculose. Ziehl-Neelsen-praeparaten uit organen en entkanaal positief.

Geval 11. Rund B. K.

Klinisch onderzoek: Dier in matigen voedingstoestand, hoest niet spontaan. Bij auscultatie op enkele plaatsen chiemen te hooren. Alle voelbare lymphklieren normaal van grootte en consistentie. Na knijpen in de trachea treedt een iets vochtige hoest op waarbij tamelijk veel sputum wordt opgegeven.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is binnen een week 4 maal onderzocht, maar steeds waren in het Ziehl-Neelsen-praeparaat geen tuberkelbacillen aan te toonen.

Cultuur. Van het sputum ingezet op 20-11-'41. Micr. groei op 4-12-'41 (14 dagen), macr. groei op 15-12-'41 (25 dagen).

Cavia. Ingespoten met cultuur op 24-12-'41: gestorven 5-3-'42. Sectie algemeene tuberculose, Ziehl-Neelsen-praeparaten positief.

Geval 12. Rund de B. 4858.

Klinisch onderzoek: Rund verkeert in goeden voedingstoestand, hoest niet spontaan en heeft een glanzend haarkleed. Bij auscultatie is op enkele plaatsen verscherpt vesiculair ademen te hooren. De lymphklieren voelen normaal aan.

Microscopisch onderzoek: Dit leverde na 5 maal onderzoeken nog steeds een negatief resultaat op.

Cultuur. Ingezet op 24-4-'42: micr. op 14-5 (21 dagen) en macr. op 25-5-'42 (28 dagen) groei waar te nemen.

Cavia. Ingespoten met cultuur op 4-6-'42. Gestorven op 23-7-'42. Sectie algemeene tuberculose; in organen en entkanaal tuberkelbacillen aangetoond.

Geval 13. Rund BeO 2296.

Klinisch onderzoek: Dier in goeden voedingstoestand. Hoest af en toe spontaan met zwakken, vochtigen hoest en opgave van vrij veel sputum. Bij auscultatie beiderzijds sterke vochtige geruischen te hooren. De retropharyngeale lymphklieren zijn iets gezwollen, alle andere klieren normaal van grootte en consistentie.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is 3 maal onderzocht, steeds met negatief resultaat.

Cultuur. Sputum ingezet op 22-4-'41: micr. groei op 14-5-'41 (22 dagen), macr. groei op 26-5-'41 (34 dagen).

Cavia. a. Ingespoten met cultuur op 27-5-'41, gestorven op 28-6-'41. Sectie algemeene tuberculose, Ziehl-Neelsen-praeparaat positief.

Cavia. b. Ingespoten met sputum op 22-4-'41, gestorven op 23-5-'41. Sectie algemeene tuberculose, Ziehl-Neelsen-praeparaat positief.

Geval 14. Rund Sjors L.

Klinisch onderzoek: Vrij mager dier, iets dor in het haar. Bij auscultatie op enkele plaatsen verscherpt vesiculair ademen en chiemen te hooren. Het dier is gemakkelijk tot hoesten te brengen en heeft dan een matig krachtigen, vochtigen hoest waarbij veel sputum wordt opgegeven. De lymphklieren zijn normaal van consistentie.

Microscopisch onderzoek: In het sputum zijn bij een 4-malig onderzoek geen tuberkelbacillen gevonden.

Cultuur. Van het sputum ingezet op 26-8-'42: micr. positief op 14-9 (19 dagen) en macr. positief op 23-9-'42 (28 dagen).

Cavia. Ingespoten met cultuur op 12-11-'42. Gestorven op 30-11-'42. Sectie algemeene tuberculose. Gezwollen milt en lever. Ziehl-Neelsen-praeparaten uit

entplaats, milt, lever en lymphklieren positief. Ook in coupes van de lever konden tuberkelbacillen worden aangetoond.

Geval 15. Rund Thea L.

Klinisch onderzoek: Rund in matigen voedingstoestand. Bij auscultatie zijn geen afwijkende geruischen te hooren. Geen spontaan hoesten, wel na knijpen in de trachea een korte vrij krachtige hoest met weinig sputum. Lymphklieren voelen normaal aan.

Microscopisch onderzoek: In het sputum zijn na 3 maal onderzoeken geen tuberkelbacillen gevonden.

Cultuur. Ingezet op 26-8-'42. Micr. groei op 14-9 (19 dagen) en macr. groei op 23-9 (28 dagen).

Cavia. Ingespoten met cultuur op 12-11-'42. Gestorven op 9-12-'42. Sectie algemeene tuberculose. Gezwollen milt en lever met hardjes, tevens tuberkels in de longen en lymphklieren. Ziehl-Neelsen-praeparaat uit entplaats en milt positief.

Geval 16. Rund Nelly L.

Klinisch onderzoek: Dier in matigen voedingstoestand. Bij auscultatie worden geen afwijkingen gevonden en ook niet bij palpatie der klieren. Spontaan hoesten is niet waargenomen. Na kunstmatig opgewekten hoest gelukte het om een kleine hoeveelheid sputum te verzamelen.

Microscopisch onderzoek: In het sputum zijn geen bacillen aangetoond, hoewel er op 3 verschillende tijdstippen een uitstrijkpraeparaat gemaakt is.

Cultuur. Uit het sputum aangelegd op 26-8-'42. Op 10-9 was micr. groei te zien (15 dagen) en op 23-9-'42 was deze duidelijk macr. waar te nemen (24 dagen).

Cavia. Ingespoten met cultuur op 12-11-'42, gestorven op 9-12-'42. Sectie algemeene tuberculose. Sterk vergroote milt. Ziehl-Neelsen-praeparaten van entplaats en milt positief.

Geval 17. Rund Beatrix Krt.

Klinisch onderzoek: Rund in vrij goeden voedingstoestand, tijdens het onderzoek wordt geen spontaan hoesten gehoord. Auscultatie geeft op enkele plaatsen verscherpt vesiculair ademen te hooren. Lymphklieren normaal. Na knijpen in de trachea volgt een flinke hoestbui, waarbij vrij veel sputum wordt opgehoest.

Microscopisch onderzoek: In het sputum worden geen tuberkelbacillen gevonden, ook een voorgaand onderzoek had een negatief resultaat opgeleverd.

Cultuur. Er zijn cultures aangelegd op 10-10-'42. Micr. was groei zichtbaar op 26-10 (16 dagen) en macr. op 9-11-'42 (30 dagen).

Cavia. Met cultuur ingespoten op 12-11-'42, gestorven op 28-11-'42. Sectie algemeene tuberculose, lever, longen en Igl. subiliacae. Sterk gezwollen milt. Ziehl-Neelsen-praeparaten uit lever, long, milt en lymphklier bevatten duidelijk tuberkelbacillen.

Geval 18. Rund Dorrestein.

Dit betreft een geval waar op korten termijn een uitspraak gevraagd werd met het oog op een koopkwestie.

Klinisch onderzoek: Geen afwijkingen.

Microscopisch onderzoek: In het sputum bij herhaald onderzoek geen tuberkelbacillen gevonden.

Cultuur. Van het sputum zijn culturen aangelegd, deze gaven na 16 dagen micr. groei te zien en na 24 dagen duidelijk zichtbaren groei.

Cavia. Tegelijk met de cultuurproef is een dierproef ingezet. Na 8 weken is de *cavia* gedood. Het diertje vertoonde bij sectie gezwollen klieren en milt en kleine hardjes in de lever. Het Ziehl-Neelsen-praeparaat van de entplaats was negatief maar in coupes van milt, lever en lymphklieren konden tuberkelbacillen aangetoond worden. Intusschen zijn nog 2 *caviae* intramusculair ingespoten met de gegroeide cultures. Bij sectie vertoonden deze beiden een beeld van algemeene tuberculose. De lymphklieren waren gezwollen evenals de milt en de lever. In de longen waren tuberkels te zien. Ziehl-Neelsen-praeparaten van de organen positief.

Geval 19. Rund Laak 1025.

Klinisch onderzoek: Rund in goeden voedingstoestand. Bij het onderzoek is geen spontaan hoesten gehoord. Auscultatie gaf geen afwijkende geruischen te hooren. De lymphklieren waren alle normaal. Er is door knijpen in de trachea een hoestbui op te wekken waarbij een vrij krachtige, vochtige hoest optreedt met opgave van veel sputum.

Microscopisch onderzoek: In het sputumuitstrijkje werden geen tuberkelbacillen gevonden. Ook bij voorafgaande onderzoekingen was steeds het sputum vrij van tuberkelbacillen gevonden.

Cultuur. Cultures van het sputum aangelegd op 1-9-'42. Micr. groei op 16-9 (16 dagen) en macr. groei op 23-9 (23 dagen).

Cavia. Ingespoten met gegroeide cultuur op 12-11-'42. Gestorven op 27-11-'42. Sectie algemeene tuberculose. Gezwollen milt met tuberkels, gedegeneerde lever. Ziehl-Neelsen-praeparaten van entplaats, lever en long positief.

§ 4. Groep 2. Gevallen met indirecte bewijskracht.

(Klinisch onderzoek; microscopisch onderzoek sputum; cultureel onderzoek sputum; *cavia met sputum ingespoten*; al dan niet sectie op het onderzochte dier verricht).

Geval 20. Rund Vlt. 1894.

Klinisch onderzoek: Dier in goeden voedingstoestand, hoest spontaan met krachtigen vochtigen hoest. Bij auscultatie in de rechter long chiemen, piepen en vochtig gereutel te hooren. Lymphklieren normaal. Dier is drachtig.

Microscopisch onderzoek: Herhaalde malen is het sputum onderzocht met steeds een negatief resultaat.

Cultuur. Sputum ingezet op 4-4-'41; micr. groei op 21-4 (17 dagen), macr. groei op 28-4 (24 dagen).

Sputum ingezet 7-5-'41, micr. groei op 19-5 (12 dagen), macr. groei op 7-6 (31 dagen).

Cavia. Ingespoten met sputum op 7-5-'41, gedood op 25-7-'41. Sectie algemeene tuberculose. Ziehl-Neelsen-praeparaten uit milt en entkanaal positief.

Sectie rund. 9-5-'41 verweekte kaashaarden in de longen, bij openknippen van de bronchien diverse doorbraken te zien, *ulcus in trachea*. T.b.c. van mesent., bronch.- en retroph. lymphklieren.

Geval 21. Rund Jph. 3514.

Klinisch onderzoek: Magere koe, hoest spontaan weinig, met vrij krachtigen, vochtigen hoest, waarbij vrij veel sputum opgehoest wordt. Ademhaling normaal van type

en frequentie. Auscultatie laat chiemen en piepen waarnemen. De submaxillaire lymphklieren zijn vergroot en verhard, alle andere klieren zijn normaal.

Microscopisch onderzoek: In het sputum bij herhaald onderzoek geen tuberkelbacillen gevonden.

Cultuur. Ingezet op 24-4-'41; micr. groei op 8-5 (14 dagen), macr. groei op 24-5-'41 (30 dagen).

Cavia. Ingespoten met sputum op 24-4-'41; gedood op 18-6. Sectie algemeene tuberculose. Ziehl-Neelsen-praeparaat van organen en entkanaal positief.

Sectie rund op 23-5-'41. Een longtop verkaasd met zeer weeken inhoud, veel sputum in bronchiën en ook eenige ulcera in de bronchiën. T.b.c. van retroph., bronch., mediast.- en mesent. klieren.

Geval 22. Rund Mtd. 3172:

Klinisch onderzoek: Dier in goeden voedingstoestand. Huid goed losliggend met glad, glanzend haarkleed. Retropharyngeale klieren iets gezwollen, alle andere klieren normaal. Op stal enkele malen spontaan hoesten waargenomen. Bij auscultatie links en rechts chiemen te hooren. Na knijpen in de trachea matig krachtigen, vochtigen hoest met vrij aanzienlijke hoeveelheid sputum.

Microscopisch onderzoek: Sputum is 3 maal onderzocht met steeds een negatief resultaat.

Cultuur. Ingezet op 26-4-'41. Micr. groei na 16 dagen, macr. na 25 dagen bebroeden.

Cavia. Ingespoten met sputum op 26-4-'41; gedood na 6 weken. Sectie algemeene tuberculose. Ziehl-Neelsen-praeparaat van organen en entkanaal positief.

Sectie rund op 24-7-'42. In de longen verweekte haarden, veel sputum in bronchiën en trachea. Open verbinding tusschen verweekte haard en kleine bronchus. Verder t.b.c. van retroph., bronch., mediast.- en mesent. lymphklieren. Distomatosis van de lever en litteekens op de nieren.

Geval 23. Rund MeO. 1161.

Klinisch onderzoek: Dier in matigen voedingstoestand. Haarkleed iets dor. Hoest niet spontaan, ook door dichthouden van den neus en door knijpen in de trachea is het dier moeilijk tot hoesten te brengen. Er wordt weinig sputum opgehoest. Auscultatie levert geen bijzonderheden op. Alle lymphklieren zijn normaal van grootte en consistentie.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is 5 maal met tusschenpoozen varieerend van 1 tot 20 dagen onderzocht. Slechts éénmaal zijn enkele verdachte bacillen gevonden.

Cultuur. Ingezet op 29-4-'41; micr. positief op 19-5 (20 dagen) en macr. positief op 29-5, na 30 dagen bebroeden.

Cavia. Ingespoten met sputum op 29-5-'41, gedood op 25-6-'41. Sectie algemeene tuberculose. Ziehl-Neelsen-praeparaten uit organen en uit insteekkanaal positief.

Geval 24. Paard Rijswijk.

Klinisch onderzoek: Mager dier. Klieren en slijmvliezen normaal. Ademhaling vrij sterk abdominaal. Bij auscultatie duidelijk vesiculair ademen, soms iets chiemen te hooren. Percussieveld iets vergroot. Niet gevoelig bij knijpen in larynx of trachea, later wel en dan een korten, krachtige hoest. Ophthalm- en intracutane tuberculinatie beide positief. Het dier gaat steeds achteruit.

Cultuur. Van het sputum ingezet op 25-9-'41. Micr. groei op 18-10 (23 dagen) en macr. groei op 30-10-'41 (35 dagen).

Cavia. Ingespoten met sputum op 25-9-'41, gedood op 8-4-'42. Sectie algemeene tuberculose, milt, lever en lymphklieren. Ziehl-Neelsen-uitstrijkpreparaten positief.

Sectie paard. Tuberculose van longen (acuut miliair) en milt.

Uit deze verslagen blijkt dus, dat van vijf dieren (4 koeien en 1 paard) een *cavia* met sputum werd ingespoten, na den dood van deze proefdieren bleek, dat zij aan tuberculose leden. Bij deze dieren was het microscopisch sputumonderzoek bij herhaling met negatieven uitslag verricht. Bij de cultuurproef werden micro-organismen gekweekt, die op cultureele en morphologische gronden als t.b.c.-bacillen zijn gedetermineerd. Een caviaproef werd met deze culturen niet verricht. De longen van drie van deze koeien kwamen ter onderzoek, in alle drie werden „open” tuberculeuze processen gevonden.

§ 5. Groep 3. *Gevallen met indirecte bewijskracht.*

(Klinisch onderzoek; microscopisch onderzoek sputum; cultureel onderzoek sputum; sectie van het onderzochte dier).

Geval 25. Rund Vlt. 1846.

Klinisch onderzoek: Dier in matigen voedingstoestand. Hoest niet spontaan. Na knijpen in de trachea matig krachtige, vochtige hoest met tamelijk veel sputum. Auscultatorisch verscherpte geruischen te hooren. Lymphklieren normaal.

Microscopisch onderzoek: Na herhaald onderzoek één verdachte zuurvaste bacil gevonden.

Cultuur. Sputum ingezet op 4-4-'41; micr. groei op 22-4 (18 dagen), macr. op 1-5-'41 (26 dagen).

Sectie rund op 5-5, verweekte haarden in de longen en in de trachea een vrij groote *ulcus*. T.b.c. van mediast.-, bronch.- en portale lymphklieren.

Geval 26. Rund MeO 1578.

Klinisch onderzoek: Dier in matigen voedingstoestand. Hoest niet spontaan. Het haarkleed is ruig en dof. Bij auscultatie zijn geen afwijkende longgeruischen te hooren. Het dier is door knijpen in de trachea of dichthouden van den neus niet tot hoesten te brengen. Ten slotte wordt de sputumvanger zonder voorafgaanden hoest ingebracht en dit geeft aanleiding tot één hoeststoot. Er is heel weinig sputum te krijgen.

Microscopisch onderzoek: Op 3 achtereenvolgende dagen is het sputum onderzocht met steeds een negatief resultaat.

Cultuur. Sputum ingezet op 8-5-'41; micr. groei op 19-5-'41 (11 dagen), macr. groei op 12-6-'41 (29 dagen).

Sectie rund op 9-5-'41. In de longen enkele verweekte kaashaarden, zweren in de trachea en bronchus. T.b.c. van retroph.-, bronch.-, mediast.-, l. supra mammaire- en l. knieholte lymphklieren.

Geval 27. Rund Mtd. 4095.

Klinisch onderzoek: Rund in matigen voedingstoestand, haarkleed dor en ruig; het dier maakt een zieken indruk. Spontaan hoesten werd tijdens het onderzoek meerdere malen gehoord, de hoest was vochtig en niet bijzonder krachtig. Er werd veel sputum opgehoest. Auscultatie gaf rechts en links duidelijk chieren te hooren.

Microscopisch onderzoek: Met tusschenpoozen van enkele weken is het sputum onderzocht met steeds een negatieven uitslag. In dit tijdsverloop ging het dier steeds achteruit.

Cultuur. Sputum ingezet op 26-4-'41; micr. groei na 17 dagen, macr. na 28 dagen. Opnieuw ingezet op 18-7-'41, micr. groei op 4-8 (17 dagen) en macr. groei op 15-8-'41 (28 dagen).

Sectie rund op 12-9-'41. In de longen een *bronchopneumonische haard*. Enkele *ulcera in de kleinere bronchiën*. Verder t.b.c. van retroph.-, bronch.-, mediast.- en mesent. lymphklieren. (Zie fig. 3 en 4, geplaatst tegenover blz. 10). Paratuberculose van de darmen.

Geval 28. Geit.

Klinisch onderzoek: Het dier wordt den laatsten tijd mager. Bij den eigenaar zijn reeds verscheidene dieren gestorven. Oculo- en intracutane tuberculatie beide positief. Ondanks goede verpleging gaat het dier achteruit in voedingstoestand. Auscultatie en percussie geven geen afwijkingen te hooren.

Microscopisch onderzoek: Zeer vele malen is het sputum onderzocht maar steeds was het resultaat negatief. Ten slotte is met behulp van de trachea-canule sputum afgenomen. Hierbij hoestte het dier flink doch de hoeveelheid sputum was gering. Ook in dit sputum zijn geen tuberkelbacillen gevonden.

Cultuur. Sputum ingezet op 29-5-'41; micr. groei op 19-6-'41 (20 dagen), macr. groei op 30-6-'41, na 30 dagen.

Sectie geit op 3-7-'41: in de longen weinig uitgebreide processen; de kleinste, *erwtgrote haardjes*, waren nog *hyaline*; de grootere haarden waren verkaasd en verkalkt, sommige met dikke kapsel. Na lang zoeken één *speldeknoop groot zweertje* in een *fijnen bronchus* gevonden.

Geval 29. Rund Jph. 174.

Klinisch onderzoek: Het dier verkeert in zeer goeden voedingstoestand, het haar-kleed is glad en glanzend en de huid ligt goed los. De lymphklieren zijn normaal, alleen de retropharyngeale zijn iets gezwollen. Bij auscultatie op enkele plaatsen verscherpt vesiculair ademen en licht chiemen te hooren. Het dier hoest niet spontaan, wel na knijpen in de trachea en dichthouden van den neus, er wordt dan vrij veel sputum opgehoest.

Microscopisch onderzoek: In het sputum worden geen tuberkelbacillen gevonden, ook bij een voorgaand onderzoek was de bevinding negatief.

Cultuur. Sputum ingezet op 13-8-'41; micr. groei op 1-9-'41 (18 dagen), macr. groei op 15-9-'41, na 32 dagen bebroeden.

Sectie rund op 6-11-'41. In de longen multipele erwt- tot nootgrote haarden, *ulcera in de trachea*. T.b.c. van pleura en peritoneum, retroph.-, bronch.-, mesent.-, mediast.-, portale-, r. renale- alsmede van borst- en buikholte lymphklieren.

Geval 30. Rund Mas. 4243.

Klinisch onderzoek: Rund in besten voedingstoestand. Klieren alle normaal van grootte en consistentie. Bij auscultatie geen afwijkingen te hooren. Het dier hoest niet spontaan. Na knijpen in de trachea is er een zwakke hoest op te wekken, waarbij heel weinig sputum verkregen wordt.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is met een tusschenpoos van 3 weken 2 maal onderzocht op aanwezigheid van tuberkelbacillen; beide malen was de uitslag „geen tuberkelbacillen aanwezig”.

Cultuur. Van het sputum ingezet op 3-9-'41; micr. groei op 23-9 (20 dagen), macr. groei op 1-10-'41 (27 dagen).

Sectie rund op 7-11-'41. T.b.c. van bronch.- en mediast. lymphklieren en van de longen. enkele haarden met een kleine zweer in een der kleine bronchiën. (Zie fig. 5 en 6).

Geval 31. Rund MeO. 2115.

Klinisch onderzoek: Vrij mager dier, hoest af en toe spontaan met zwakken, vochtigen hoest. Iets dor in het haar. Bij auscultatie zijn links verscherpt vesiculair en tubair ademen te hooren, rechts geen afwijkingen. Sputum is in vrij groote hoeveelheid te verkrijgen.

Microscopisch onderzoek: Bij herhaling (5 maal) is het sputum onderzocht doch steeds waren tuberkelbacillen afwezig.

Cultuur. Ingezet op 1-7-'41; micr. groei op 11-7 (10 dagen) en macr. groei op 24-7, 23 dagen na het uitzaaien.

Sectie rund op 7-8-'41. T.b.c. van de longen, een klein haardje met doorbraak in kleinen bronchus, floride proces in bronch. lymphklieren, welke sterk vergroot en hard waren, met verkalkte haarden. Verder pleuritis, litteekens op de nieren en niet tuberculeuze longabscessen.

Geval 32. Rund MeO. 1570.

Klinisch onderzoek: Dier in vrij goeden voedingstoestand. Hoest niet spontaan. Bij auscultatie geen afwijkende geruischen te hooren. Klieren normaal van consistentie en grootte. Na knijpen in de trachea hoest het dier enkele malen matig krachtig en iets vochtig.

Microscopisch onderzoek: In het sputum uitstrijkje geen tuberkelbacillen te vinden, ook niet bij een drie maanden later ingesteld onderzoek.

Cultuur. Ingezet op 6-6-'41; micr. groei op 7-7-'41 (31 dagen), macr. groei op 21-7-'41, na 43 dagen bebroeden.

Sectie rund op 17-7-'41. Enkele tuberculeuze haarden in de longen en in de trachea verschillende ulcera. T.b.c. van retroph.-, bronch.-, mediast. lymphklieren. (Zie fig. 7 en 8).

Geval 33. Rund MeO. 3420.

Klinisch onderzoek: Het dier verkeert in een matigen voedingstoestand. Bij auscultatie wordt geen afwijking gehoord, er is geen spontaan hoesten. Alle lymphklieren zijn normaal van grootte en consistentie. Na knijpen in de trachea hoest het dier een enkele maal met een krachtigen, drogen hoest.

Microscopisch onderzoek: In het sputum geen tuberkelbacillen te vinden, ook niet bij een 2e onderzoek 3 maanden later gedaan.

Cultuur. Ingezet 6-6-'41; micr. groei op 21-7 (43 dagen), macr. groei op 1-8-'41, na 53 dagen bebroeden.

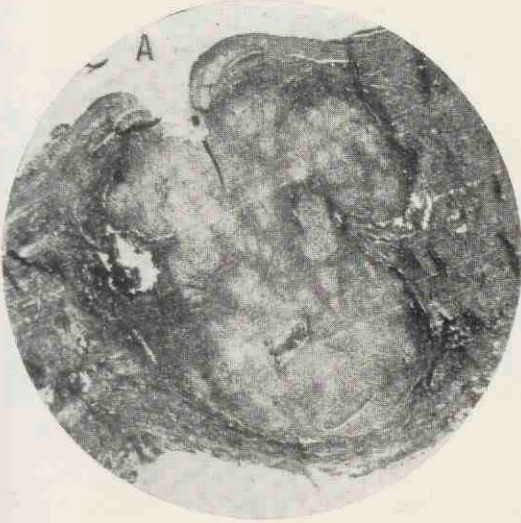
Sectie rund op 7-8-'41. T.b.c. van de longen, een erwtgroot haardje, pleura, submaxillaire, broncheale en borstholte klieren. Juist boven de bifurcatie van de trachea een speldeknop groot zweertje. Distomatosis van de lever.

Geval 34. Rund Wbr. 373.

Klinisch onderzoek: Rund verkeert in vrij goeden voedingstoestand. Alle lymphklieren zijn normaal van grootte en consistentie. Ademhaling is normaal. Bij auscultatie af en toe iets chiemen te hooren. Tijdens het onderzoek hoest het dier niet spontaan, wel na knijpen in de trachea, een krachtige hoest met matige hoeveelheid sputum.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is 3 maal onderzocht telkens met een negatieven uitslag.

Fig. 5



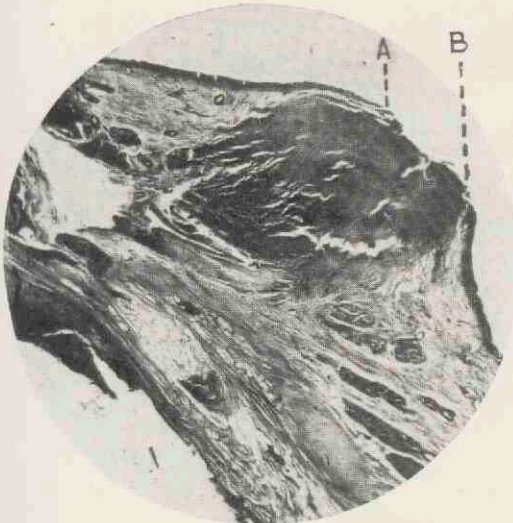
vergrooting 15 x
Tuberculeus haardje in broncheaal wand;
open verbinding van den absces-
inhoud met bronchus bij A.

Fig. 6



vergrooting 260 x
Weefsel uit nevenstaand haardje:
reuzencellen.

Fig. 7



vergrooting 15 x
Tuberculeuze ulcus in trachea wand. Tusschen
A en B is het slijmvlies onderbroken en dringt
tuberculeuze pus in het lumen van de trachea.

Fig. 8



vergrooting 260 x
Weefsel uit nevenstaand absces:
één reuzencel.

Cultuur. Van het sputum ingezet op 21-6-'41. Micr. positief op 3-7 (12 dagen) en macr. positief op 14-7-'41, na 23 dagen bebroeden.
Sectie rund op 17-7-'41. T.b.c. van de longen, enkele verweekte haarden met een doorbraak in een fijnen bronchus; t.b.c. van bronch.-, mediast.- en mesenteriale lymphklieren.

Geval 35. Rund Wbr. 413.

Klinisch onderzoek: Dier in goeden voedingstoestand. Klieren normaal. Bij auscultatie geen afwijkingen. Geen spontaan hoesten. Na dichthouden van den neus een korte, krachtige hoest met weinig sputum.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is 3 maal onderzocht en bleek geen bacillen te bevatten.

Cultuur. Van het sputum ingezet op 21-6-'41; micr. groei op 10-7-'41 (16 dagen), macr. groei op 24-7-'41 (33 dagen).

Sectie rund op 17-7-'41. Tuberculose van de longen, één verweekte haard met een speldeknoop groote zweer in een kleinen bronchus. In de lymphklieren macroscopisch geen tuberkels te zien.

Geval 36. Rund de B. 5894.

Klinisch onderzoek: Rund in goeden voedingstoestand. Bij auscultatie is rechts onder verscherpt vesiculair ademen te hooren. Percussie is normaal. Lymphklieren zijn normaal.

Microscopisch onderzoek: Heeft herhaaldelijk (5 x) plaats gehad en steeds waren tuberkelbacillen afwezig.

Cultuur. Ingezet op 18-3-'41. Micr. positief op 3-4-'41 (16 dagen) en macr. positief op 12-4-'41 (25 dagen).

Sectie rund op 15-4-'41. In de longen enkele verkaasde tuberculeuze haarden met een doorbraak in een bronchus. T.b.c. van bronchiale lymphklieren.

Geval 37. Rund MeO. 130.

Klinisch onderzoek: Dier in goeden voedingstoestand. Ademhaling normaal, hoest niet spontaan. Bij auscultatie iets chiemen te hooren. De lymphklieren zijn normaal.

Microscopisch onderzoek: Het sputum is 2 maal onderzocht en het resultaat was negatief.

Cultuur. Ingezet op 23-5-'41. Micr. groei op 7-6-'41 (14 dagen), macr. groei op 16-6-'41, na 23 dagen bebroeden.

Sectie rund. In de longen enkele verweekte haarden met ulcera in bronchiën. T.b.c. van bronch.-, mediast.-, mesent.-, portale-, inwendige darmbeens- en borstholte lymphklieren, pleura en peritoneum. Pyometra en litteekens op de nieren.

Geval 38. Rund Jansje v. d. K.

Klinisch onderzoek: Rund in vrij goeden voedingstoestand. Ademhaling normaal, hoest niet spontaan. Bij auscultatie op enkele plaatsen verscherpt vesiculair ademen. Na knijpen in de trachea een weinig krachtige hoest met een matige hoeveelheid sputum.

Microscopisch onderzoek: Sputum 3 maal onderzocht, uitslag negatief.

Cultuur. Ingezet op 18-9-'42; micr. positief op 30-9-'42 (12 dagen) en macr. positief op 15-10-'42 (27 dagen).

Sectie rund op 21-10-'42. In de longen enkele tuberculeuze haarden en een kleine ulcus in een kleinen bronchus. T.b.c. van bronch.-, mediast.- en portale lymphklieren en van de lever (enkele haardjes).

De resultaten van deze groep samenvattend kunnen wij zeggen, dat bij 13 koeien en een geit, die allen reageerden op tuberculine-toediening (positieve tuberculinitie) doch waarbij door het *microscopisch onderzoek* geen tuberkelbacillen in het sputum konden worden aangetoond (slechts bij één dier werd één verdachte bacil gevonden), bij de *cultuurproef* wel tuberkelbacillen werden geteeld. Deze determinatie werd alleen door cultureel en morphologisch onderzoek verricht; er werd geen cavia-proef toegepast.

De juistheid dezer determinatie wordt in deze gevallen ondersteund, door de waargenomen „open” tuberculoseprocessen in de longen.

§ 6. Groep 4. Gevallen met indirecte bewijskracht.

(Klinisch onderzoek (al of niet gedaan); microscopisch onderzoek van het sputum; cultureel onderzoek sputum).

Geval 39. Rund BeO. 3655.

Klinisch onderzoek: Dier afkomstig uit een koppel vee met hoog reactie-percentages, n.l. $\pm 69\%$. Bacterioscopisch was een open lijder gevonden. Om deze reden werd een cultureel onderzoek ingesteld. Bij klinisch onderzoek werd als eenigste afwijking gevonden wat chiemen op enkele plaatsen van het longveld. Met moeite was het dier tot hoesten te brengen. Krachtige droge hoest met heel weinig sputum.

Microscopisch onderzoek: Ook nu weer was het microscopisch onderzoek negatief.

Cultuur. Er zijn culturen aangelegd en na 55 dagen was micr., na 70 dagen macr. groei te zien. Op deze bevindingen is de uitspraak „open lijder” gedaan.

Geval 40. Rund J. d. D.

Hier werd een cultureel onderzoek ingesteld op verzoek van den veehouder, die van plan was het dier te koop. Er kon geen klinisch onderzoek ingesteld worden.

Microscopisch onderzoek: Het microscopisch onderzoek had een negatief verloop.

Cultuur. De van het sputum aangelegde culturen gaven na 28 dagen een duidelijken groei te zien. Op ons advies is het dier niet aangekocht.

Geval 41. Rund Jph. 4187.

Klinisch onderzoek: Dit rund was afkomstig uit een koppel vee waarbij 40% der dieren een duidelijke reactie gaven op de intracutane tuberculinitie. Bij het klinisch onderzoek viel op, dat het dier een enkele maal hoestte met krachtigen, vochtigen hoest. Bij auscultatie werd aan beide zijden chiemen en piepen gehoord. De hoeveelheid sputum was vrij groot.

Microscopisch onderzoek: In het Ziehl-Neelsen-praeparat waren geen tuberkelbacillen te vinden.

Cultuur. Bij cultiveeren was micr. na 24 dagen en macr. na 34 dagen duidelijk groei waar te nemen.

Geval 42. Rund Jph. 4192.

Klinisch onderzoek: Dit rund kwam uit denzelfden koppel als het in geval 41 beschrevene. De klinische bevindingen waren hier hoesten, niet groeien, dor, ruig haar-kleed en chiemen en piepen bij auscultatie. De hoeveelheid sputum welke verkregen kon worden was matig.

Microscopisch onderzoek had een negatief verloop.

Cultuur. Gaf na 7 weken een duidelijk macroscopisch zichtbaren groei te zien. Beide dieren zijn door verkoop uit onzen gezichtskring geraakt.

Geval 43. Rund Wbr. 405.

Hier hadden wij te doen met een koppel veel welke voor ruim de helft uit tuberculeuze dieren bestond. Er werd zonder verder klinisch onderzoek van de reagerende dieren sputum afgenomen.

Microscopisch onderzoek: Bij rund Wbr. 405 was het microscopisch onderzoek van het sputum negatief.

Cultuur. Er werd een cultuurproef ingezet en deze had na 50 dagen een positieven uitslag.

Geval 44. Rund Wbr. 418.

Dit rund kwam uit denzelfden koppel als Wbr. 405. Er is zonder meer sputum afgenomen.

Microscopisch onderzoek: Dit sputum was bij microscopisch onderzoek eveneens negatief.

Cultuur. Er zijn culturen aangelegd en na 50 dagen bebroeden waren wij ook hier in staat de uitspraak „lijdende aan open longtuberculose” te geven.

Geval 45. Rund Ut. 1133.

De veestapel waar dit rund uit afkomstig was bestond voor 35% uit op tuberculine reagerende dieren. Er is geen klinisch onderzoek ingesteld, maar van alle tuberculeuze dieren is sputum verzameld.

Microscopisch onderzoek: Het microscopisch onderzoek was negatief.

Cultuur. De cultuurproef had hier echter een positief verloop en wel was na 18 dagen micr. en na 30 dagen macr. groei zichtbaar.

Samenvattend kunnen wij dus zeggen dat bij deze groep van 7 runderen waarbij het microscopisch sputum onderzoek een negatieven uitslag had toch bij cultiveeren tuberkelbacillen gekweekt zijn. De uitspraak is hier geheel gebaseerd op de waargenomen groei en het microscopisch beeld der gekweekte bacillen.

Samenvatting van Hoofdstuk II.

Ten bewijze van de doeltreffendheid der kweekmethode voerden wij in dit hoofdstuk de resultaten aan van het onderzoek bij 43 koeien, een paard en een geit. Bij al deze dieren was het microscopisch onderzoek van het sputum negatief, terwijl na het aanleggen van culturen uit dit materiaal tuberkelbacillen werden gecultiveerd.

HOOFDSTUK III.

**De waarde van enkele nieuwere methoden van
microscopisch onderzoek.**§ 1. *Inleiding.*

Toen het plan werd opgemaakt om te trachten door het toepassen van de kweekmethode een meer doeltreffende werkwijze voor het opsporen van open tuberculoselijders onder het rundvee te ontwikkelen, rees het denkbeeld, dat dit doel nog op andere wijze bereikt zou kunnen worden. De mogelijkheid werd geopperd, dat door het gebruik van den „fluorescentie-microscoop”, of door toepassing van een der nieuwere kleurmethode voor tuberkelbacillen, de resultaten van het onderzoek der praeparaten gekleurd volgens ZIEHL-NEELSEN dermate overtroffen zouden worden, dat het niet noodig zou zijn, de ongetwijfeld langer durende methode van cultiveeren uit te voeren. Wij hebben ons tot taak gesteld, — voor zoover dit met de vele werkzaamheden verbonden aan het cultureel onderzoek mogelijk was, — een vergelijking van de resultaten der „Ziehl-Neelsen”-methode eenerzijds en der „fluorescentie”-methode, — resp. van een der nieuwere kleurmethode — anderzijds op te stellen. Wij konden met het oog op den ons ter beschikking staanden tijd en beperkte hulpmiddelen dit laatste onderzoek niet over meer dan één dezer „kleurmethode” uitstrekken. Wij vestigden voor deze vergelijking onze keuze op de kleurmethode volgens JÖTTEN-HAARMANN (zie blz. 30).

Als basis voor deze vergelijking moeten uit den aard de resultaten dienen, die met de cultuurproef resp. de dierproef worden verkregen. De ons voorgelegde vraag kan dan ook nog anders gesteld worden nl.: Worden met het onderzoek van den fluorescentie-microscoop resp. met de kleuring volgens JÖTTEN-HAARMANN resultaten verkregen, die een even groote verbetering bij het opsporen van open lijders waarborgen, als door ons, voor de cultuurmethode in de hoofdstukken I en II is beschreven?

Alleen in dat geval zou men zich van het toepassen der cultuur-methode kunnen onthouden en tot een der hier genoemde microscopische methoden kunnen overgaan. Op grond van de in de volgende paragrafen bijeenbrachte gegevens zijn wij van oordeel, dat de microscopische methoden, hier bedoeld, de cultuurmethode *niet* kunnen vervangen.

§ 2. *Kort literatuur overzicht omtrent de toepassing der fluorescentie-microscopie bij het onderzoek van sputum op tuberkelbacillen.*

Deze methode van microscopisch onderzoek werd reeds in 1911 in botanie en histologie toegepast. In 1933 gaven HARTINGER en HAMPERL ¹⁾ een beschrijving van het gebruik dezer methode bij histologisch

onderzoek. Op grond van de hiermede verkregen resultaten heeft P. HAGEMANN ²⁾ deze kleurmethode in de bacteriologie ingevoerd en wel eerst voor het zichtbaar maken van virussoorten en later voor het opsporen van zuurvaste bacillen. HAGEMANN kleurde oorspronkelijk met Berberin-sulfaat en later met Auramine. Ook HERMANN ³⁾ gebruikte de fluorescentie-microscopie voor het zichtbaar maken van tuberkelbacillen.

De fluorescentie-microscopie berust op het beginsel dat de micro-organismen niet door terugkaatsing van gewoon licht voor ons oog waarneembaar worden, maar dat zij door bestraling met ultra-violet of heel sterk blauw licht zelf licht gaan uitstralen. Om dit te bereiken, moeten de objecten eerst doordrenkt worden met sterk fluoresceerende chemicaliën, fluorochromen genaamd. Wij zien dan in een overigens donker veld kleine lichtgevendende puntjes en streepjes. Een voordeel is hierbij, dat de objecten zich aan ons oog grootter voordoen dan zij in werkelijkheid zijn. Dit berust op het feit dat ons oog gevoeliger is voor „lichtindrukken” dan voor „kleuren”. Wij kunnen dus op deze wijze volstaan met een kleinere linaire vergrooting, hetgeen in dit geval beteekent, dat wij de objecten kunnen bezien met een droog lenzen-systeem, waardoor dus het gebruik van olie-immersie komt te vervallen. Het meest gebruikelijke objectief is er een van $60 \times$ terwijl als oculair wordt gebruikt een van $5 \times$. De totale vergrooting is dus $300 \times$. Als nadeel zou te noemen zijn de speciale lichtbron en apparatuur voor het ultraviolette licht; hiervoor moet nml. het geheele optische stelsel uit kwarts bestaan. Tevens moet gewerkt worden in een verduisterd vertrek.

Door ZEISS is een apparatuur ontworpen met booglicht of een hoogedruk kwikdampamp. Op het oculair bevindt zich een „sperfilter” om nog doorkomende ultraviolette stralen, die het oog zouden kunnen schaden, tegen te houden.

Door KELLER ⁴⁾ is een vereenvoudigde apparatuur ontworpen, waarbij gewerkt wordt het heel sterk blauw licht.

Om de fluoresceerende bacillen te zien is daarbij op het oculair een oranje-filter aangebracht, dat wel het gele maar niet het blauwe licht doorlaat.

Als voordeel is ook nog te noemen, dat men in een korteren tijd een veel grootter oppervlak kan doorzoeken, zoodat er zeker een winst aan tijd is.

De kleuring is niet ingewikkelder dan die volgens ZIEHL-NEELSEN, zij geschiedt als volgt: fixatie door de vlam, gedurende vijf minuten kleuren met $1/_{00}$ carbol-auramine, $1 \times$ verhitten tot dampvorming, afspoelen in water en 1 minuut ontkleuren in zoutzure alcohol, afspoelen in water en 5 seconden in $1\%_{00}$ KMnO_4 opl., weer afspoelen in water en twee sec. in Löffler's methyleenblauw oplossing. Dan afspoelen in water en laten drogen (niet tusschen filtreerpapier)!

Door vele onderzoekers zijn vergelijkingen gemaakt tusschen de resultaten, die met de fluorescentie-microscop en die welke bij het op de gewone wijze bezien van praeparaten volgens ZIEHL-NEELEN worden verkregen. De meeste onderzoekers hebben gewerkt met materiaal van menschelijke herkomst. De resultaten van hun onderzoekingen vinden wij aangehaald door BEKKER ⁵⁾ en door MUNNIK ⁶⁾. Als uiterste grenzen van deze vergelijking vinden wij dat HAGEMANN ⁷⁾ bij toepassing van de fluorescentie-methode een toeneming van het aantal positieve uitkomsten met 100% vaststelde en dat DABELSTEIN ⁸⁾ in 't geheel geen verschil tusschen de resultaten van beide methoden waarnam.

HAGEMANN legde culturen aan uit 1400 monsters sputum: bij slechts 35% dezer monsters werden volgens ZIEHL-NEELEN t.b.c.-bacillen gevonden: bij 70% echter werden met de fluorescentie-microscop „tuberkelbacillen” aangetoond.

H. meent dus een verbetering in de uitkomst van 100% te hebben vastgesteld. Wij merken echter op:

1. Het staat niet vast dat alle met de fluorescentie-methode waargenomen fluoresceerende bacillen tuberkelbacillen zijn.
2. Ook met deze fluorescentie-methode worden nog 30% der cultureel positief bevonden monsters niet als zoodanig herkend.

Of de uit deze monsters gekweekte alle culturen van t.b.c.-bacillen zijn, en of eventueel culturen van andere microben correspondeeren met miswijzingen bij het beschouwen der praeparaten met den fluorescentie-microscop, kon uit de door H. verstrekte gegevens niet worden opgemaakt.

HERMANN ⁹⁾ zag onder 1424 monsters in 196 met de Z.-N.-methode en in 226 gevallen met de fluorescentie-microscop een positief beeld. CLAUBERG ⁹⁾ zag bij onderzoek van 500 monsters 18% meer positieve gevallen met de fluorescentie-methode dan bij het gewone onderzoek volgens ZIEHL-NEELEN. Volgens C. waren de resultaten bij tuberkelbacillen der diverse typen (typus humanus, bovinus en gallinaceus) gelijk. Andere gunstige resultaten vinden wij bij DIDION ¹⁰⁾, GÄRTNER ¹¹⁾, FINKE ¹²⁾, KARSTEN ¹³⁾, LUZ ¹⁴⁾ en MEDING ¹⁵⁾, ZIMMERMANN ¹⁶⁾, POT ¹⁷⁾, HULK ¹⁸⁾ en BEKKER ⁵⁾.

ZIMMERMANN ¹⁶⁾ controleerde de verkregen uitkomsten tevens met de dierproef, waarbij hij zag, dat lang niet altijd de bevinding met de fluorescentie-microscop door de dierproef werd bevestigd. Ook JUNG ²⁰⁾ vond een afwijking van 3% ten gunste van de dierproef. POT ¹⁷⁾ vergeleek 500 sputa en vond daarvan volgens ZIEHL-NEELEN 55 positief en volgens de fluorescentie-methode bovendien nog 9 positief (totaal 64). Dit werd door kweekproeven bevestigd. Hij berekende tevens de tijdwinst en zag dat deze bedroeg 13 uur op de 39½ uur d.i. 1/3. HULK ¹⁸⁾ kreeg ook een winst van 19 positieven bij het onderzoek met den fluorescentie

microscop. Hiervan zijn door kweek- en dierproeven 9 gevallen bevestigd de overige 10 niet. HULK wijt het verkeerdelijk als „tuberkelbacillen” noteeren aan de aanwezigheid van doode of verzwakte bacillen, die bij de dierproef niet meer aansloegen of aan vergissing met saprophyten. BEKKER⁵⁾ heeft in denzelfden geest onderzocht en komt tenslotte tot de uitspraak: „dat het onderzoek met den fluorescentie microscop „meer positieve gevallen aangeeft, maar dat de kans op verwisseling met „saprophyten ook grooter wordt, hetgeen volgt uit het niet aanslaan „bij kweek- en caviaproef met materiaal, dat alleen bij de fluorescentie-„methode een positieve uitslag geeft. Bij niet overeenstemmen der beide „methoden (ZIEHL-NEELSEN en FLUORESCENTIE) acht deze onder-„zoeker het gewenscht kweek- en dierproef in te stellen, maar bij het „routine-onderzoek over een groot aantal monsters is dit bezwaarlijk „door te voeren en daarom is het beter voorsnig aan de Ziehl-Neelsen-„proef vast te houden.”

Onderzoekingen van dierlijk materiaal vinden wij beschreven door SÖNTGEN²¹⁾, KARSTEN¹³⁾, BUSCH²³⁾ en MUNNINK⁶⁾. In gunstigen zin laten zich KARSTEN¹³⁾ en BUSCH²³⁾ uit. Laatstgenoemde echter met de restrictie, dat bij een negatieve uitkomst de caviaproef toch niet gemist kan worden. BUSCH²³⁾ onderzocht 602 sputa, waarvan eerst door caviaproef en met kleurmethode JÖTTEN-HAARMANN (zie blz. 30) de diagnose gesteld was. Bij 120 monsters, die met de dierproef positief waren, konden op geen der beide manieren bacillen aangetoond worden, terwijl er 48 monsters waren die alleen volgens de kleurmethode JÖTTEN-HAARMANN negatief waren en waarbij dus het resultaat met het fluorescentie-microscop met dat van de dierproef overeenstemde.

Ook MUNNINK⁶⁾ die van dit onderwerp een uitvoerige literatuurstudie maakte, doch zelf geen vergelijkende proeven publiceerde, komt tot de conclusie, dat de mogelijke winst aan positieve uitslagen voor een groot deel te niet gedaan wordt door de ook evenredig grootere kans op verwisseling met saprophyten. In Nederland is de fluorescentie-microscopie dus niet gebruikt bij het opsporen van runderen met open tuberculose, maar wordt de einduitspraak nog altijd gedaan op grond van het onderzoek van het Ziehl-Neelsen-praeparaat of in bijzondere gevallen van de dierproef.

Literatuur.

1. M. Hartinger en H. Hamperl, Zeitschr. f. mikrosk. anat. Forsch. 33, 1933.
2. P. K. H. Hagemann, Deutsche Med. Wochenschr. 63, 1937.
3. W. Herrmann, Deutsche Med. Wochenschr. 64, 1938.
4. C. J. Keller, Münch. Med. Wochenschr. 85, 1938.
5. J. H. Bekker, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 85, 1941.
6. Munnik, Tijdschr. v. Diergeneesk. 1942.
7. P. K. H. Hagemann, Münch. Wochenschr. 85, 1938.
8. H. Dabelstein, Zentralbl. f. Bakt. Abt. Orig. 143, 1939.

9. K. W. Clauberg, *Klin. Wochenschr.* 18, 1939.
10. H. Didion, *Klin. Wochenschr.* 18, 1939.
11. H. Gärtner, *Zeitschr. f. Tuberk.* 83, 1939.
12. L. Finke, *Archiv. f. Hyg.* 123, 1940.
13. F. Karsten, *Z. f. Fleisch- u. Milchhyg.* 50, 1940.
- 14-15. K. Luz en B. Meding, *Zentr. f. Bakt. I Abt. Orig.* 145, 1940.
16. W. Zimmermann, *Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Krankh.* 122, 1940.
17. A. W. Pot, *Geneesk. Gids* 17, 1939.
18. J. F. Hulk, *Versl. en Meded. betr. de Volksgez.* 1940.
20. J. W. Jung, *Deutsches Tuberk. Blatt* 14, 1940.
21. K. Söntgen, *Berl. u. Münch. Tierarztl. W.schr.* 1940.
23. G. Busch, *Deutsche Tierarztl. W.schr.* 48, 1940.

§ 3. *Vergelijking van de resultaten der „Ziehl-Neelsen-kleuring” met die van de „Fluorescentie”-microscopie.*

Voor het onderzoek met den fluorescentie-microscoop hebben wij een dankbaar gebruik gemaakt van de installatie van het Rijks Instituut voor de Volksgezondheid te Utrecht. Dit is een installatie volgens KELLER (zie blz. 25). Om goed vergelijkbaar materiaal te krijgen hebben wij de te onderzoeken monsters telkens tusschen twee voorwerpglasjes fijn gedrukt en zoo uitgestreken. Het eene praeparaat werd dan volgens ZIEHL-NEELENSEN, het andere met den fluorescentie-microscoop onderzocht. Wij mogen aannemen, dat bij aanwezig zijn van tuberkelbacillen, deze gelijkelijk over beide glasjes verdeeld worden. Na droging en fixatie door de vlam worden de uitstrijkjes als volgt gekleurd: 5 minuten in carbol-auramine oplossing 1 $\frac{0}{100}$ onder verwarming, afspoelen in water en 1 minuut ontkleuren in zoutzure alcohol, afspoelen in water en 5 seconden in 1 $\frac{0}{100}$ KMnO_4 -oplossing, afspoelen in water en 1 seconde Löffler's methyleenblauw, afspoelen en drogen aan de lucht.

In totaal hebben wij 170 sputa op de beide bovengenoemde wijzen kunnen onderzoeken, doch uit den aard kon slechts in een beperkt aantal gevallen het resultaat der beide onderzoekingsmethoden met de „entproef” of de „dierproef” getoetst worden. Wij geven in tabel No. 1 verslag van deze volledig onderzochte gevallen.

Ook wij konden vaststellen, dat bij het gebruik van den fluorescentie-microscoop tijdwinst te boeken valt. Wij hebben echter om de vergelijking niet eenzijdig te beïnvloeden den tijd voor het doorzoeken van het Ziehl-Neelsen-praeparaat $2 \times$ zoo lang genomen als bij het zoeken onder den fluorescentie-microscoop. Neemt men echter de tijden even lang dan zal men in het laatste geval een grooter oppervlak kunnen doorzoeken en zeker een grootere kans op meer positieve uitkomsten hebben. Toch lijkt ons dit voordeel niet van zoo groot belang om bij het routine-onderzoek van de gebruikelijke Ziehl-Neelsen-kleuring af te stappen.

Voor 8 monsters sputa noteerden wij bij het onderzoek van de Ziehl-Neelsen-praeparaten het resultaat „twijfelachtig”, daarmede aan-

TABEL No. 1.

Vergelijking ZIEHL-NEELSEN — Fluorescentie microscopie.

Geval	Ziehl-Neelsen	Fluorescentie-micr.	Cultuur	Dierproef met cultuur
Nelis L.	+	+	+	
Agnes L.	+	+	+	
v. Bommel 2056	+	+	+	
Grada O.	+	+	+	
Laak 1023	+	+	+	
v. d. Brink 4868	+	+	+	
W. h. v. 772	+	+	+	
M. t. d. 3552	+	+	+	
v. Dijk 433	±	+	+	
Sjors L.	±	±	+	+
Beatrix Krt.	±	±	+	+
Laak 1025	±	±	+	+
Vlt. 1846	+	—	+	
BeO. 2299	±	—	+	+
MeO. 1161	±	—	+	+ (dierpr. met sputum)
Marie O.	±	—	—	

TABEL No. 1a.

Onderzoekingsmethode	Positief	Twijfelachtig	Negatief
Cultuurmethode	15	0	1
Ziehl-Neelsen	8	8	0
Fluor. Micr.	9	2	5

gevende, dat na lang microscopiseeren een enkele zuurvaste bacil werd opgespoord, doch dat het beeld zoodanig was, dat wij niet tot de aanwezigheid van „open tuberculose” konden besluiten. Een soortgelijk resultaat boekten wij bij 2 onderzoekingen met den fluorescentie-microscop, doch bij een der „Ziehl-Neelsen-twijfelachtige” kon de diagnose met den fluorescentie-microscop gemaakt worden. Wij wenschen op grond van deze gegevens geen eendoordeel te vellen over de vraag of het onderzoek met den fluorescentie-microscop de voorkeur verdient boven het gewone onderzoek der volgens ZIEHL-NEELSEN gekleurde praeparaten.

Wel is voor ons komen vast te staan, dat ook bij toepassing der fluorescentie-microscopie een zeker niet te verwaarloozen aantal gevallen van „open tuberculose” niet ontdekt zou worden. Om deze zoo volledig

mogelijk op te sporen dient men van de cultuur-methode subsidair van de dierproef gebruik te maken.

§ 4. *Vergelijking der resultaten verkregen bij het onderzoek van praeparaten gekleurd volgens ZIEHL-NEELSEN en volgens JÖTTEN-HAARMANN.*

a. *Techniek der kleuringsmethoden.*

Reeds spoedig na de ontdekking van den tuberkelbacil ontstond er behoefte aan een goede methode om de bacil zichtbaar te maken. In 1925 zijn door twee Spaansche auteurs POIRÉ en CARRANZA, niet minder dan 80 kleurmethode beschreven voor de kleuring van tuberkelbacillen. Dit groote aantal wijst er al op, dat men voor het opsporen van den verwekker van de meest ruïneuze ziekte der menschheid nog niet is waar men wezen wil. Toch zien wij bij het nagaan der literatuur, dat de kleurmethode, zooals die reeds een menschenleeftijd geleden werd aangegeven door EHRlich-ZIEHL-NEELSEN, bij vergelijkingen steeds op den voorgrond treedt. *Volgens de gevonden cijfers worden op deze wijze in 50—75% der open vormen, bacillenuitscheiders opgespoord.* Een feit blijft echter, dat bij een gering aantal bacillen in het te onderzoeken materiaal, deze in het gezichtsveld van het uitstrijkpraeparaat verloren kunnen gaan. Als wij hiernaast tevens het feit zetten, dat bij normale vergrooting met olie-immersie 1/12 en oculair 5 × de middellijn van het gezichtsveld 0.03 mm is, hetgeen een oppervlak geeft van $\pm 0.0007 \text{ mm}^2$, dan kunnen wij begrijpen, dat het zoeken naar enkele bacillen in een heel uitstrijkpreparaatje begint te lijken op het zoeken naar een speld in een hooiberg. Om hieraan eenigszins tegemoet te komen zijn er diverse zg. „Anreicherungs“-methoden uitgedacht, welke alle beoogen de bacillen uit een betrekkelijk groote hoeveelheid materiaal in een klein volume samen te brengen. Hierdoor is de kans op het vinden van bacillen zeker vergroot, maar afdoende is de zaak hiermede niet opgelost, vooral niet als men gebonden is aan een bepaalden tijd, die voor het zoeken beschikbaar is. (zie § 5 van dit hoofdstuk)

Teneinde de door ons uit de literatuur verkregen meening over de diverse kleurmethode aan de praktijk te toetsen, hebben wij ook een reeks sputa vergelijkend onderzocht. Wij hebben ons hierbij beperkt tot een vergelijking van de gewone kleuring volgens ZIEHL-NEELSEN met de kleuring volgens JÖTTEN-HAARMANN. Tegelijk zijn de resultaten door kweek- en caviaproeven gecontroleerd.

De kleuring volgens ZIEHL-NEELSEN gaat als volgt: Na fixatie door de vlam, 5 minuten kleuren in carbol-fuchsine onder verwarming, hierna afspoelen in water en ontkleuren in zoutzure-alcohol, afspoelen in water en nakleuren met Löffler's methyleenblauw, afspoelen en drogen.

De kleuring volgens JÖTTEN-HAARMANN¹⁾ verschilt in beginsel niet veel van de voorgaande. Ook hier eerst 5 minuten kleuren met

¹⁾ Overgenomen uit Bacteriol. Taschenbuch. Olsen-Prausnitz 1931.

carbol-fuchsine onder verwarming, daarna volgt ontkleuren met 15 % salpeterzuur gedurende ongeveer 20 seconden, even afspoelen in water en nogmaals 10 seconden in salpeterzuur, dan goed afspoelen in water en nakleuren met pikrinezure alcohol (verzadigde waterige oplossing van pikrinezuur en alcohol $\bar{a}\bar{a}$) gedurende 30 seconden, afspoelen in water en drogen. Hier zien wij de bacillen rood in een geel veld.

b. Resultaten van het eigen onderzoek.

Wij konden in totaal 200 gevallen naast elkaar vergelijken de Ziehl-Neelsen- en de Jötten-Haarmann-kleuring. Het aantal malen dat de beide methoden een positief resultaat gaven ontloopt elkaar vrij veel, nl. 9 maal bij ZIEHL-NEELEN (bovendien nog vijf dubieuze) en 5 maal bij JÖTTEN-HAARMANN. Dit verwondert ons wel, daar de grondkleuring voor beiden dezelfde is. Ook valt op, dat bij de vijf zeer verdachte praeparaten bij de Ziehl-Neelsen-kleuring er in de corresponderende praeparaten bij de Jötten-Haarmann-kleuring absoluut niets gevonden is. Wij schrijven dit voor een groot deel toe aan de contrastkleuring. Volgens onze meening zijn in een licht geel veld de bacillen minder duidelijk te onderkennen.

Wij geven bovenstaande „positieve” resultaten in de volgende tabel No. 2 volledig weer.

TABEL No. 2.

Vergelijking Ziehl-Neelsen-kleuring met die volgens JÖTTEN-HAARMANN.

No	Ziehl-Neelsen	Jötten-Haarmann	Cultuur
Nelis L.	+	+	+
Agnes L.	+	+	+
Bemmel 2056.	+	+	+
Gonda O.	+	+	+
Laak 1023	+	+	+
H. M. L. 1558	+	—	+
W. H. v. 772	+	—	+
M. t. D. 3552	+	—	+
v. d. Br. 4868	+	—	+
Sjors L.	±	—	+
V. D. 433	±	—	+
Beatrix Krt.	±	—	+
Laak 1025	±	—	+
Thea L.	—	—	+
Stien O.	—	—	+
Ada Krt.	—	—	+
Marie O.	±	—	—

In 17 gevallen is de cultuurproef uitgevoerd, bij één met negatief resultaat, terwijl het Ziehl-Neelsen-praeparaat twijfelachtig, en J. H. negatief was. Dit geval blijft verder buiten beschouwing.

Ook hier handhaaft het cultureel onderzoek zijn superioriteit boven dat van het Ziehl-Neelsen-praeparaat. Wij zien onder de 16 cultureel positief bevonden gevallen slechts bij 9 een duidelijk positieve bevinding in het Z.-N.-praeparaat, bij vier, was deze uitslag twijfelachtig bij 3 negatief.

Voor de kleuring volgens J.-H. zijn de resultaten ongetwijfeld slechter dan voor Z.-N. Hier vonden wij slechts 5 positieve gevallen genoteerd en niet minder dan 11 negatieve. Wij geven deze cijfers voor een goed overzicht in onderstaand tabelletje nog eens samengevat weer.

TABEL No. 2a.

Onderzoekingsmethode	Positief	Twijfelachtig	Negatief
Cultuurmethode	16	0	0
Ziehl-Neelsen	9	4	3
Jötten-Haarmann	5	0	11

Met het bovenstaande is komen vast te staan, dat bij toepassing van de methode JÖTTEN-HAARMANN een belangrijk aantal gevallen van open t.b.c. niet worden onderkend. Ook hier blijkt, dat daarvoor aan de cultuurproef (subsidaire aan de dierproef) zeer zeker de voorkeur gegeven moet worden.

§ 5. *Vergelijking van de kweekmethode met een „ophoopingmethode”.*

Gedurende het onderzoek werd het denkbeeld geopperd, dat het mogelijk zou zijn in het geconcentreerde sediment uit het sputum (na de H_2SO_4 -behandeling) (zie hoofdstuk I, § 3, blz. 3) door microscopisch onderzoek tuberkelbacillen aan te toonen.

Wij hebben in een 60 gevallen deze werkwijze in praktijk gebracht, doch het is ons niet mogen gelukken daarbij in het Ziehl-Neelsen-praeparaat van het sediment t.b.c.-bacillen te vinden.

Bij 5 gevallen werden door middel van de cultuurproef wel t.b.c.-bacillen gevonden.

Wij komen dan ook tot de conclusie, dat het onderzoek van het aldus na „anreicherung” verkregen materiaal zeker niet in de plaats kan treden van het onderzoek met de kweekmethode.

§ 6. *Vergelijking van de cultuurmethode met de dierproef.*

Hoewel wij niet over een groot aantal gevallen beschikken, waren wij toch in de gelegenheid eenige malen van hetzelfde monster de cultuurproef en de dierproef aan te zetten.

TABEL No. 3.

Vergelijking van de cultuurmethode met de dierproef.

Cavia No.	Materiaal	Dierproef	Cultuur	Geval No.
75	Sputum koe Dorrestein	pos.	pos.	18
277	Sputum rund 3514 . . .	pos.	pos.	21
278	Sputum rund 3172 . . .	pos.	pos.	22
279	Sputum rund 1161 . . .	pos.	pos.	23
285	Sputum rund 1894 . . .	pos.	pos.	20
19	Sputum rund 1542 . . .	pos.	pos.	
20	Sputum paard Rijswijk.	pos.	pos.	24
30	Sputum rund Bezooyen	pos.	pos.	8
4	Sputum rund 413 . . .	neg. ¹⁾	pos.	35
282	Sputum rund 4345 . . .	neg.	pos.	
10	Sputum geit	neg.	pos.	28
280	Sputum rund 1659 . . .	neg.	neg.	
281	Sputum rund Brenk. . .	neg.	neg.	
3	Sputum rund 372 . . .	neg.	neg.	
49	Sputum rund 1460 . . .	neg.	neg.	
53	Sputum rund 398 . . .	neg.	neg.	
62	Sputum en melk sed. rund Veldhuizen . . .	neg.	neg.	
273	Melk sed. rund Prof. Beyers	neg.	neg.	
274	Melk sed. rund Jph. 3518	neg.	neg.	
2	Melk sed. 197	neg.	pos.	

TABEL No. 3a.

Samenvatting van Tabel No. 3.

Vergelijking cultuurproef en dierproef
Monsters sputum (17) en melk (3).

Dierproef en cultuurproef <i>positief</i>	Dierproef en cultuurproef <i>negatief</i>	Dierproef <i>pos.</i> Cultuurproef <i>neg.</i>	Dierproef <i>neg.</i> Cultuurproef <i>pos.</i>
8	8	0	4

¹⁾ Cavia gestorven aan coli bacillosis.

Samenvattend zien wij dat de cultuurmethode en de dierproef overeenstemmen in 16 van de 20 gevallen. Een afwijking ten gunste van de cultuurmethode zien wij in 4 gevallen. In 1 van deze 4 gevallen viel de dierproef ontijdig af door succombeeren van het proefdier aan colibacillosis (uit diverse organen zijn colibacillen gekweekt). Bij cavia 282 valt op te merken, dat in het microscopisch praeparaat van het sputum na herhaald zoeken 1 zuurvaste bacil gevonden is, terwijl bij sectie van het rund bleek, dat alleen de retropharyngeale lymphklieren tuberculeus waren.

Bij cavia 10 kan opgemerkt worden, dat bij sectie van de geit in de longen een tuberculeus proces aanwezig was, waarbij na lang zoeken een ulcus in een fijne bronchus werd gevonden.

Op het rund No. 197 behoorende bij cavia 2 konden wij geen sectie verrichten. De cultuur vertoonde echter geheel het aspect van een reincultuur van bovine tuberkelbacillen nl. een fijn, wit waas met eenigszins glimmend, vochtig oppervlak.

Uit deze gegevens valt te besluiten, dat de goed uitgevoerde cultuurproef in betrouwbaarheid zeker niet bij de dierproef ten achter staat, een conclusie waartoe ook andere onderzoekers (zie Hoofdstuk V Literatuuroverzicht) zijn gekomen.

Wij erkennen gaarne, dat het door ons onderzochte aantal gevallen te gering is om een eendoordeel uit te spreken over de vraag, in hoeverre de cultuurproef de dierproef *volledig* kan vervangen. Nu in Hoofdstuk II de superioriteit van de cultuurproef boven het routine-microscopisch onderzoek van het sediment zoo onomstootelijk is gebleken, zal het nuttig zijn deze vraag aan een volgend omvangrijker materiaal na te gaan.

Toepassing van de cultuurproef blijft geboden, omdat daarmede zonder opoffering van proefdieren de gevallen van open tuberculose vollediger worden opgespoord, dan alleen met het routine-microscopisch onderzoek mogelijk is.

Wij zullen in een volgend hoofdstuk de vraag onderzoeken of het noodig is dit cultureel onderzoek toe te passen voor *elk* dier met een „positieve tuberculine-reactie”, dan wel of uitvoering dezer methode tot bijzondere gevallen beperkt kan blijven.

Het tijdsverloop, dat noodig is om een macroscopisch waarneembare groei te zien, in den vorm van een dun, wit, wazig beslag, schommelt tusschen 20 en 30 dagen (zie Tabel No. 5) met ook hier geringe afwijkingen, zoowel naar beneden als naar boven.

TABEL No. 5.

Tijdsduur waarbij macroscopisch zichtbare groei optreedt bij cultiveeren uit sputa, welke volgens het Ziehl-Neelsen-praeparaat tuberkelbacillen bevatten.

No. Sputum	Dagen													
	18	19	20	21	22	23	24	25	28	30	33	40	50	60
1								+						
2								+						
3														
4							+							+
5		+												
6														
7										+				
8	+													
9														
10			+											
11														
12						+								
13						+								
14												+		

Wij zien uit dit overzicht, dat, beginnende bij den 10en dag der bebroeding, een geregelde microscopische contrôle op groei noodzakelijk is en dat daarbij van den 20en dag af de macroscopische contrôle verricht moet worden.

b. De strijd tegen de „verontreinigingen.”

1. Algemeen overzicht.

Tegelijk met de publicatie, waarin hij de ontdekking van den tuberkelbacil aankondigde, heeft KOCH in 1882 ook een kweekmethode voor de bacillen aangegeven. Het was echter in dien tijd een zeer moeilijke opgave om een reïncultuur van tuberkelbacillen te verkrijgen. KOCH gebruikte als voedingsbodem gestold runderserum. Mede door den langzamen groei der tuberkelbacillen was de kans op verontreiniging der voedingsbodems door de veel sneller groeiende begeleidende saprophyten eerder regel dan uitzondering.

KOCH liet dus, om een redelijke kans op resultaat te hebben, de tuberkelbacillen eerst een passage door een proefdier doormaken en entte dan uit de steriel uitgenomen organen van zulk een proefdier. Direct uit het oorspronkelijke, infectieuze materiaal gelukte het niet om primaire culturen aan te leggen, omdat deze steeds overwoekerd werden door „verontreinigers.“

De eerste verbetering om tot een goede methode voor het kweken te komen is aangegeven door UHLENHUTH (1909)¹⁾ die het gebruik van de antiformine behandelingsmethode heeft aangegeven.

Lang heeft deze methode stand gehouden, hoewel zij geen algeheele voldoening gaf. Het kweken van tuberkelbacillen bleef een riskante bezigheid, ook al gebruikte men de intusschen aangegeven eihoudende voedingsbodems volgens DORSET, LÜBENAU en BESREDKA. De grootste stap vooruit kwam door de ontdekking van LOEWENSTEIN en SUMYOSHI in 1924.¹⁾ Hierbij kwam vast te staan, dat tuberkelbacillen bestand zijn tegen de inwerking van minerale zuren en loog. Volgens deze onderzoekers zouden door H_2SO_4 tot een sterkte van 40% en door HCl tot een sterkte van 30% de tuberkelbacillen niet gedood worden.

Werkende met een 5-voudige hoeveelheid van deze zuren op een bepaald quantum sputum kregen deze onderzoekers heel goede resultaten. De inwerkingstijd van het zuur bedroeg 10 à 15 minuten. Later heeft J. HOHN²⁾ in 1926 de methode in zooverre nog weer verbeterd, dat hij de sterkte van het zuur verlaagde tot 12 vol. % en het uitwassen van het verkregen sediment achterwege liet. Op deze wijze werd het cultiveeren van tuberkelbacillen volgens HOHN een eenvoudig routinewerk, dat op elk laboratorium is uit te voeren. Nu waren deze gunstige resultaten alleen verkregen met materiaal afkomstig van *menschen* die lijdende waren aan tuberculose.

Bij ons onderzoek, waarbij alleen met dierlijk materiaal gewerkt is, liggen de uitkomsten wel iets anders. In de eerste plaats is het materiaal in veel ernstiger mate verontreinigd door bijgemengde voedselresten. Bovendien bevat het rundervoedsel zeer vele zuurvaste saprophyten. Opmerkelijk is, dat het sputum tijdens de stalperiode verkregen toch minder aanleiding geeft tot verontreiniging der voedingsbodems dan het sputum tijdens de weideperiode verkregen. In het begin van het onderzoek hebben wij hiervan nog wel eens last ondervonden en wij hebben op verschillende manieren getracht daarin verbetering te brengen, nl. door a. gebruik te maken van ander zuur resp. loog, b. de sterkte van het zuur te verhoogen, c. den inwerkingstijd te verlengen.

Tenslotte hebben wij de laatste methode gekozen, omdat deze het beste voldeed en het minst schadelijk was gebleken voor de tuberkelbacillen. (Zie de tabel No. 6, blz. 39).

¹⁾ Arbeiten Kaiserl. Gesundheitsamt. 32. No. 158.

²⁾ Zentralbl. f. Bakt. I Abh. Orig. Bnd 98. 1926.

Als eenvoudig hulpmiddel om in geval van twijfel bij het aantreffen van „zuurvaste staafjes” snel na te gaan of tuberkelbacillen dan wel „saprophyten” in het spel zijn, is te noemen het overenten op agar en bouillon. Verscheidene „saprophyten” geven hierop groei te zien, binnen een tijd (1 à 2 × 24 uur), waarop tuberkelbacillen op deze media zeker geen groei geven voor zoover ze dan al hierop groeien. Ook is voor deze onderscheiding door ons met succes gebruik gemaakt van de eigenschap, dat zuur- en alcoholvaste saprophyten, bij onderdompeling gedurende 2 à 3 minuten in kokend water, deze eigenschap verliezen, terwijl „tuberkelbacillen” ook bij deze behandeling „zuurvast” blijven (roodkleuring met carbolfuchsine).

Wij laschten bij de gebruikelijke kleuringsmethode volgens ZIEHL-NEELEN tusschen de kleuring met carbol-fuchsine en de ontkleuring in 3% zoutzure alcohol de onderdompeling in kokend water in en konden hierdóór practisch steeds uitmaken of wij met „tuberkelbacillen,” dan wel met „saprophyten” te doen hadden.

Eén merkwaardig geval willen wij hier nog even nader bespreken. Dit betreft het sputummonster 4858. Hier hadden wij bij de primaire cultuur last van coc-achtige micro-organismen, welke de tuberkelbacillen vrijwel overwoekerden (geval 12, blz. 14). Bij onderdompeling der praeparaten in kokend water zagen wij naast de nu blauw gekleurde coccen steeds de met „fuchsine” rood gekleurde slanke „tuberkelbacillen.” De gegroeide cultuur is daarna gesuspendeerd in steriele physiologische NaCl-oplossing en weer geschud met $\frac{1}{2}$ N. H₂SO₄ gedurende 45 minuten. Het verkregen sediment is op enkele voedingsbodems opnieuw uitgezaaid. Toen hierop weer groei zichtbaar was, bleken naast de tuberkelbacillen de coccen nog aanwezig te zijn. Hierna is de cultuur intramusculair ingespoten bij een cavia. Bij sectie van dit proefdier bleek, dat in de organen naast de slanke tuberkelbacillen weer dezelfde coccen aanwezig waren, die al de bewerkingen ook meegemaakt hadden. Welke soort coccen hier een rol heeft gespeeld, is door ons verder niet onderzocht kunnen worden, daar dit ons te ver van het onderzoek zou hebben gevoerd. De diagnose was volgens ons voldoende gemotiveerd, daar toch bij het proefdier, dat ingespoten was met de cultuur, in de organen de slanke tuberkelbacillen zijn aangetoond.

Over ons geheele onderzoek — omvattende 385 monsters sputum waarvan aangelegd 850 culturen — bedraagt het aantal verontreinigde culturen 33, dit is nog niet ten volle 4%. Hieronder verstaan wij dan die culturen, welke absoluut onbruikbaar waren. Het aantal malen, dat er wel is waar eenige verontreiniging aanwezig was, maar zoo, dat deze niet storend werkte, bedraagt 130.

Wij stellen derhalve vast, dat met gebruikmaking van de noodige voorzorgen en hulpmiddelen de cultuur van tuberkelbacillen uit runder-sputum zeer zeker door te voeren is.

TABEL No. 6.

Vergelijkingen tusschen diverse voorbehandelingsmedia.
(duur der behandeling 20 minuten).

Sputum	$\frac{1}{2}$ N. H_2SO_4	1 N. H_2SO_4	$\frac{1}{2}$ N. NCl	1 N. HCl	$\frac{1}{2}$ N. NaOH
372	Steriel		verontrein.		
373	groeï 18 dg.		1. verontr. groeï 21 dg.		
381	steriel		1. verontr.		
384	1. verontr.		verontrein.		
389	steriel		steriel		
396	steriel		1. verontr.		
405	groeï 50 dg.		verontr.		
413	groeï 18 dg.		verontr.		
418	groeï 50 dg.		verontr.		
3195	steriel		steriel		
3297	steriel		steriel		
5	1. verontr.	verontr.			
6	1. verontr. groeï 20 dg.	verontr.			
10	verontr.	verontr.			
11	groeï 18 dg.	groeï 23 dg.			
12	1. verontr.	steriel			
7	groeï 11 dg.				groeï 11 dg.
8	steriel				steriel
9	groeï 11 dg.				groeï 11 dg.
197	groeï 28 dg.	groeï 30 dg.		groeï 30 dg.	groeï 14 dg.
595	groeï 18 dg.	groeï 30 dg.		groeï 35 dg.	groeï 24 dg.
2690	groeï 14 dg.	groeï 20 dg.		groeï 20 dg.	groeï 11 dg.
Martha	1. verontr.			steriel	
3411	steriel			steriel	
3420	groeï 44 dg.			steriel	
3715	steriel			steriel	
4187	groeï 24 dg.			1. verontr. groeï 30 dg.	
4192	groeï 30 dg.			1. verontr. groeï 40 dg.	
4196	steriel			verontr.	
4207	steriel			steriel	
4211	steriel			1. verontr.	

II. Nader onderzoek over het gebruik van andere concentraties H_2SO_4 of wel HCl bij het bewerken van het sputum.

Nadat dus door de inleidende proeven was komen vast te staan, dat gemiddeld na 10—15 dagen een microscopisch waarneembare groei te verwachten was (zie § 1 van dit Hoofdstuk), werd een reeks proeven verricht, waarbij als middel om de verontreinigende bacteriën te doden

gebruik gemaakt is van sterkere H_2SO_4 - en NaOH-oplossing dan $\frac{1}{2}$ normaal, zooals aangegeven is door K. A. JENSSEN ¹⁾, en HCl-oplossing $\frac{1}{2}$ normaal en 1 normaal zooals aangegeven is door RUDERT ²⁾.

Bij al deze proeven is de inwerkingstijd gehouden op 20 minuten.

Bij een beschouwing der verkregen resultaten mogen wij concludeeren, dat voor de voorbehandeling van het sputum het gebruik van H_2SO_4 ter sterkte van $\frac{1}{2}$ N.-oplossing in veel opzichten de voorkeur verdient naast NaOH in $\frac{1}{2}$ N.-oplossing. Weliswaar treden af en toe enkele verontreinigingen op, maar deze worden ook aangetroffen bij gebruik van sterkere concentraties.

Tevens wordt opgemerkt, dat deze verontreinigingen niet al te storend werkten en daar van elk monster sputum altijd twee buizen geënt worden, is toch steeds wel één geschikt om gebruikt te worden voor microscopisch onderzoek. Dit was één der redenen om met de concentratie van het zuur niet hooger te gaan dan $\frac{1}{2}$ N. Ook pleit voor een zoo laag mogelijke concentratie het feit, dat toch steeds door de zuurbehandeling een zekere beschadiging van de bacillen mag worden verwacht, hoewel LOEWENSTEIN en SUMYOSHI aangeven, dat zij zelfs bij gebruik van H_2SO_4 ter sterkte van 30% nog geen beschadiging zagen.

De resultaten bij gebruik van HCl waren niet zoo goed, vooral in de sterkte van $\frac{1}{2}$ N. is HCl niet bruikbaar gebleken, terwijl zelfs 1 N. nog niet geheel gelijk te stellen is met $\frac{1}{2}$ N. H_2SO_4 .

Tevens valt uit de tabel No. 6 nog op te merken, dat bij gebruik van een sterkere zuurconcentratie de groei wel wat vertraagd wordt.

Wij geven gaarne toe, dat het aantal door ons gemaakte vergelijkingen te gering is om een definitieve uitspraak hieromtrent te doen, maar dit lag dan ook niet zoo zeer in het kader van ons onderzoek.

Het verdere onderzoek heeft door ons steeds plaats gehad met $\frac{1}{2}$ N. H_2SO_4 , alleen hebben wij vooral in het laatste gedeelte van het onderzoek de inwerkingsduur verlengd tot 35 à 40 minuten, nadat ons gebleken was, dat dit van geen invloed was op de levensvatbaarheid van de tuberkelbacillen.

c. De duur van het onderzoek.

Wij willen hier in het kort beschrijven den tijdsduur, welke bij het instellen der cultuurmethode noodig is om tot een definitieve uitspraak te komen.

Volledigheidshalve geven wij eerst tabellarisch de tijden weer, waarop de in ons geheele onderzoek als tuberkelbacillen houdend bevonden sputa microscopisch en macroscopisch waarneembare groei te zien gaven. Wij zien hier, dat de gemiddelden vrijwel op dezelfde tijdstippen vallen, als wij bij de bij het microscopisch onderzoek bacillen bevattende sputa gevonden hebben.

¹⁾ K. A. JENSSEN, Zentr.bl. Bakt. I. Abt. Orig. 125. 1932.

²⁾ B. RUDERT, Inaug.-Diss. Leipzig 1934.

Uit de tabellen 7 en 8 valt af te leiden, dat wij in het gunstigste geval na 10 dagen bebroeden een microscopisch waarneembare groei kunnen verwachten. Of men op dit tijdstip al met zekerheid tot groei mag besluiten willen wij in het midden laten, daar er tegen aangevoerd zou kunnen worden, dat dit bacillen zijn, welke men met het oorspronkelijke materiaal op den voedingsbodem gebracht heeft en later weer op het „uitstrijkje” heeft overgebracht. Zeer waarschijnlijk lijkt dit echter niet, daar wij toch van een gedeelte van het materiaal eerst een uitstrijkpraeparaat gemaakt hebben, dit gekleurd volgens ZIEHL-NEELEN en gedurende 5 minuten onder den microscoop bekeken hebben, zonder daarin tuberkelbacillen te ontdekken. Intusschen mogelijk blijft dit geval wel bij een zeer bacillen-arm monster. Dit hoeft echter aan de doeltreffendheid van ons onderzoek geen afbreuk te doen, want hadden wij ons alleen op het Ziehl-Neelsen-praeparaat verlaten, dan ware hier toch de uitspraak „geen tuberkelbacillen aanwezig” gedaan. In zekeren zin geldt dit ook nog bij het macroscopisch zichtbaar worden van den groei.

De eerste verschijnselen van macroscopisch zichtbare groei treden op na 18 dagen bebroeden. Wij zien tevens, dat wij na 35 dagen bebroeden vrijwel alle gevallen van groei geconstateerd hebben. Zijn er na dezen tijd zelfs bij microscopisch onderzoek der voedingsbodems nog geen bacillen te vinden, dan mogen wij wel zeggen, dat de bodems op een heel enkele uitzondering na steriel zullen blijven.

De overgang van microscopisch en macroscopisch waarneembare groei kunnen wij stellen op 20 à 21 dagen.

In vergelijking met de dierproef, waar men altijd nog 6—8 weken voor noodig acht, zien wij bij de cultuurmethode een tijdwinst van 14 dagen hetgeen procentsgewijze een aanzienlijke tijd is.

Wij geven gaarne toe, dat bij het afbreken der proef op den 34en dag de kans bestaat, dat er nog een enkele open lijder aan onze waarneming zal ontsnappen, maar dit aantal zal zeker niet groot zijn. Bovendien zal het zeker nooit mogelijk zijn alle open lijders met één onderzoek te onderkennen. Om hierin doeltreffend te voorzien zou het onderzoek ten minste twee malen per jaar plaats moeten hebben, maar zoolang wij ons met een éénmalig onderzoek per jaar tevreden moeten stellen, is het noodzakelijk, dat dan alle ten dienste staande hulpmiddelen ten volle worden benut (Klinisch onderzoek, bacterioscopisch onderzoek, cultureel onderzoek en in zeer bijzondere gevallen de „dierproef”).

§ 2. *Andere voedingsbodems.*

Bij de toepassing der kweekmethode dient de vraag overwogen, welke voedingsbodem zich hiertoe het beste zou leenen. Voor het cultiveeren van tuberkelbacillen, vooral uit natief materiaal, zijn een

groot aantal kweekwijzen aangegeven. Het zou met de ons ter beschikking staande hulpmiddelen niet mogelijk geweest zijn, naast de vraag of een kweekmethode, — welke dan ook —, hier met succes kan worden toegepast, bovendien de vraag in onderzoek te nemen, welke voedingsbodem hier de „beste” resultaten oplevert. Nu door ons onderzoek is komen vast te staan, dat bij het opsporen van open (long-)tuberculoselijders onder het rundvee met voordeel van een kweekmethode gebruik gemaakt kan worden, zal in een volgend onderzoek aan een groot materiaal beslist kunnen worden, of door keuze van een anderen voedingsbodem de resultaten nog te verbeteren zouden zijn.

Wij hebben bij ons onderzoek gebruik gemaakt van den voedingsbodem van LOEWENSTEIN (zie blz. 4, Hoofdstuk I, § 4), omdat daarover in het laboratorium, waarin wij deze onderzoekingen verrichtten, een zeer groote ervaring bij het bereiden voorhanden was en ook op ander terrein daarmede voortreffelijke resultaten waren verkregen.¹⁾

Bij het begin van ons onderzoek hebben wij enkele vergelijkende proeven in deze gedaan, waarvan hieronder het verslag moge volgen.

Wij hebben naast elkaar vergeleken de resultaten op den voedingsbodem volgens LOEWENSTEIN, op den gewijzigden bodem volgens PETRAGNANI en op den bodem aangegeven door FICKER. Deze laatste bodem bevat een emulsie van runder- of kalfshersenen. Vooral van dezen laatsten hadden wij goede verwachtingen, omdat naar onze meening in het hersenweefsel veel bouwstoffen voor de tuberkelbacillen aanwezig zouden zijn.

De bereidingswijze van dezen bodem is als volgt:

- 100 g fijn gemalen runder- of kalfshersenen in
- 100 g aqua destillata, worden al roerende tot koken gebracht en een kwartier doorgedookt, de massa wordt gecoleerd en aan
- 150 g colatuur wordt toegevoegd
- 150 g van een 2½% oplossing van agar in aqua dest. en
- 20 cc van een 2% steriele Malachietgroen-oplossing.

De massa wordt flink geschud en gedurende één uur gesteriliseerd in Koch's sterilisator. Hierna laat men de massa afkoelen tot 50° C. en voegt dan toe een emulsie van den inhoud van 4 geheele kippeneieren, waarvan voor het openen de schaal gedesinfecteerd is met 1‰ sublimaatoplossing en methylalcohol. Na flink schudden coleert men door steriel gaas in een steriele kolf en laat het mengsel gedurende één uur staan om de aanwezige luchtbelletjes te laten opstijgen.

Het vullen en laten stollen der cultuurbuizen geschiedt op dezelfde wijze als bij den bodem volgens LOEWENSTEIN (blz. 5).

¹⁾ Zie: La methode LOEWENSTEIN appliquée au sang des bovidés.
Mededeelingen der Prof. Dr. D. A. de Jong-Stichting 1934, No. 1.
Acta Veterinaria Neerlandica Tome I fascicule III 1934.

Onze verwachtingen van dezen bodem zijn echter niet in vervulling gegaan, want het aantal verontreinigingen was grooter dan op den bodem volgens LOEWENSTEIN. Wel zagen wij in de 4 gevallen waarin groei optrad op den LOEWENSTEIN bodem ook in 3 gevallen groei op den hersenbodem volgens FICKER, maar deze trad laat op of althans later dan op den LOEWENSTEIN bodem plaats had.

Bij onze vergelijkingen stond de bodem volgens PETRAGNANI tusschen de beide hiervoor genoemde bodems in.

TABEL No. 9.

Vergelijking der groei-resultaten op verschillende voedingsbodems.

Sputum No.	Loewenstein	Petragnani	Ficker
Mbr 373 geval 34	2 groei 14 dagen 2 groei 18 dagen	2 groei 18 dagen 2 groei 21 dagen	2 groei 21 dagen 2 groei 25 dagen licht verontr.
Wbr. 405	2 groei 50 dagen 2 licht verontr.	2 groei 50 dagen 2 licht verontr.	2 licht verontr. 2 verontreinigd
Wbr. 413 geval 35	2 groei 21 dagen	2 groei 21 dagen	2 groei 24 dagen licht verontr.
Wbr. 418	2 verontreinigd 2 groei na 50 dg. 1 licht verontr.	2 verontreinigd 2 licht verontr. 2 verontreinigd	2 verontreinigd 1 groei 50 dagen 1 licht verontr. 2 verontreinigd
Wbr. 372	4 steriel	3 steriel 1 licht verontr.	2 steriel 2 licht verontr.
Wbr. 381	2 steriel 2 licht verontr.	4 licht verontr.	2 licht verontr. 2 verontreinigd
Wbr 284	3 steriel 1 licht verontr.	1 steriel 3 licht verontr.	4 verontreinigd
Wbr. 389	4 steriel	3 steriel 1 verontreinigd	2 licht verontr 2 verontreinigd
Wbr. 396	2 steriel 2 licht verontr.	3 licht verontr. 1 verontreinigd	4 verontreinigd
Wbr. 415	3 steriel 1 licht verontr.	2 steriel 2 licht verontr.	2 steriel 2 verontreinigd
Wbr. 3195	4 steriel	2 steriel 2 licht verontr.	1 steriel 2 licht verontr. 1 verontreinigd
Wbr. 3279	4 steriel	4 steriel	1 steriel 3 licht verontr.

Van elk monster zijn op elk der 3 gebruikte bodems 4 culturen aangelegd.

licht verontr. = lichte verontreiniging welke niet storend werkte.
verontreinigd = geheel onbruikbaar door verontreiniging.

Al deze sputa zijn tijdens de weidegang verkregen.

Bij beschouwing der resultaten valt direct op (voor zoover dan uit het geringe aantal vergelijkingen een conclusie getrokken mag worden), dat de voedingsbodems volgens LOEWENSTEIN en PETRAGNANI de voorkeur verdienen boven die volgens FICKER.

In de door ons opgezette reeks was het resultaat op LOEWENSTEIN bodems beter dan op Petragnani-bodems, maar bij gebruik van meer vergelijkingsmateriaal zullen de resultaten wel niet veel uiteenlopen. Omdat echter op ons laboratorium (Prof. VAN OYEN, Utrecht) de meeste ervaring was opgedaan met den bodem volgens LOEWENSTEIN, hebben wij gemeend deze voor ons verdere onderzoek te moeten gebruiken om eventuele onaangename verrassingen te voorkomen.

§ 3. *Onderzoek van andere secreta dan sputum.*

Het is duidelijk, dat toepassing der kweekmethode niet beperkt behoeft te worden tot het onderzoek van sputum. Theoretisch komen hiervoor ook in aanmerking het onderzoek van urine, uterus secretum, faeces en melk. Dat wij ons in hoofdzaak beperkt hebben tot het onderzoek van sputum berust op de volgende overwegingen.

Het *isoleeren van tuberkelbacillen uit faeces* is geen gemakkelijke opgave. Het aantal gevallen, waarin hiertoe bij het rund aanleiding bestaat is zeker zeer beperkt; als algemeen toegepast hulpmiddel komt deze werkwijze zeker niet in aanmerking. Wij hebben ons dan ook van het onderzoek van faeces onthouden.

Hetzelfde geldt voor het *onderzoek van urine*: mogelijk zal bij enkele bijzondere gevallen, waarbij klinisch het vermoeden van (open-) nier-tuberculose wordt uitgesproken, toepassing der cultuurmethode de beslissing kunnen brengen. Het is echter niet te verwachten, dat dit onderzoek bij de bestrijding der tuberculose onder het rundvee een belangrijke bijdrage zou kunnen leveren.

Voor uterus-secretum gelden dezelfde overwegingen.

Van veel beteekenis zal het *cultureel onderzoek van melk* kunnen zijn in die gevallen, waarin het vermoeden bestaat dat open uier t.b.c. aanwezig is. Op dit gebied is echter reeds een belangrijk onderzoek verricht door VAN WOERDEN ¹⁾ die reeds vaststelde:

„het aantoonen van tuberkelbacillen, in onder bijzondere voorzorgen „gewonnen melk en uiersecreta is cultureel zeer goed mogelijk” ²⁾

en die de waarde van deze proef op één lijn meent te mogen stellen met de dierproef.

Wij hebben dan ook gemeend ons van een *uitvoerig* onderzoek van melk te mogen onthouden. VAN WOERDEN bezigde de voedingsbodem

¹⁾ De primaire cultuur van den *Bacillus Tuberculosis*, typus *bovinus* en hare diagnostische waarde. Dr. J. VAN WOERDEN, Dissertatie 1931.

²⁾ VAN WOERDEN l. c. blz. 120.

volgens PETRAGNANI. Wij hebben met het cultuur-medium volgens LOEWENSTEIN de volgende proeven verricht.

Geval 46. Rund afd. Prof. BEYERS.

Rund was klinisch onderzocht en de diagnose luidde „algemeene tuberculose”. Het sediment van de melk werd herhaaldelijk onderzocht, maar er werden geen tuberkelbacillen gevonden. Na de gebruikelijke voorbehandeling werden in 3 buizen met het sediment van 50 cc. melk culturen aangelegd. Na 5½ week werd nogmaals gecultiveerd. In beide gevallen bleven de voedingsbodems steriel. Contrôle met caviaproef heeft plaats gehad en ook deze gaf een negatieven uitslag.

Deze proeven dienden tevens om de cultuur-methode te leeren daar dit de eerste door ons gedane proeven zijn.

Geval 47.

Dit betrof 2 runderen uit een veestapel waar de kalveren reeds het 1e jaar na de geboorte een positieve reactie op de intracutane tuberculine-toediening vertoonden. Rund Jph. 1161 en 1162.

Bij klinisch onderzoek waren bij deze dieren uierafwijkingen geconstateerd, n.l. gezwollen klieren en afwijkende melk. Cultuurproeven zijn ingesteld maar deze verliepen in beide gevallen negatief. Waarschijnlijk waren in dit bedrijf de runderen met uier-t.b.c. reeds opgeruimd, want nadien kwam geen reactie meer onder de kalveren voor.

Geval 48.

Hier betrof het een rund uit een koppel van 19 dieren met een reactie-percentage van 52.6%. Bij klinisch onderzoek was opgevallen dat dit rund No. 1659 in de uier knobbels had. De melk was macroscopisch niet afwijkend en ook in het sediment waren geen zuurvaste micro-organismen te vinden. De kweekmethode had hier na 8 weken bebroeden nog een negatief resultaat.

Geval 49. Rund H.M.L. 1558.

Bij klinisch onderzoek viel op dat de supramammaire lymphklieren sterk vergroot waren en ook een inwendige darmbeensklier. Het uier zelf voelde zacht aan, macroscopisch vertoonde de melk geen afwijkingen. Het dier was lijdende aan open long-tuberculose. Het sediment van de melk bevatte geen tuberkelbacillen; dit onderzoek is 4 maal herhaald. Er is geënt op 2 voedingsbodems, maar deze waren na 10 weken nog steriel. Ook is een cavia met melksediment ingespoten en ook deze gaf bij sectie na 8 weken geen tuberculose te zien. Bij sectie van het rund bleek evenwel dat naast andere tuberculeuze processen er ook tuberculose was van de supramammaire klieren.

Geval 50. Rund v. d. Brink.

Direct na het kalven had het dier een sterk gezwollen rechter voorkwartier aan het uier gekregen, terwijl er maar weinig melk uitkwam. Macroscopisch en microscopisch was aan de melk geen afwijking te zien. Het sediment van 50 cc. melk is na de gebruikelijke H₂SO₄-voorbehandeling uitgezaaid op 4 Loewenstein bodems. Na 6 weken bebroeden waren deze nog steriel.

Geval 51. Rund M.O. 1578 (zie geval 26 Hoofdstuk II, blz. 18).

Bij sectie van het rund was gevonden: t.b.c. van de rechter supramammaire lymphklier. Uit het afgesneden uier is toen 40 cc. melk verzameld. In het sediment daarvan waren bij microscopisch onderzoek geen tuberkelbacillen te zien. Het sediment is

verder gebruikt voor cultiveeren, maar na 6 weken was op de bodems nog geen spoor van groei te constateeren.

Geval 52. Rund Mtd. 3172 (zie geval 22, Hoofdstuk II).

Dit dier kwam uit een stal met veel reageerende dieren, n.l. 36.6%. Op grond van het klinisch onderzoek werd het als verdacht beschouwd voor open long-tuberculose. Tevens werd de melk onderzocht. Een cultuurproef met sediment van 40 cc. melk had een negatief verloop.

Geval 53. Runderen 4191 — 4192 — 4202.

Deze dieren stonden in een koppel vee waar 15 van de 37 dieren een positieve reactie op de intracutane tuberculinitie vertoonden. Van de 9 aanwezige kalveren hadden 3 een positieve reactie. Dit hooge aantal (33½% van het jongvee) was voor ons aanleiding om te vermoeden dat hier een of meer dieren met open uiertuberculose aanwezig moesten zijn. Daarom werd van alle op dat oogenblik in lactatie zijnde runderen de melk onderzocht. Dit waren 11 dieren. Bij gewone Ziehl-Neelsen-kleuring waren alle sediment-uitstrijkjes negatief. Na de gebruikelijke voorbehandeling met ½ N. H₂SO₄ werden van elk monster 2 Loewensteinbuizen en 2 Petraganibuizen geënt. Na 14 dagen bebroeden begon de regelmatige controle en het resultaat was, dat bij 3 van de 11 monsters groei van tuberkelbacillen werd waargenomen. De eerste groei werd gezien na 17 dagen bebroeden, terwijl na 42 dagen ook de laatste positieve cultuur goed zichtbaar werd.

Door tusschentijdsche verkoop geraakten de runderen helaas uit onze waarneming, zoodat wij geen controle hadden op onze diagnose door sectie van de desbetreffende dieren. Opmerkelijk is nog, dat bij al deze dieren klinisch geen afwijkingen aan de uiers waren geconstateerd.

Geval 54. Rund de B. 197.

Van dit rund luidde de anamnese: „ze is plotseling uit de melk geraakt en het uier wordt zoo bol”. Bij onderzoek viel dan ook direct op dat de uier — vooral in de voorkwartieren — gezwollen was. De melkgift was gering. In het sediment van kwartiermonsters waren geen zuurvaste micro-organismen aan te toonen, ook niet bij een enkele malen herhaald onderzoek. Er werd besloten om een cultuurproef in te zetten en tevens een cavia intramusculair met het melksediment in te spuiten. De caviaproef had een negatief verloop, maar op 3 van de 4 gebruikte voedingsbodems trad na 4—6 weken een typische groei op, die wij als groei van bovine tuberkelbacillen betitelden. Dit gebeurde geheel op het aspect der kolonies, maar wij voelden ons door de inmiddels opgedane ervaring daartoe wel gerechtigd. Eenigen tijd na het stellen der diagnose is het rund geslacht geworden en bij de vleeschkeuring kwam toen uit dat onze diagnose juist geweest was.

Geval 55.

Betreft 4 runderen uit een koppel vee waarin ondanks de bestrijding toch ieder jaar weer nieuwe gevallen van tuberculose optreden. Er zijn melkmonsters genomen en van de sedimenten hiervan zijn culturen aangelegd. Alle buizen bleven steriel.

Geval 56.

Hier hadden wij te doen met een koppel vee waarbij 80% der jaarlingen een positieve reactie op tuberculine vertoonden. Wij vermoedden hier de aanwezigheid van één of meerdere bacillen-uitscheiders met de melk. Van alle reageerende oudere dieren, dit waren er 6, werd de melk onderzocht. Macroscopisch werd geen afwijking gevonden en ook niet bij microscopisch onderzoek van de sedimenten. Van alle monsters zijn ook cultuurproeven ingezet, welke echter allen een negatief resultaat opleverden.

Geval 57.

Ook hier weer een stal vee waar bij onderzoek enkele der kalveren bleken te lijden aan tuberculose. Bij een voorgaand onderzoek een jaar te voren, waren uit deze stal opgeruimd 2 open lijders, n.l. 1 rund met open longtuberculose en 1 rund met open baarmoedertuberculose. Dit jaar waren bij het klinisch- en bacteriologisch onderzoek geen bacillenuitscheiders gevonden. Van deze koppel vee werd van 8 runderen de melk nog eens extra onderzocht en tevens zijn culturen aangelegd. De uitslagen van al deze onderzoeken waren negatief.

Geval 58.

Dit betreft een rund dat sterk verdacht werd van uiertuberculose. Bij onderzoek van uier en melk werd echter niets gevonden, hoewel het dier verscheidene dagen

TABEL No. 10.

Kweekproeven verricht met melksediment van runderen welke verdacht waren tuberkelbacillen in de melk uit te scheiden.

Geval	Cultuur	Tevens open long-t.b.c.	Sectie	Dierproef
No. 53 11 runderen	Bij 3 runderen pos.	Bij 1 rund	—	—
No. 54 1 rund	positief	—	Uier-t.b.c. + supr. mamma lgl.	—
No. 58 1 rund	positief	—	—	— later bij microse- onderzoek ook pos.
No. 49 1 rund	negatief	positief	t.b.c. van sumamma lgl.	negatief
No. 43 1 rund	negatief	positief	t.b.c. van linker supra- mamma lgl.	— zie geval No. 26, Hoofdstuk II.
No. 52 1 rund	negatief	positief	negatief	— zie geval No. 22, Hoofdstuk II.
No. 55 4 runderen	negatief	bij 2 runderen pos.	negatief	— zie gevallen 7 en 10, Hoofdstuk II.
No. 46 1 rund	negatief	—	—	negatief
No. 47 2 runderen	negatief	—	—	—
No. 48 1 rund	negatief	—	—	—
No. 50 1 rund	negatief	—	—	—
No. 56 6 runderen	negatief	—	—	—
No. 57 8 runderen	negatief	—	—	—
No. 59 7 runderen	negatief	—	—	—

in observatie werd gehouden. Op den 3den dag van observatie werd een kweekproef met het melksediment ingezet. Deze gaf na 3½ week een duidelijk positief beeld. Intusschen was het dier nog weer eens terdege onderzocht en nu werden wel bacillen in het melksediment aangetroffen. Hiermede achtten wij onze diagnose bevestigd.

Geval 59.

Hier was de reden van onderzoek weer het optreden van een positieve tuberculine-reactie bij de jonge kalveren. Deze hadden wel melk gehad van reageerende moeders, maar waren toch al heel spoedig afgezonderd gehouden van de oudere dieren. Ook hier werd weer gedacht aan alimentaire infectie. Het cultureel onderzoek heeft echter ook bij de reageerende 7 dieren uit deze koppel geen enkel positief resultaat opgeleverd.

Samenvattend kan men zeggen, dat van 46 koeien — in bijzondere gevallen, waarbij daartoe aanleiding was — de melk werd onderzocht, met bij 5 monsters een positief resultaat. In al deze gevallen konden door microscopisch onderzoek van het sediment geen tuberkelbacillen worden aangetoond, behalve bij 1 dier waarbij door een enkele weken later ingesteld microscopisch onderzoek in het volgens ZIEHL-NEELSEN gekleurde sediment-uitstrijkje wel bacillen aangetoond konden worden.

De doeltreffendheid der cultureele methode is dus ook in dit onderzoek andermaal gebleken. Vergelijkende onderzoekingen met de caviaproef werden — mede op grond van de onderzoekingen van VAN WOERDEN — niet ingezet behoudens in 2 gevallen.

§ 4. *Klinisch onderzoek.*

1. De gang van het onderzoek.

De grondslag voor een goede diagnose vormt een grondig en nauwkeurig onderzoek. De routine hiervoor verkrijgt men slechts door zich te gewennen aan een steeds alle organen omvattend en steeds in dezelfde volgorde verlopend onderzoek, omdat men er slechts dan van op aan kan dat er geen verschijnsel over het hoofd wordt gezien of geen orgaan aan het onderzoek ontsnapt.

Voor het onderzoek op tuberculose laat zich de als volgt te beschrijven gang van zaken heel goed gebruiken.

Algemeene indruk.

Wij beginnen met te letten op den algemeenen indruk van het dier, als voedingstoestand, gezichtsuitdrukking, haarkleed. Ernstig zieke dieren zijn mager met een dof, dor haarkleed en hebben een matte, treurige oogopslag. Hierop komen echter vele uitzonderingen voor. BEYERS ¹⁾ wijst hier ook op evenals RAUTMANN ²⁾. Deze dieren zijn juist de gevaarlijkste want deze smetstofverspreiders kunnen, omdat zij bij klinisch onderzoek niet verdacht blijken, aan onze aandacht ontsnappen en zodoende niet of te laat onderkend worden.

Ademhaling.

Wij letten bij het onderzoek verder op de *ademhaling*. Bij ernstige longaandoening kan deze versneld doch ook normaal of zelfs vertraagd zijn; dit laatste vooral bij pijnlijke processen. Intusschen mogen wij niet vergeten, dat de normale ademhalingsfrequentie binnen zeer ruime grenzen ligt, omdat ze mede afhankelijk is van omstandigheden, die geen verband houden met de respiratieorganen (warme stal of omgeving, voeding, drachtigheid enz.).

Voor het volwassen rund liggen deze tusschen 10 en 30 per minuut.

Hoest.

Ondertusschen hebben wij er aandacht aan geschonken of het dier spontaan hoest en zoo ja, dan nemen wij kennis van den aard en kracht der hoest. R. VON OSTERTAG ³⁾ kent groote waarde toe aan de hoest in tegenstelling met BEYERS, die zegt, dat wij bij ons onderzoek vaak erdoor op een dwaalspoor kunnen geraken b.v. bij een catarrh der luchtwegen. Dieren met een catarrh van trachea of bronchiën kunnen b.v. veelvuldig hoesten, zonder dat er tuberculose in het spel is, terwijl omgekeerd koeien met een niet uitgebreide longtuberculose (toch smetstof verspreiden) zeer weinig behoeven te hoesten. Meer waarde wordt door BEYERS gehecht aan den aard van den hoest: een onderdrukte, pijnlijke hoest kan vaak alleen door een tracheïtis worden veroorzaakt. Eenige zekerheid omtrent het al of niet bestaan van longtuberculose kan door het symptoom „hoesten” niet worden verkregen. WINKEL ⁶⁾ daarentegen houdt hoesten voor een kenmerkend teeken van open longtuberculose. Uit de tabel No. 12, blz. 67 is te zien, dat in lang niet alle positieve gevallen, welke door ons opgespoord zijn, het symptoom „spontaan hoesten” waargenomen is.

Lymphklieren.

Allereerst moet een onderzoek ingesteld worden naar de uitwendig voelbare lymphklieren. Dit geschiedt door betasten, waarbij wij dan een indruk krijgen omtrent grootte, vorm en consistentie. Voor ons onderzoek zijn van belang de lgl. retropharyngeales, lgl. submandibulares, lgl. praescapulares, lgl. inguinales superficiales en de lgl. supramammaries. Zijn één of meer van deze lymphklieren gezwollen en van een eenigszins verharde consistentie dan kan dit wijzen op een chronische ontsteking, zooals dit bij een tuberculeuze aandoening het geval is. Vinden wij de lgl. retropharyngeales sterk vergroot en verhard, dan kan dit het gevolg zijn, zij het dan ook secundair, van open longtuberculose. Deze klieren denkt men dan geïnfecteerd door het opgehoeste en doorgeslikte, bacillen bevattende sputum.

Uier-lymphklier en uier t.b.c.

Zijn bij palpatie de lgl. supramammaries vergroot en voelen zij hard en knobbelig aan en zijn in het uier zelf ook verharde knobbels te voelen,

dan is een bacterioscopisch onderzoek van het melksediment zeker gerechtvaardigd. Voor een dergelijk onderzoek is vooral aanleiding, wanneer er bij de kalveren en pinken, welke voor de eerste maal in het kader der tuberculosebestrijding worden onderzocht een positieve reactie optreedt na de tuberculinatie. In deze gevallen moet dan namelijk rekening gehouden worden met de mogelijkheid van alimentaire infectie door de melk van een aan uiertuberculose lijdend moederdier. Intusschen kan er langen tijd aan de melk van aan uiertuberculose lijdende runderen geen enkele afwijking te zien zijn, die erop wijst, dat die melk tuberkelbacillen bevat. Zoo mogen wij wel aannemen, dat wanneer een geval van open uiertuberculose wordt ontdekt, door de desbetreffende koe reeds heel veel kwaad is gesticht.

Een voorbeeld uit eigen ervaring moge dit illustreeren:

In 1934 waren op een stal aanwezig 22 volwassen runderen, waarvan er 11 reageerden op de tuberculineproef. De 4 in dit jaar aanwezige pinken reageerden ook op de tuberculinatie. Bij informatie bleek, dat de eigenaar geen uier- of melkafwijkingen had waargenomen. Bij klinisch onderzoek werd één rund verdacht gevonden voor uiertuberculose. De supramammaire lymphklieren voelden hard en knobbelig aan en ook in de uier zelf waren knobbels te voelen. Dit dier had in Juli gekalfd en gaf in November d.a.v. nog 15 l melk per dag, die er op het oog geheel normaal uitzag. Bij onderzoek van het sediment van deze melk werden in 3 kwartieren tuberkelbacillen gevonden. Hier hadden wij de schuldige wel te pakken, maar hoelang zij met haar tuberkelbacillen houdende melk ziekte en verderf uitgestrooid had, was niet meer uit te maken.

Gelukkig wijzen de statistieken uit, dat uiertuberculose niet zoo heel frequent is, de cijfers loopen van 4 tot 6% van alle gevallen van „open” tuberculose, d.w.z. $\pm \frac{1}{2}\%$ van alle gevallen van vastgestelde tuberculose. Groot is het aantal smetstof uitscheiders dus niet, maar zeker nog groot genoeg om wegens de ernstige gevolgen waard te zijn om op ernstige en doeltreffende wijze bestreden te worden.

Echter moet men volgens RAUTMANN ⁴⁾ en PRÖSCHOLDT ⁵⁾ de alimentaire infectie ook weer niet al te hoog aanslaan, daar bij jonge dieren de inhalatie-infectie zeker niet uit te sluiten is, vooral niet als ze met de oudere dieren in dezelfde stal staan en er onder deze enkele bacillenuitscheiders zijn. Volgens deze laatstgenoemde onderzoekers speelt de „stofinfectie” in deze gevallen een zeer groote rol, althans een veel grootere rol dan de infectie door allerkleinste bacillenhoudende druppeltjes.

Auscultatie.

Hierna volgt de auscultatie; deze kan geschieden met het bloote oor of met behulp van de phonendoscoop volgens BAZZI-BIANCHI. De eerste methode heeft het voordeel, dat wij de event. geruischen duidelijker waarnemen en minder last hebben van storende bijgeluiden; nadeelen zijn de soms ongemakkelijke houdingen, die wij moeten innemen en de kans, die wij loopen om met parasieten besmet te worden, hetgeen

door gebruikmaking van een handdoek te ondervangen is. Wij gebruikten dan ook bij voorkeur de phonendoscoop. Hiermede zijn de diverse geruischen zeer goed te onderscheiden; aanbevolen zij, steeds dezelfde phonendoscoop te gebruiken.

Wij luisteren het geheele longveld af, d.w.z. minstens op 10 à 12 plaatsen, zoowel links als rechts. Het normale ademhalingsgeruisch bij het rund is een duidelijk waarneembaar vesiculair geruisch. Bij de inspiratie is dit geluid sterker dan bij de expiratie. Bij krachtige en frequente ademhaling is het geluid duidelijker te hooren, ook bij aanwezigheid van een dunne spierlaag of haarkleed. Dit geluid kan verzwakt of versterkt zijn met als uiterste grenzen *respiratio nulla* en overgang in broncheaal-ademgeruisch. Bij dit laatste hoort men iets als „ch”, een keelgeluid. Dit geluid ontstaat door resonantie van een stenose- of stroomingsgeruisch in de luchtwegen of in luchthoudende holten. Het duidelijkst wordt dit geluid opgewekt in bronchiën, welke in een verdicht longgedeelte liggen, zooals het bij longtuberculose heel vaak voorkomt.

Voorts kunnen wij onderscheid maken in droge en vochtige reutelgeruischen, welke ontstaan doordat secretum-ophoopingten door de luchtstroom worden verplaatst of in trilling gebracht; bij droge geruischen zijn in het meerendeel der gevallen taaie exsudaat-massa's in het spel. Deze zijn in het bijzonder hoorbaar bij chronische bronchitiden en dus zijn ze ook bij tuberculose waar te nemen. Volgens WINKEL ⁶⁾ en OVERBEEK ⁷⁾ zijn de droge geruischen van zeer groot belang voor de diagnose. Vooral de Duitsche onderzoekers VON OSTERTAG, FRIEDBERGER en FRÖHNER ⁸⁾, RAUTMANN en PRÖSCHOLDT ⁹⁾ hechten veel waarde aan de longauscultatie, terwijl BEYERS ¹⁾ hieraan lang niet zoo'n groote beteekenis toekent, omdat het lang geen zeldzaamheid is, dat men bij het hooren van duidelijk afwijkende longgeruischen toch niet te doen heeft met longtuberculose, terwijl het aan den anderen kant ook voorkomt, dat hoewel er geen afwijkende geruischen zijn waar te nemen er toch longtuberculose aanwezig is, wat dan bewezen wordt door het vinden van tuberkelbacillen in het sputum, zooals dit ook bij ons onderzoek is voorgekomen (zie hiervoor tabel No. 12 op blz. 67).

2. Het verzamelen van sputum.

Echter zekerheid, dat de aldus als aan tuberculose lijdende aangewezen dieren smetstofverspreiders zijn of niet, kan door het klinisch onderzoek niet worden gegeven.

Daartoe werden zoowel het bacterioscopisch onderzoek van het sputum als de „dierproef” met dit materiaal veelvuldig toegepast.

Volgens sommige onderzoekers is het 't beste om voor het verkrijgen van sputum gebruik te maken van de spontaan optredende hoest. Er is echter geen tijd om bij het klinisch onderzoek te wachten of er soms enkele dieren zijn, die eens spontaan gaan hoesten en daarom is het

noodig de dieren kunstmatig tot hoesten te brengen. Om dit te bereiken kan men het dier geforceerde bewegingen laten maken (draven), of het flink in de trachea knijpen, of de neus dicht houden, zoodat er na loslaten enkele diepe inspiraties volgen, waardoor er een prikkeling van het slijmvlies ontstaat. Bij ons onderzoek hebben wij een tamelijk hoog percentage hoestende dieren kunnen opmerken. Een enkele maal was een dier niet tot hoesten te brengen en dan gelukte het soms om toch een geringe hoeveelheid sputum, welke nog aan den wand van den oesophagus was blijven kleven naar buiten te brengen. In enkele van deze gevallen waren toch tuberkelbacillen aan te toonen.

Voor het eigenlijke verzamelen van sputum nadat het dier heeft gehoest zijn verscheidene methoden aangewezen.

Een voortreffelijke methode werd reeds door POELS beschreven. Hierbij wordt na tracheotomie een „tracheaal-penseel” in de trachea gebracht en zoodoende wordt dan niet verontreinigd sputum uit de luchtwegen verkregen.

Op het eerste gezicht lijkt het bezwaarlijk, deze operatieve methode bij een bestrijding in het groot voor te schrijven. Men bedenke echter, dat de dieren, waarop deze bewerking wordt toegepast, alle op een tuberculine injectie hebben gereageerd. Voor den veehandel b.v. voor export komen zij niet meer in aanmerking. Het te maken wondje is zeer klein en geneest volkomen. Deze methode is indertijd nogal uitgebreid toegepast bij t.b.c.-bestrijding in de melkwinningengebieden rondom Amsterdam, toen deze bestrijding uitging van het Melkcontrôlestation „AMSTERDAM”. Van zeer vele dieren is toen op deze wijze sputum verzameld. Later is deze methode verlaten bij het overnemen der bestrijding door de provinciale vereeniging.

Toepassing van deze methode zou dan ook een vervolmaking van de door ons ontworpen werkwijze kunnen zijn indien het door doeltreffende propaganda zou gelukken de weerstand, die daartegen te verwachten is, te overwinnen. De omstandigheden lieten niet toe, dat wij van deze uit een bacteriologisch oogpunt ideale methode regelmatig konden gebruik maken.

Wij waren dus aangewezen op een der methoden waarbij het door hoesten uit de luchtwegen uitgedreven sputum wordt verzameld. Hiervoor zijn in den loop der jaren een groot aantal methoden bekend gemaakt. Als voorbeelden noemen wij: het laten hoesten tegen een donker geverfd bord of iets dergelijks, het laten hoesten in een soort korfje, waarin losse plankjes die de sputumdeeltjes moeten opvangen.

Bij andere methoden wordt getracht het in den mond resp. keelholte achtergebleven sputum te verzamelen; b.v. vastgrijpen van de tong en daarmee open houden van den mond, waardoor het speeksel afvloeit. Met dit speeksel verwacht men dan, dat sputumdeelen naar buiten komen. Weer andere schrijvers bevelen aan, de mond en keelholte met een donker gekleurde lap uit te vegen waarop men de sputumdeeltjes goed

zou kunnen waarnemen, of wel zoo als VON OSTERTAG daarbij een „keellepel” te gebruiken.

Tenslotte is men ertoe overgegaan te trachten het sputum, dat eerst is opgehoest en in de mondholte is terecht gekomen maar daarna wordt ingeslikt te verzamelen. Dit geschiedt o.a. met de sputumvanger van GRAE-TALLGRENN. Van alle genoemde methoden is dit instrument in den loop der jaren het eenige, dat practisch bruikbaar bleek te zijn.

Voor het verzamelen van de sputummonsters is door ons dan ook gebruik gemaakt van dezen sputumvanger. Zooals die gewijzigd is door WESTER¹³⁾. Dit instrument bestaat uit een metalen bekertje van $\pm 2\frac{1}{2}$ cm middellijn eenigszins conisch toeloopend, dat bevestigd is aan een gebogen stalen pen. Deze buiging dient om den loop van mond- en keelholte en het voorste gedeelte van de oesophagus zoo goed mogelijk te benaderen. Het bekertje is van een vrij scherpen rand voorzien om aan den wand van de oesophagus klevende sputumdeeltjes ook mee naar buiten te brengen. Aan het bovineinde van de stalen pen bevindt zich een kettinkje, waardoor de hand van den operateur gestoken kan worden, om te voorkomen, dat het apparaatje wordt ingeslikt. De bevestiging van het bekertje aan de pen kan op tweeërlei manieren uitgevoerd zijn, nl. a. de verbinding is vast; b. de verbinding is door schroefdraad of conisch toeloopende tap tot stand gebracht; deze laatste bevestigingswijze zou met het oog op een goede reiniging de voorkeur verdienen. Veel verschil is er echter niet, als men de apparaten na elk gebruik maar flink uitkookt.

Terloops mag hier nog even gewezen worden op een zij het dan meer theoretisch dan practisch bezwaar verbonden aan het gebruik van den sputumvanger. Om zeker te zijn, dat bij het gebruik tijdens een massa-onderzoek geen fouten gemaakt kunnen worden door in de beker achtergebleven sputumdeeltjes, welke tuberkelbacillenhoudend zijn, zou de sputumvanger voor elk gebruik gesteriliseerd moeten worden, of voor elk rund zou een andere, steriele sputumvanger gebruikt moeten worden. In de praktijk komt hiervan niets en is de gang van zaken zoo, dat na elke onderzochte koe de sputumvanger onder de waterleidingkraan of in een emmer schoon water flink wordt uitgespoeld. Als nu dat water voldoende ververscht wordt, wordt het doel ook bereikt. Wij hebben tenminste op deze wijze werkende geen storende invloeden kunnen waarnemen.

Om aan het gevaar van onvoldoende reiniging te ontkomen kan men ook na elk gebruik de sputumvanger flambeeren boven een prop watten, welke gedrenkt is in brandspiritus.

Men gebruikt den sputumvanger als volgt.

Het te onderzoeken dier wordt door knijpen in de trachea of anderszins tot hoesten gebracht. Direct daarna wordt het stevig aan de horens vastgehouden. De mond wordt op de gebruikelijke manier door een helper geopend, waarbij de tong wordt vastgehouden. De operateur brengt nu met de hand het bekertje over den tongrug in de keelholte.

Nu laat de helper de tong los, waarna het bekertje wordt „ingeslikt”. Door de bevestiging aan de stang wordt het echter vastgehouden, terwijl het zich in de oesophagus bevindt. Men laat het dier nu rustig staan, waarbij men de stang buiten den mond blijft vasthouden aan het kettinkje.

Gedurende den tijd dat het bekertje zich in de oesophagus bevindt slikt het dier verscheidene malen. In het bekertje worden nu met het speeksel, ook event. in mond- of keelholte aanwezige sputumdeelen, verzameld. Men tracht de oogst aan sputum te vergrooten door het instrument aan het kettinkje op en neer te bewegen, waardoor eventueel aan den slokdarmwand hangende sputumpartikels worden opgevangen. De scherpe rand van het bekertje dient om deze als het ware af te krabben.

Het bekertje wordt nu voorzichtig naar buiten gebracht en met den inhoud wordt gehandeld als in Hoofdstuk I werd beschreven.

Het is duidelijk dat in dezen inhoud speeksel- en sputumdeelen voorkomen, maar dat zich daarin ook kleine voedseldeelen en andere verontreinigingen kunnen bevinden. Het is daarom, dat bij het cultiveeren al die voorzorgen tegen het zich ontwikkelen van andere microben, dan tuberkelbacillen moeten worden genomen, die wij in vorige hoofdstukken beschreven.

Verschillende dierenartsen hier te lande vangen alleen sputum op van die dieren, waarbij zij longafwijkingen hebben gevonden door de auscultatie. In de Interne Kliniek (buitenpraktijk) daarentegen tracht men van alle reageerende runderen sputum te verzamelen, wat in een groot percentage der gevallen ook wel gelukt. Zooals BEYERS reeds in 1924 betoogde, is de pijler, waarop het geheele onderzoek bij de t.b.c.-bestrijding rust, het onderzoek van sputum en andere secreta.

Het gaat hierbij in de eerste plaats om die dieren op te sporen, welke tuberkelbacillen naar buiten brengen, dus smetstof-verspreiders zijn. Van minder belang is de uitgebreidheid van het tuberculeuze proces.

Verschillende onderzoekers maken gewag van het feit, dat er in het sputum wel tuberkelbacillen aangetoond worden, terwijl er bij de sectie van het desbetreffende rund geen tuberculeuze longprocessen worden aangetroffen.

RAUTMANN ¹⁰⁾ deed een bacteriologisch sputumonderzoek bij dieren die *klinisch niet verdacht* waren te lijden aan longtuberculose en vond onder 51 zulke dieren 17 open lijders. RAUTMANN wil voor een deel van deze dieren aannemen, dat de bacillen geen vat op het longweefsel hebben, doordat dit een zekere immuniteit zou bezitten. Hij geeft daarvan als vergelijkbaar voorbeeld, dat bij vele secties van ernstige gevallen van open longtuberculose geen darmtuberculose te zien was, hoewel toch een groote hoeveelheid, met sputum ingeslikte bacillen het darmkanaal gepasseerd is.

Dergelijke gevallen vinden wij ook beschreven door PRÖSCHOLDT ¹¹⁾ terwijl deze schrijver verschillende gevallen aanhaalt van MÜLLER, SCHARP en OPALKA, FITZE en LINDNER, KARSTEN en MÖLLER.

PRÖSCHOLDT zegt, dat dit berust op een zekere immuniteit der slijmvliezen, waardoor deze organen niet aangetast kunnen worden of het zou berusten op een heel jonge besmetting, zoodat zich nog geen tuberculeuze processen hebben kunnen vormen.

SICKMÜLLER¹²⁾ komt na zijn onderzoekingen over het voorkomen van z.g. „apathogene tuberkelbacillen” bij runderen tot de conclusie, dat in elk geval waarbij t.b.c.-bacillen in het sputum zijn aangetroffen bij de sectie wel een open vorm van long-t.b.c. te vinden is, zij het dan dat er lang naar gezocht moet worden.

Bij ons eigen onderzoek hebben wij één dergelijk geval gevonden. Bij het bacterioscopisch onderzoek waren in het sputum geen tuberkelbacillen aangetoond, terwijl toch de dierproef en de cultuurproef met dit sputum beide een positief resultaat geven. Bij sectie van het desbetreffende dier werd geen enkel tuberculeus proces aangetroffen. Er kan hier geen sprake zijn van apathogene bacillen wat bewezen wordt door de positieve caviaproef en bovendien door de cultuurproef want een cavia intramusculair ingespoten met de gecultiveerde bacillen is eveneens gestorven aan algemeene tuberculose. Wij moeten in zulke gevallen inderdaad aannemen, dat op het slijmvlies van de luchtwegen of van den mond en of keelholte t.b.c.-bacillen aanwezig zijn zonder dat het reeds tot een tuberculeuze aandoening is gekomen. Een vergissing durven wij hier uit te sluiten, daar zoowel het afnemen van het sputum als het verwerken daarvan door ons persoonlijk is uitgevoerd.

Om aan de bezwaren, die verbonden zijn aan het microscopisch onderzoek van sputum, zoowel als aan het uitvoeren van de „dierproef” tegemoet te komen hebben wij de toepassing van een cultureel bacteriologisch onderzoek van sputum in studie genomen. Het is ons gebleken, dat deze werkwijze reeds door verscheidene auteurs met wisselende, doch over het algemeen bevredigende resultaten werd toegepast. Wij zullen in het volgende hoofdstuk daarom eerst een overzicht geven van hetgeen over deze werkwijze in de literatuur werd vermeld.

Literatuur.

1. J. A. Beyers, Tijdschrift v. Diergeneeskunde, 1924.
2. H. Rautmann, Deutsche Tierärztl. Wochenschr., 1935.
3. R. von Ostertag, Monografie, 1905.
4. H. Rautmann, Deutsche Tierärztl. Wochenschr., 1935.
5. O. Pröscholdt, Berl. Tierärztl. Wochenschr., 1936.
6. A. J. Winkel, Inaug.-Diss. Bern, 1910.
7. A. A. Overbeek, Tijdschr. v. Diergeneeskunde, 1909.
8. R. von Ostertag, Die Bekämpfung der Tub. des Rindes, 1913.
9. O. Pröscholdt, Deutsche Tierärztl. Wochenschr., 1934.
10. H. Rautmann, Zeitschr. für Inf. krh. f. Haust., 1933.
11. O. Pröscholdt, Deutsche Tierärztl. Wochenschr., 1935.
12. E. Sickmüller, Berl. Tierärztl. Wochenschr., 1935.
13. J. Wester, Orgaanziekten bij de groote huisdieren, 1935.

HOOFDSTUK V.

Literatuur-overzicht van het gebruik der cultuur-methode bij de bestrijding der rundertuberculose.

Reeds in 1882 is door R. KOCH in zijn publicatie over de ontdekking van den tuberkelbacil een methode aangegeven om deze bacil ook op een kunstmatigen voedingsbodem te kweken. KOCH gaf aan hiervoor te gebruiken gestold runderserum. Hoewel KOCH werkte met van menschen verkregen materiaal, was bij zijn methode van cultiveeren verontreiniging der voedingsbodems door saprophyten eerder regel dan uitzondering. Bij het kweken met materiaal afkomstig van dieren was dit optreden van verontreiniging een nog grootter handicap.

Het gebruiken van andere voedingsbodems, die gemaakt worden met toevoeging van kippenei, zooals de bodem volgens DORSET (1903) en van LÜBENAU (1907) vermocht niet hierin een aanzienlijke verbetering te brengen. Het gebruik van antiformine als voorbehandelingsmiddel, aangegeven door UHLENHUTH in 1909, gaf wel iets, maar was toch nog niet geheel afdoende.

Pas na de publicatie van LOEWENSTEIN²⁴⁾ en SUMYOSHI²⁵⁾ in 1924, waarin deze onderzoekers aanbevelen het verontreinigde materiaal te behandelen met mineraal zuur of loog, is het cultiveeren van tuberkelbacillen tot een algemeen bruikbaar laboratorium-onderzoek geworden. Het meerendeel der onderzoekingen op dit gebied is gedaan met van menschen afkomstig materiaal. Uit den aard der zaak had echter elk onderzoek gedaan met materiaal afkomstig van dieren onze speciale aandacht.

De grootste stoot in de goede richting heeft J. HOHN²⁶⁾ gegeven in 1926. Deze onderzoeker raadde aan te gebruiken 2 cc. sputum en als de meest doelmatige sterkte van het te gebruiken H_2SO_4 6—12 vol. %, al naar gelang de te verwachten hoeveelheid verontreinigers. Als tijd van inwerking van het H_2SO_4 schrijft hij voor 20 minuten. Bij het controleren van deze gegevens vonden UYEDA, NISHIKAWA en OKUBO²⁷⁾ 1932, dat het gewenscht was den inwerkingstijd te verlengen tot 30 minuten. HOHN beveelt aan om het zure sediment niet meer uit te wasschen, om verontreiniging tegen te gaan. Op deze manier werkende, zegt HOHN is het kweken van tuberkelbacillen uit oorspronkelijk materiaal niet moeilijker dan dat van andere bacillen.

Het eerste met de loupe zichtbaar worden van de kolonies stelt HOHN op ongeveer 10 dagen (dit geldt dan voor den typus humanus). Bij onderzoek van 101 microsc. negatieve sputa zag HOHN²⁸⁾ 1933 18 × een pos. cultuur. Toch mag het gewone microsc. onderzoek niet achterwege blijven, omdat men wel eens afgestorven bacillen vindt, die bij de cultuurmethode niet meer aanslaan maar onder den microscoop wel zichtbaar zijn. Langen tijd verkreeg men echter met den typus bovinus niet zulke goede resultaten. Dit vond zijn oorzaak hierin, dat men een voedings-

bodem, welke bij het bezaaien met bacillen van den typus humanus goede resultaten gaf, zonder meer ook voor den typus bovinus ging gebruiken. Anders werd het, toen men tot de ontdekking kwam, dat de glycerine, welke voor den groei van het humane type onmisbaar is, voor de rundertuberculosebacil juist groei-belemmerend werkt.

J. WITTE ²⁹⁾ 1935, zegt dienaangaande, dat er wel enkele bovine stammen zijn die glycerinophil zijn, maar dat men over het algemeen toch zonder glycerine veel betere resultaten krijgt. Wat betreft het geheel afsluiten der cultuurbuizen met een gummi stop deelt WITTE mede, dat dit van geen invloed is op den groei van tuberkelbacillen. De eventueel zich wijzigende O₂-spanning werkt niet nadeelig, integendeel, de groei zou zelfs beter zijn, althans niet slechter dan in de buizen met doorboorde stop met capillair.

Vergelijkende onderzoekingen met microscopisch-negatieve sputa tusschen cultuurmethode en dierproef zijn door W. gedaan in 105 gevallen. Er was 68 maal een gelijklopende uitkomst, 13 maal was de dierproef beter en 8 maal de cultuur: 12 maal stierf een cavia ontijdig en 4 maal was de cultuur geheel onbruikbaar door verontreiniging. Hieruit trekt WITTE de conclusie, dat hoewel de dierproef iets betere resultaten geeft, de cultuurmethode betrouwbaarder is door minder uitvallers. Dit, naast de andere voordeelen als vlugger resultaat en goedkoper uitvoering, maakt de cultuurproef gelijkwaardig aan de dierproef.

Bij een onderzoek gedaan aan het County General Hospital te Los Angeles ³⁰⁾ 1939, werden 2439 monsters cultureel en met de dierproef vergelijkend onderzocht. Er werden in totaal 345 monsters positief bevonden. De resultaten waren: dierproef pos. in 87%, cultuurproef pos. in 70%, beide pos. in 57%, dierproef pos. cultuur neg. in 30% en cultuur pos. en dierproef neg. in 13%. Wij zien hier dus ook weer een overwegend aantal pos. uitkomsten bij de dierproef, hoewel de 13% positieve culturen bij neg. dierproef niet te verwaarloozen zijn.

GFELLER ³¹⁾ 1934, vond iets dergelijks. Bij vergelijking van 140 microsc. negatieve monsters zag hij in 26 gevallen met beide methoden een positieve uitkomst en bij 4 was alleen de dierproef pos. en bij 1 alleen de cultuurproef.

VOEGELI ³²⁾ 1934, komt ook tot de uitspraak, dat de eene methode de andere niet geheel kan vervangen. Bij vergelijking van 125 microsc. negatieve monsters in 22 gevallen beide positief, 7 maal alleen de dierproef en 4 maal alleen de cultuur.

Tot de uitspraak, dat de cultuurproef de dierproef niet geheel overbodig maakt, komt FR. SCHMIDT ³³⁾ 1927, die werkte met 40 microsc. negatieve sputa. Elk monster werd in 3 deelen gedeeld, $\frac{1}{3}$ op eivoedingsbodem, $\frac{1}{3}$ op aardappel en $\frac{1}{3}$ subcutaan in de knieholte bij een cavia. De caviaproef was 11 maal positief en de cultuur maar in 6 gevallen.

PESCH en SIMCHOWITZ ³³⁾ 1925 onderzochten 62 sputa. Hiervan waren er 43 positief bij microscopisch onderzoek, terwijl van de 19

negatieve er toch 3 een positieve cultuur gaven. Zij deden geen contrôles met de dierproef.

Deze proeven waren allen met uitzondering van die van WITTE gedaan met van menschen afkomstig sputum.

C. SONNENSCHNEIDER ³⁵⁾ 1927, laat zich wel enthousiast uit over de cultuurmethode. Hij bewerkte 1085 monsters en vond hieronder in 83 gevallen bij microscopisch onderzoek tuberkelbacillen en met de cultuurmethode nog 100 positieve gevallen extra.

SCHRADER ³⁶⁾ 1927, laat zich er niet over uit of cultuur beter is dan dierproef. Vooral sterk verontreinigd materiaal, als rundersputum, is voor hem lastig te bewerken. Schr. heeft 127 proeven genomen en zag hierbij dat de cultuurmethode 17 gevallen meer positief aangaf dan het gewone microscopisch praeparaat.

KURT MEYER ³⁷⁾ 1927, toont aan, dat in vele gevallen het microscopisch onderzoek faalt ten opzichte van de cultuurproef. Deze onderzoeker verkiest als voorbehandelingsmiddel 15% antiformine en wijst er sterk op om, te beginnen bij de 4e à 5e dag van bebroeden, uitstrijkjes van den voedingsbodem te maken en dit eventueel om de 2 dagen te herhalen. Het gevaar voor verwarring met saprophyten is volgens M. heel gering, omdat deze in dien korten tijd reeds een weligen groei vertoonen.

W. ENGEL ³⁸⁾ 1927, heeft de methode-HOHN toegepast bij 25 gevallen en kreeg een zeer bevredigend resultaat, evenals bij kunstmatig besmette melk. Hij wil in alle verdachte gevallen, waar microscopisch geen bacillen zijn aan te toonen, de cultuurproef instellen.

THEOBALD SÜTTERLIN ³⁹⁾ 1927, onderzocht 157 monsters. In 39 gevallen was de cultuurproef positief, terwijl van deze 39 er 16 microscopisch negatief waren. Hiertegenover vond S. echter 11 pos. cavia-proeven, die cultureel negatief waren. Later, bij beter beheerschen der techniek, kreeg S. bij elke positieve cavia ook een positieve cultuurproef. Voor klinisch verdachte dieren acht S. het cultureel onderzoek zeker op zijn plaats.

BERTRAND ⁴⁰⁾ 1928, komt tot de conclusie, dat de cultuurmethode een goede praktische methode is voor het laboratorium. Hij cultiveerde op den bodem volgens PETRAGNANI 29 stammen en wel 14 bovine, 4 canine, 6 aviaire en 5 afkomstig van katten.

MATTHIES ⁴¹⁾ 1928, komt tot de uitspraak, dat de cultuurproef vlugger en goedkooper is dan de dierproef, maar over de mate van zekerheid laat hij zich niet uit. Hij onderzocht 59 sputa, waarvan er bij microscopisch onderzoek 48 pos. bleken en 11 neg. De positieve gaven alle een positieve cultuur en van de 11 neg. was er cultureel 1 positief.

KORTHOFF ⁴²⁾ 1928, vond in het Centraal Laboratorium voor de Volksgezondheid bij 87 sputa, welke volgens ZIEHL-NEELEN negatief waren, met de kweekmethode toch 17 positieve gevallen. Dit was van menschen afkomstig materiaal.

CLARENBURG ⁴³⁾ 1929, verkiest den bodem volgens PETRAGNANI boven dien volgens BESREDKA en LÜBENAU. Volgens dezen onderzoeker komt de macroscopisch waarneembare groei al na gemiddeld 16 dagen bebroeden tot uiting; in uitstrijk-praeparaten al na gemiddeld 7 dagen. Van 32 microscopisch-negatieve sputa werden culturen aangelegd, terwijl in 17 gevallen een caviaproef ter contrôle werd ingesteld. Cultureel werd 4 maal tuberculose gevonden en hiervan 3 maal in overeenstemming met de dierproef. Bij de ongecontroleerde 15 gevallen waren 6 cultures positief. Toch vindt CLARENBURG de dierproef betrouwbaarder, hoewel er nog al eens een cavia uitvalt door ontijdige sterfte.

LUTZ ⁴⁴⁾ 1929, kreeg nooit een positieve cultuur bij negatieve dierproef. Volgens hem haalt de cultuur niet bij de dierproef, omdat er vrijwel steeds verontreiniging optreedt. LUTZ wil de cavia intraglandulair inspuiten en dan naar believen een klier uitpellen en deze onderzoeken en verder de cavia laten leven tot ze sterft.

KARSTEN en FRISCH ⁴⁵⁾ 1929, zijn van oordeel dat de cultuur geen vervangmiddel voor de dierproef kan zijn, hoogstens een aanvulling hiervan. Bij 83 microscopisch pos. sputa vinden zij slechts in 47 gevallen een pos. cultuur. Bij 137 microscopisch neg. of twijfelachtige monsters viel 24 maal de dierproef pos. uit, terwijl de cultuur in 13 gevallen aansloeg: 6 maal was de cultuur positief, terwijl de cavia negatief was.

L. WOLTERS ⁴⁶⁾ 1931, deed ook onderzoekingen met microscopisch negatief materiaal van klinisch verdachte dieren. Van 40 microscopisch neg. sputa waren er bij de cultuur toch 9 positief. Voor melk waren deze cijfers 5 cultureel positieve gevallen onder 90 negatieve monsters. Onder 234 monsters verzamelmelk werd door WOLTERS 14 maal een positieve cultuur gevonden en hieronder waren 9 voor de cavia apathogenestammen. Volgens dezen onderzoeker is het aantonen van tuberkelbacillen door de cultuurproef in dierlijke uitscheidingsproducten practisch door te voeren. Bij microscopisch-negatief materiaal van klinisch verdachte dieren is het zeker gewenscht, evenals voor het aantonen van aviaire bacillen in sputum en melk.

SCHARR ⁴⁷⁾ 1932, deed cultureel onderzoek bij 80 dieren, waarvan absoluut vast stond, dat het open lijders waren en kreeg toch nog in 15 gevallen een negatief resultaat. Zijn conclusie is, dat er niets gaat boven het klinisch-bacterioscopisch onderzoek, hoewel het microscopisch onderzoek niet alle gevallen weet te achterhalen.

G. GRAF ⁴⁸⁾ 1933, heeft ook vergelijkend onderzocht en wel 165 monsters (148 sputa, 15 melk en 2 uterus secretum). Zijn bevindingen waren met de cultuurproef 51, 5 en 1 positieve uitslagen en met de dierproef 52, 5 en 1, dus één geval meer. Volgens GRAF zijn de beide methoden practisch gelijkwaardig te noemen. Bij vergelijking van microscopisch praeparaat en cultuurproef vond hij bij 622 negatieve sputa cultureel 171 pos. gevallen, bij 39 melkmonsters 8 positieve gevallen en

bij 11 uterussecretata 4 positieve gevallen. Hier dus ook weer een aanzienlijke winst met de kweekmethode.

Een zeer groot aantal proeven met cultuurmethode en caviaproef zijn gedaan door K. TRAUTWEIN⁴⁹⁾ 1936. In den loop van 3½ jaar werden aangelegd 11.701 culturen, alle van materiaal, dat bij microscopisch onderzoek negatief gebleken was. Het totaal aantal positieve culturen bedroeg 2478, d.i. 21%. Nam hij echter alleen de sputummonsters in aanmerking, dan was het aantal positieve uitkomsten nog hooger nl. 30%. Het meerendeel dezer sputa was verkregen met behulp van den sputumvanger. Vergelijkend onderzocht zijn 1109 microscopisch negatieve sputa. Hiervan waren met de dierproef positief 28% en met de cultuurproef 27%. TRAUTWEIN zegt, dat als hij in het begin van het onderzoek de techniek beter beheerscht had, de uitslag voor de cultuurmethode zeker nog gunstiger zou zijn geweest. Aan het begin van het onderzoek had hij nl. 6% verontreiniging en later maar 2%. Deze onderzoeker houdt de cultuurproef tegenwoordig zeker gerechtvaardigd door zijn betrouwbaarheid, die overeenkomt met die der dierproef en door de tijdwinst, die met de kweekmethode behaald wordt ten opzichte van de caviaproef. Met deze laatste methode is de diagnose, zelfs bij onderzoek van de geëxtirpeerde lymphklier op zijn vroegst na 37 dagen te stellen, terwijl de cultuurproef reeds na ongeveer 20 dagen een diagnose mogelijk maakt.

De eerste onderzoeker, die de kweekmethode gepropageerd heeft voor medisch-veterinaire doeleinden is SICKMÜLLER⁵⁰⁾ geweest in 1938. Met materiaal van eenige organen van runderen en paarden had hij goed succes op den bodem volgens HOHN, niet echter met longmateriaal. Hier had S. veel last van verontreinigingen. Dit werd beter, toen hij aan den bodem 2% malachietgroen toevoegde. Bij microscopisch positieve sputa, die zeer weinig bacillen bevatten, zag hij in 85% ook een positieve cultuur. De 15% negatieve resultaten wijt hij aan het reeds afgestorven zijn der bacillen uit oude processen of aan sterk verzwakte bacillen, welke de voorbehandeling (hij gebruikte 2% antiformine gevolgd door H₂SO₄) niet meer konden verdragen. Bij vergelijking van microscopisch negatieve sputa kreeg S. met de dierproef in 4% der gevallen een positief resultaat en met de cultuurmethode in 6% en tevens nog in 3% der gevallen een dubieus resultaat. Deze laatste kwamen dus voor een heronderzoek in aanmerking. Microscopisch zichtbaren groei zag S. na 13 à 14 dagen bebroeden.

STOCKMAYER⁵¹⁾ 1940, onderzocht 188 monsters, die zeer bacillenarm waren. De caviaproef was positief in 80 gevallen en de cultuur in 75 gevallen. Ook volgens St. verdient de cultuurmethode de voorkeur boven het microscopisch onderzoek, omdat op deze wijze zeker 20% der negatieve monsters toch nog een positieve cultuur te zien gaven.

Uit de hierboven aangehaalde literatuur blijkt, dat de meeningen over de vraag of men door het cultureel onderzoek de caviaproef kan

TABEL No. 11.

Vergelijking der door dierproef gecontroleerde onderzoeken met de cultuurproef.

Auteur	Aantal onderz. micr. neg. sputa	Dierpr. + Cult. +	Dierpr. + Cult. -	Dierpr. - Cult. +
A. Sputa van menschen:				
Gfeller	140	26	4	1
Voegeli	125	25	7	4
Sütterlin	134	16	11	—
	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
	totaal 399	67	22	5
% waarin t.b.c.- bacillen aangetoond.		$\pm 17\%$	$\pm 5\frac{1}{2}\%$	$\pm 1\frac{1}{2}\%$
		$\pm 24\%$		
B. Sputa van runderen:				
Witte	105	68	13	8
Schmidt	40	6	5	—
Clarenburg	32	2	—	1
Karsten-Frisch	137	13	11	6
Graf	148	51	1	—
Trautwein	1109	299	11	—
	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
	totaal 1571	439	41	17
% waarin t.b.c.- bacillen aangetoond.		$\pm 28\%$	$\pm 2\frac{1}{2}\%$	$\pm 1\%$
		$\pm 31\frac{1}{2}\%$		
C. Eigen onderzoek zie blz. 33.				
	17	8	0	3

vervangen nog al uiteen loopen. De beteekenis van eerstgenoemd onderzoek treedt echter duidelijk aan het licht, wanneer men bedenkt, dat onder 1571 onderzoeken van runder-sputa, waarin bij het microscopisch onderzoek geen tuberkelbacillen werden gevonden, in $439 + 17 = 456$ of $\pm 29\%$ door de cultuurproef tuberkelbacillen werden aangetoond. Het is in de praktijk onmogelijk de dierproef op zoo uitgebreide schaal toe te passen. Door het weglaten van dierproef en cultuurproef beide zouden deze 456 dieren niet als open t.b.c.-lijders zijn onderkend. Dat er bij toepassing van de dierproef nog 41 andere als zoodanig zouden

zijn aangewezen, valt niet te betwisten. Men moet echter bedenken, dat door elken onderzoeker de techniek van het cultiveeren geleerd moest worden, waardoor in den aanvang eenige gevallen aan de waarneming ontsnapt en de statistiek ongunstig beïnvloed werd. Het is te verwachten, dat bij een systematische toepassing dezer methode de techniek van het kweken nog verbeterd en daardoor het aantal dezer miswijzingen tot het uiterste minimum beperkt zal worden. Periodieke herhaling van het onderzoek bij dezelfde — „reageerende” — dieren kan hier als een belangrijke factor genoemd worden.

Wij vinden dan ook onze, op de in de hoofdstukken I en II beschreven experimenten gevestigde, meening bevestigd, dat, al moge door middel van de cultuurproef niet alle lijders aan open t.b.c. worden aangewezen, de vooruitgang tegenover het alléén verrichten van het bacterioscopisch onderzoek zoo belangrijk is, dat dit hulpmiddel in de georganiseerde tuberculose-bestrijding voortaan systematisch moet worden toegepast.

Wij stellen ons voor in Hoofdstuk VI nader te beschrijven, op welke wijze dit met de meeste kans op een goede uitslag kan geschieden.

Literatuur.

25. E. Löwenstein, Wiener Klin. Wochenschr. 37, 1924.
Yaturo Sumyoski, Zeitschr. f. Tuberk., 1924.
26. J. Hohn, Zentralbl. f. Bakt. I Abt. Orig., 98, 1926.
27. Uyada, Nishikawa und Okubo, Zentralbl. f. Bakt. I Abt. Orig. 125, 1932.
28. J. Hohn, Zentralbl. f. Bakt. I Abt. Orig. 127, 1933.
29. J. Witte, Zeitschr. f. Inf. Krankh. d. Haust. 48, 1935.
30. The Diagnosis of T.B.C. by Culture and Guinea Pig Inoculation, J. Lab. and Clin. Med., 1939.
Referaat in Bulletin of Hygiene vol. XV, 1940.
31. E. Gfeller, Inaug.-Diss., Bern 1934.
32. A. Voegeli, Inaug.-Diss., Bern 1934.
33. K. L. Pesch und H. Simchowitz, Münch. Med. W.schr., 1925.
34. Fr. Schmidt, Zentralbl. f. Bakt. I Abt. Orig. 101, 1926.
35. C. Sonnenschein, Münch. Med. W.schr. 74, 1927.
36. G. Schrader, Zentralbl. f. Bakt. I Abt. Orig. 102, 1927.
37. K. Meyer, Zentralbl. f. Bakt. I Abt. Orig. 103, 1927.
38. W. Engel, Deutsche Med. W.schr. 53, 1927.
39. Th. Sütterlin, Münch. Med. W.schr. 74, 1927.
40. G. Bertrand, Ann. de Med. Veterin., 1928.
41. Th. Matthies, Klin. W.schr., 1928.
42. G. Korthof, Versl. en Meded. betr. de Volksgez.h., 1928.
43. A. Clarenburg, Tijdschr. v. Diergeneesk., 1929.
44. G. Lutz, Zentralbl. f. Bakt. I Abt. Orig. 114, 1929.
45. Karsten und Frisch, Deutsche Tierärztl. W.schr. 38, 1930.
46. L. Wolters, Deutsche Tierärztl. W.schr. 39, 1931.
47. Scharr, Deutsche Tierärztl. W.schr. 40, 1932.
48. G. Graf, Inaug.-Diss. Giessen, 1933.
49. K. Trautwein, Berl. Tierärztl. W.schr. 42, 1936.
50. E. Sickmüller, Deutsche Tierärztl. W.schr. 46, 1938.
51. W. Stockmayer, Zeitschr. f. Inf. Krankh. d. Haust. 57, 1940.

HOOFDSTUK VI.

Bespreking der gevallen waarin aanleiding is het cultureele onderzoek toe te passen.§ 1. *Toepassing bij het individuele dier.*

Het ligt voor de hand, dat er geen aanleiding is om de kweekproef in te zetten, wanneer er door middel van het microscopisch onderzoek met zekerheid tuberkelbacillen in het sputum zijn onderkend. Doel van ons onderzoek is: te komen tot een betrouwbare, niet al te gecompliceerde opsporingsmethode voor tuberkelbacillen juist in die gevallen waarin het bacterioscopisch onderzoek faalt en waarbij de factor tijd geen al te belemmerende rol speelt.

Voor de cultuurproef komen derhalve in de eerste plaats in aanmerking die gevallen, waarbij op grond van het klinisch onderzoek wordt overgegaan tot het opvangen van sputum, terwijl het microscopisch onderzoek daarvan een negatief resultaat oplevert, zelfs wanneer dit wordt herhaald. Voor dit onderzoek werden bedrijven uitgekozen, waarin het percentage op tuberculine reagerende dieren hoog was nl. 35% of nog hoger. Ook werd dit onderzoek gedaan bij enkele dieren, welke werden aangevoerd aan de Kliniek voor Inwendige Ziekten en waarbij na nauwkeurig klinisch en bacterioscopisch onderzoek de diagnose niet met zekerheid te stellen was.

De vraag dient eerst te worden onderzocht, in hoeverre bepaalde klinische gegevens een leidraad kunnen vormen om tot het instellen van een cultureel onderzoek te besluiten.

Nogmaals moet hier gewezen worden op het groote belang van een grondig klinisch onderzoek, daar dit één van de fundamenteën is waarop de geheele tuberculose-bestrijding rust. Het is niet voldoende om af te gaan op de anamnese, waarin gezegd wordt: het dier hoest af en toe, of regelmatig en het reageert ook op tuberculine en dus zal het wel „open longtuberculose” hebben. Neen, de beoordeeling moet geheel objectief zijn en het onderzoek moet geheel volgens een vastgesteld plan verlopen. Voor de beschrijving van dit onderzoek verwijzen wij naar § 4 van Hoofdstuk IV.

In het geheel werden zoo opgespoord 150 runderen verdacht van open longtuberculose en 12 verdacht van uiertuberculose.

Van deze dieren werd op de gebruikelijke manier met den sputumvanger volgens TALLGREN sputum afgenomen en melk opgevangen in steriele fleschjes. De uitstrijkpraeparaten werden gekleurd volgens ZIEHL-NEELEN.

Op deze manier werd in 6 gevallen open longtuberculose gediagnosticeerd; open uiertuberculose werd zoo niet gevonden. Van de overige sputa en van alle melksedimenten werd een cultuur aangelegd. Van de in deze serie verwerkte 144 sputa waren er bij cultureel onderzoek

27 positief en van de 12 melkmonsters waren er op deze wijze 2 positief (Zie tabel No. 10 blz. 49 de nrs. 54 en 58). Deze uitkomsten zijn deels bevestigd door de sectie van de desbetreffende runderen, deels door sectie op caviae, welke met een suspensie van de culturen intramusculair aan de dij waren ingespoten. Helaas is om verschillende redenen van enkele dieren nl. 7 gevallen van long- en 2 van uiertuberculose geen sectie verricht en geen dierproef ingezet kunnen worden.

Hiermede kwam dus vast te staan, dat alleen door het klinisch onderzoek wel het vermoeden „open” longtuberculose te verkrijgen was, maar niet de volle zekerheid.

Ons materiaal van 150 dieren waarbij klinisch onderzoek heeft plaats gehad levert, voor wat betreft de 27 als positief bevonden sputa, de volgende gegevens op (zie Tabel No. 12, blz. 67).

Tegelijk zijn in deze tabel opgenomen de resultaten van het klinisch onderzoek bij 13 dieren, welke uit verdachte koppels stammen en waarbij later nog een klinisch onderzoek heeft plaats gehad. Zij omvat dus 40 dieren.

Kort samengevat zien wij uit deze tabel:

- a. Bij 7 opgespoorde open lijders was de voedingstoestand slecht, bij 13 middelmatig, terwijl 20 dieren nog in een zeer behoorlijken voedingstoestand verkeerden.
- b. Bij 12 dieren was spontaan hoesten opgemerkt.
- c. Bij 26 dieren waren bij auscultatie afwijkende geruischen te hooren.
- d. Bij 15 dieren was de verkregen hoeveelheid sputum groot en bij 25 klein.
- e. Bij 18 dieren was de hoest, — spontaan of kunstmatig opgewekt — vochtig, terwijl bij 6 dieren een uitgesproken droge hoest werd waargenomen.
- f. Bij 5 dieren was uitgesproken klierzwellung te voelen.
- g. Bij 9 dieren was een dor, ruig haarkleed aanwezig.

Op grond van de door ons verzamelde feiten komen wij tot de conclusie, dat wel is waar het verkeerden in een minder goeden voedingstoestand, het waarneembaar zijn van abnormale longgeruischen, en het bemerken van spontaan hoesten een aanwijzing vormen, dat bij cultureel onderzoek een hoogere kans bestaat op het vinden van tuberkelbacillen, maar dat het afwezig zijn van een dezer verschijnselen, of wel van alle te zamen, de mogelijkheid van het aanwezig zijn van open t.b.c. niet uitsluit. Ook bij dieren, waarvan niets anders bekend was, dan dat zij op een tuberculinetoediening reageerden (positieve tuberculine reactie), zijn door de cultuurproef „open gevallen” aangewezen.

Het al dan niet uitvoeren van een cultureel onderzoek bij een bepaald dier, zal dus steeds aan het oordeel van den met de bestrijding belasten deskundige moeten worden overgelaten, waarbij de omvang der beschikbare hulpmiddelen van materieelen en personeelen aard den doorslag

TABEL No. 12.

Klinische bevindingen bij 40 runderen waarvan het sputumonderzoek microscopisch negatief maar cultureel positief was.

Geval No.	Voedingstoestand			Hoesten	Atwijk. long-geruischen	Sputum		Hoest		Klieren gezwollen	Ruig haarkeed
	mager	matig	goed			veel	weinig	vochtig	droog		
4	×				×		×	×			
6	×			×	×	×		×		×	
11	×						×				
15	×			×	×	×		×			×
27	×				×		×		×		
28	×			×		×					
35	×				×	×		×			×
3		×			×	×		×			
8		×					×		×		
10		×		×	×	×		×			×
16		×					×				×
19		×					×		×		
21		×			×		×	×			×
22		×		×	×		×	×		×	
24		×			×		×		×		×
25		×		×	×	×		×			×
26		×			×		×	×			
29		×			×	×		×			
36		×					×				
37		×					×				
2			×	×	×		×	×			
5			×	×	×	×		×			
9			×	×	×	×		×		×	
12			×		×	×				×	
13			×				×				
17			×			×					
18			×				×	×			
20			×				×		×	×	
23			×		×		×				
30			×	×	×		×				
31			×				×		×		
32			×		×		×				
33			×		×		×				
34			×		×		×	×			
38			×		×				×		
39			×			×		×			
40			×				×				
56			×		×		×		×		
58			×	×	×	×		×			
59			×	×	×		×				×
Totaal 40	7	13	20	12	26	15	25	18	6	5	9

zullen geven. Het laboratoriumonderzoek is bij een goede organisatie zeer zeker op groote schaal uitvoerbaar. Het aantal gevallen, waarin men tot het cultureele onderzoek overgaat, zal dus beheerscht worden door het aantal dieren waarvan men sputum met den sputumvanger kan verzamelen en na een kort vervoer op een daartoe geschikt laboratorium ter verwerking kan afgeven.

In beginsel behoeft dit aantal dus niet achter te staan bij het aantal dieren waarvan een microscopisch onderzoek van het sputum wordt verricht, behoudens dan in die gevallen waarbij door laatstgenoemd onderzoek reeds tuberkelbacillen zijn aangetoond.

Of een dergelijke omvangrijke toepassing van het cultureel onderzoek wenschelijk, resp. noodzakelijk is zal in de volgende onderdeelen van dit hoofdstuk worden onderzocht.

§ 2. *Toepassing van de kweekmethode bij veestapels waarin ondanks goed doorgevoerde bestrijding telken jare nieuwe gevallen van positieve reactie optreden. (Koppelonderzoek).*

Voor dit onderzoek is gebruik gemaakt van 295 sputa en 24 monsters melk. Voor deze groep monsters was de reden van onderzoek een zeer hoog reactie-percentages onder de jonge kalveren. Voor de hand lag hier, om te denken aan niet of althans niet tijdig genoeg ontdekte lijders aan open-long- resp. uiertuberculose.

Voor het ons ter beschikking stellen van dergelijke koppels vee zijn wij dank verschuldigd aan de Heeren dierenartsen DE RONDE te Delft en BEUVERY te Nieuwerkerk a/d IJssel en aan Prof. Dr. J. A. BEYERS te Utrecht.

De door ons gevolgde gang van het onderzoek is hier als volgt geweest: Van alle reageerende dieren in deze koppels werd zonder uitzondering sputum afgenomen. Een enkele maal ging dit met groote moeite gepaard, daar het dier uiterst moeilijk of in het geheel niet tot hoesten was te brengen. Was dit laatste het geval dan werd tenslotte de sputumvanger toch maar ingebracht en dan lukte het wel om toch nog een geringe hoeveelheid sputum te verkrijgen. Van deze sputum-monsters werden na aankomst op het laboratorium direct 3 uitstrijkpraeparaten gemaakt, terwijl de rest verwerkt werd op den voedingsbodem. Hierbij hebben wij den inwerkingsduur van het H_2SO_4 verlengd tot ongeveer 40 minuten, waardoor verkregen werd, dat verontreiniging der culturen door andere dan tuberkelbacillen practisch niet meer voorkwam. Door voorafgaande proeven was komen vast te staan, dat tuberkelbacillen deze bewerking kunnen doorstaan, zonder in hun levensuitingen geschaad te worden. Een heel enkele maal zagen wij hierbij, dat de groei enkele dagen later zichtbaar werd, zoowel bij het bewerken van reenculturen als bij het kweken van primaire culturen uit weefsels, maar dit was geen nadeel te noemen tegenover het voordeel, dat alle verontreinigers, op een

enkelen sporenvormer na, gedood waren. Tevens bracht deze werkwijze een besparing van materiaal mede, doordat nu met één voedingsbodem per monster kon worden volstaan, terwijl er anders minstens 2 bodems noodig waren.

TABEL No. 13.

Culturen uit monsters afkomstig uit veestapels waar de tuberculose zich steeds uitbreidt, ondanks de goed doorgevoerde bestrijding.

Veestapel van:	Aard en aantal der monsters	Uitslag der cultuurproef
J. K. te U.	10 sputa	1 positief
H. G. O. te U.	14 sputa	
Wed. C. v. D. te Z.	3 sputa	
J. C. V. te H.	8 sputa	2 positief
J. J. S. te J.	14 sputa, 11 melk	2 sputa en 3 melk, pos
J. U. te V.	9 sputa	2 positief
J. v. d. G. te W.	18 sputa	4 positief
C. V. te B.	3 sputa	
J. E. te O.	5 sputa	
J. A. v. W. te Z.	23 sputa	1 positief
J. J. B. te V.	6 sputa, 6 melk	
J. B. te G.	6 sputa	
J. M. te O.	6 sputa	
O. D. te M.	5 sputa	1 positief
J. B. te O.	19 sputa	1 positief
J. J. L. te K.	12 sputa	3 positief
Fr. v. O. te K.	12 sputa	1 positief
Wed. J. v. d. K. te W.	14 sputa	3 positief
S. de J. te U.	12 sputa	
J. K. te de L.	18 sputa	
J. de K. te H.	11 sputa	2 positief
C. v. M. te S.	7 sputa, 7 melk	

Vatten wij de bij dit onderzoek verkregen resultaten kort samen, dan zien wij, dat in 22 koppels vee met te samen 235 tuberculeuze runderen, 23 dieren, als lijdende aan open long-tuberculose ($\pm 10\%$) door middel van de cultuurproef zijn opgespoord.

In 3 koppels vee met in totaal 24 tuberculeuze runderen zijn op deze wijze 3 dieren lijdende aan open uier-tuberculose opgespoord.

Wij meenen gerechtigd te zijn, om hieruit de volgende conclusie te trekken: In veestapels, waarin ondanks de tuberculose-bestrijding deze ziekte zich uitbreidt, is naast het klinisch-bacterioscopisch onderzoek, het cultureele onderzoek van het sputum noodzakelijk, vooral wanneer men het eventueel herhaalde bacterioscopisch onderzoek van het sputum geen bacillen-uitscheiders gevonden worden.

§ 3. Te bereiken resultaten bij verschillende wijzen van toepassing der „cultureele methode.”

In het kort geven wij hier eerst een overzicht van het totaal aantal door ons onderzochte sputum-monsters.

TABEL No. 14.

Totaal verwerkte sputa	Ziehl-Neelsen- praeparaat neg.	Aantal aangelegde culturen	Positieve culturen	Positieve monsters
385	1 × onderzocht 45	120	10	3 = 6.66%
	2 × onderzocht 175	435	70	30 = 17.14%
	3 × of meer onderz. 165	295	50	17 = 10.3 %
	Totaal	850	130	50 = ± 13%

Onder deze gevallen zijn er slechts 6 waarin bij het microscopisch onderzoek een „open” lijder werd ontdekt. Wij vonden dus bij 385 onderzoekingen 44 gevallen van open tuberculose meer dan bij het gewone routine-onderzoek zouden zijn opgespoord.

Wij hebben de toepassing van de cultureele methode aangesloten bij de wijze, waarop de tuberculose-bestrijding aan de „Buitenpraktijk” van de Kliniek voor Inwendige Ziekte der Veterinaire Faculteit te Utrecht (Prof. Dr. J. A. BEYERS) wordt uitgevoerd. Men is daar tot de overtuiging gekomen, dat men door uitsluitend klinisch onderzoek — hoe nauwgezet ook verricht — hoogstens het vermoeden „ernstig verdacht van open tuberculose” kan uitspreken, maar nooit met zekerheid de diagnose „open tuberculose” kan stellen. Er is geen enkel klinisch symptoom, dat volstrekt specifiek is voor „open tuberculose”. (Men zie hiervoor het klinisch gedeelte Hoofdstuk 4 § 4).

Bovendien kan geen enkele waarborg gegeven worden, dat bij de dieren die een positieve reactie bij de tuberculinatië toonen maar die klinisch niet verdacht zijn, geen vormen van open t.b.c. voorkomen.

Daarom heeft men aan bovengenoemde kliniek den regel ingevoerd, dat van alle dieren zonder onderscheid, die een „positieve tuberculine-reactie” vertoonen, sputum wordt afgenomen en microscopisch onderzocht op tuberkelbacillen. In bijzondere gevallen wordt daarmee ook de dierproef toegepast.

Wij zijn in de gelegenheid geweest aan een bestrijdingscampagne deel te nemen, waarin van 1600 dieren het bacterioscopisch onderzoek

van het sputum werd verricht. Hieronder werden positief bevonden 39 sputa (c.a. 2½%).

Bij klinisch onderzoek werden onder een gedeelte van deze 1600 dieren er 150 ernstig verdacht bevonden, hiervan viel bij 6 dieren het bacterioscopisch (microscopisch) onderzoek van het sputum positief uit (4%). Men ziet dus, dat een voorafgaand klinisch onderzoek ook bij het toepassen van het microscopisch onderzoek wel een hoogere kans geeft op het opsporen van open lijdens. Dat echter lang niet alle worden opgespoord blijkt uit het hierna volgende.

Van ander materiaal, zie § 2 (koppelonderzoek), werd bij 235 op tuberculine reagerende dieren, ongeacht den klinischen toestand, een cultureel onderzoek van het sputum verricht. Het betrof hier koppels waarbij sterke aanwijzing op de aanwezigheid van open tuberculose-lidens bestond (Hoog reactie percentage, toenemend aantal reageerders onder het jonge vee). Hieronder werden niet minder dan 23 of circa 10% open t.b.c.-lijders aangetroffen.

Voorts brengen wij in herinnering, dat wij met de cultuurmethode onder 144 dieren, (stammende uit het bovengenoemde materiaal van 1600 stuks) die wij klinisch verdacht van open long-tuberculose bevonden, niet minder dan 27 stuks (ca. 19%) open lijdens konden aanwijzen.

Tabel No. 15 geeft een vergelijkend overzicht van deze resultaten.

TABEL No. 15.

Groep:	Aantal:	
	onderzochte dieren	gevonden open lijdens
Onderzoek van alle reageerenden, onverschillig de klinische bevinding	235	23 ± 10%
Geheel materiaal, tuberculineproef positief, microscopisch onderzoek negatief.	379	44 ± 11.5%
Klinisch verdachte dieren	144	27 ± 19%

Wij kunnen uit deze cijfers de volgende overtuiging putten: Wil men in de toekomst met de t.b.c.-bestrijding onder het rundvee een doeltreffend resultaat behalen dan zal het zeker noodig zijn de „kweekmethode” van tuberkelbacillen uit het sputum van reagerende dieren mede in het onderzoek te betrekken. Het zal niet mogelijk zijn voetstoots bij alle dieren, die een positieve tuberculine-reactie toonen, dit hulpmiddel toe te passen. Men zou zich aanvankelijk kunnen beperken tot de klinisch verdachte dieren, waarbij het microscopisch onderzoek geen resultaat oplevert. In het bijzonder ware dit te verrichten in de koppels als in paragraaf 2 van dit Hoofdstuk bedoeld. Mogelijk, dat voor

zulke koppels het cultureel onderzoek bij alle reageerende dieren uitvoerbaar is.

Taak voor de Gezondheidsdiensten voor het vee.

Hier ligt zeer zeker een taak voor de Gezondheidsdiensten voor het vee, welke met hun laboratoria ingeschakeld kunnen worden in het opsporingswerk van lijders aan open (long)tuberculose.

Het gewone onderzoek dient dan plaats te hebben door de praktiseerende dierenartsen, zooals dit ook nu gebeurt, maar deze zouden op grond van hun bevindingen bij het klinisch onderzoek aanwijzingen kunnen verstrekken bij welke dieren, respectievelijk veestapels, een nader cultureel onderzoek gewenscht is. De Gezondheidsdienst voor Vee in het district, waaronder deze dieren behooren, zou dan door een aan dien Dienst verbonden deskundige de monsters kunnen verzamelen en op het laboratorium verder doen bewerken.

Wij stellen ons voor, dat op deze wijze binnen een niet al te langen tijd in belangrijke mate paal en perk gesteld kan worden aan de tuberculose onder het rundvee. Hierbij is het zeker van belang, dat de bestrijding voor het geheele land verplicht doorgevoerd wordt, daar anders onaangename verrassingen door aankoop uit niet gecontroleerde bedrijven niet uit te sluiten zijn.

HOOFDSTUK VII.

**Over de methoden ter bestrijding der tuberculose
onder het rundvee.**

§ 1. *Inleiding.*

Algemeen overzicht:

„radicale” en „benaderende” methode(s).

Onder de besmettelijke veeziekten is de tuberculose wel de meest voorkomende. Zij leidt door haar sterke verspreiding en haar slepend ziekteverloop, dat jaren lang duren kan, tot grootte financiële schade voor de veehouders. De bestrijding van deze ziekte is hierdoor van het grootste belang, afgezien nog van het feit dat zij via melk en andere zuivelproducten ook voor den mensch lang geen denkbeeldig gevaar oplevert. Men zie hiervoor de publicaties van BOER, VAN LEUSDEN, CH. A. RUYSS, v. D. HOEDEN, VAN DEN BERG ¹⁾, GRIFFITH, LANGE, JENSSEN en anderen.

Diverse commissies, welke zich bezig gehouden hebben met de bestudeering van de vraag hoe wij tot een doelmatige bestrijding van de rundertuberculose kunnen komen en of deze bestrijding noodzakelijk is, komen dan ook tot de conclusie: „De tuberculosebestrijding onder het rundvee is noodzakelijk, zoowel uit het gezichtspunt van hygiëne voor den mensch, als ook om economische en financiële redenen.” (Staatscommissie van 1898, Tuberculosecommissie van de Mij. voor Diergeneeskunde 1924 en 1940).

De sterke verspreiding onder het rundvee staat in verband met de intensivering van de veehouderij, het lang op stal staan onder minder hygiënische omstandigheden, de productieverhoging en het gebruik maken van bij-producten van de zuivelindustrie voor de voeding van het vee. Dat dit laatste als besmettingsbron niet te verwaarloozen is, blijkt duidelijk uit de verslagen van de Gezondheidsdienst voor vee in Friesland. Hierin kunnen wij herhaaldelijk gevallen lezen, dat in koppels vee waar geen andere besmettingsmogelijkheden aanwezig waren plotseling vele kalveren tuberculeus geworden zijn door voeding met producten afkomstig van zuivelfabrieken, die onder haar leveranciers veehouders hadden met aan uier-tuberculose lijdende runderen.

Ook het verkeer in eenzelfde stal te zamen met runderen, die lijdende zijn aan een of anderen vorm van open tuberculose, is funest voor de gezondheid der overige dieren.

¹⁾ In de dissertatie van Dr. C. VAN DEN BERG (Utrecht 1937) vindt men een goed overzicht over het voorkomen van tuberculose bij den mensch veroorzaakt door den rundertuberkelbacil.

Radicale methode van bestrijding der runder-t.b.c.

De doeltreffendheid van elk systeem van tuberculose-bestrijding onder het rundvee is in de eerste plaats evenredig aan de mate van volledigheid waarmede de kans van besmetting zoo gering mogelijk wordt gemaakt. Een definitief resultaat wordt dan ook het snelst bereikt, wanneer de omstandigheden het veroorloven *om alle dieren, die blijkens een positieve reactie op de tuberculine-proef aan een besmetting met tuberculose ten prooi zijn gevallen, zonder uitzondering binnen korten tijd door slachting uit de veestapel te verwijderen*. Bij een dusdanig doorgevoerde bestrijding worden zeker *alle smetstofverspreiders* in éénmaal onschadelijk gemaakt. Van dit door ons genoemde „radicale” systeem wordt, in zeer grooten omvang, in Amerika gebruik gemaakt. Het relatief gering percentage der „besmette” dieren, de voorspoedige toestand der agrarische bedrijven en de enorme steun, die hier van overheidswege geboden wordt, maken de uitvoering van deze inderdaad grootscheepsche bestrijdingswijze in dat land mogelijk.

Met deze wijze van tuberculosebestrijding is men in Amerika begonnen in 1917. Reeds tevoren had men in enkele districten aldus gewerkt, maar dit is feitelijk meer te beschouwen als proefneming. In het jaar 1917 begonnen onder leiding van het Bureau of Animal Industry de pogingen tot uitroeiing der tuberculose. In zuivere fokstreken werd alles wat reageerde afgeslacht en na 5 jaren arbeid waren er reeds 30.000 vrije bedrijven met te zamen 625.000 dieren. Dit aantal was in 1934 vermeerderd tot 230.000 bedrijven met 3.500.000 dieren. Tot 1920 maakte men gebruik van de subcutane tuberculatie en na 1920 van de intracutane tuberculatie aan de staartplooi en tegelijk aan de vulva.

Naast deze vrije bedrijven heeft men heele streken die ten naaste bij tuberculosevrij zijn. Door uitbreiding van de geheel vrije streken met deelen van deze gebieden komt men allengs waar men uiteindelijk zijn wil. Een koppel wordt eerst dan als tuberculosevrij beschouwd, als drie opeenvolgende tuberculaties een negatieven uitslag geven. In streken met minder dan 2% reactie heeft de tuberculatie om de drie jaar plaats. Dat de rundertuberculose in Amerika flink achteruit gaat volgt uit de percentages positieve dieren. Dit was in 1922 4% en in 1934 1.1%. Sedert het begin der georganiseerde bestrijding in 1917 tot 1934 waren totaal onderzocht 46.500.000 dieren. Hiervan behoorden tot geheel vrije koppels 3.500.000 dieren. In totaal waren 3.000.000 reagerende dieren afgeslacht. Deze cijfers zijn gepubliceerd op het 12e Veterinaire Congres te New York in 1934 en nog steeds gaat de tuberculosebestrijding in Amerika op deze wijze voort.

In streken waar, hetzij „van nature” of door een volgens andere methoden werkende bestrijdingswijze slechts een zeer gering percentage tuberculeuze dieren aanwezig is, kan dit systeem ook hier te lande met succes worden toegepast, zonder al te groote kosten mede te brengen.

Daarbij zal eenige dwang op de veehouders niet gemist kunnen worden. Deze zal opgelegd kunnen worden door de eigen organisatie (Gezondheidsdienst) of krachtens wettelijke bepalingen. Voorbeelden van deze werkwijze vinden wij vermeld in de Jaarverslagen van den Gezondheidsdienst in Friesland. Verschillende op coöperatieven grondslag werkende zuivelfabrieken leggen daar aan hun leveranciers de verplichting op om bij daling van het reactiepercentage, gerekend over alle runderen waarvan aan die fabriek de melk verwerkt wordt, beneden 0.5 of 1%, deze laatste reactiedieren onverwijld op te ruimen. Wordt hieraan geen gevolg gegeven, dan wordt de desbetreffende veehouder uitgesloten zijn melk aan die fabriek te leveren.

Op enkele eilanden (Texel, Terschelling) werd deze werkwijze ook met veel succes toegepast, te meer omdat de besmetting van elders door strenge contrôle op ingevoerde dieren volledig gekeerd kan worden.

Omtrent het hier besproken „radicale” systeem der tuberculosebestrijding moet nog het volgende worden vermeld:

1. De tuberculineproef — welke uitvoering men ook kiest — is bij éénmalige toepassing geen onfeilbaar scheidingsmiddel tusschen besmette en niet besmette dieren. Vermelden wij ten eerste de dieren die in zoodanig ernstige mate aan tuberculose lijdende zijn, dat zij op toevoeging van een geringe hoeveelheid tuberculine niet meer reageeren. Deze dieren zullen echter bij het grondig klinisch onderzoek moeten en kunnen worden opgespoord. Als tweede groep zijn te vermelden de dieren, waarbij de infectie nog in het z.g. „latente” stadium verkeert. Hierbij is de biologische wisselwerking tusschen organisme en tuberkelbacillen nog niet zoo ver voortgeschreden, dat toediening van een kleine hoeveelheid tuberculine de bekende allergische reactie-processen opwekt.

Deze dieren zullen evenals de aan elke tuberculinatie inhaerente spaarzame miswijzingen door andere oorzaken (individuelle eigenschappen der getuberculineerde dieren) niet worden opgemerkt. Daarom moet de tuberculinatie dan ook binnen zekeren tijd herhaald worden. Hier te lande wordt meestal een tusschenpoos van een jaar aangenomen, maar uit den aard is deze termijn te lang.

2. Het geheele complex van maatregelen heeft geen doel, wanneer niet bij aankoop van dieren uit bedrijven buiten het aldus practisch van tuberculose vrij gemaakte gebied ten strengste wordt toegezien, dat geen „reageerende” dieren worden aangekocht. Om werkelijk zeker te zijn zouden deze dieren na aankomst op het bedrijf 6—8 weken in quarantaine moeten staan om aan het einde van deze periode nogmaals getuberculineerd te worden. Valt deze tweede tuberculinatie ook negatief uit dan zou het dier pas definitief in de koppel mogen worden opgenomen. Dat hieraan echter zeer groote bezwaren zijn verbonden is zonder meer duidelijk, afgezien nog van het feit of er bij een reageerend

dier al dan niet sprake kan zijn van een koopvernietigend gebrek, zoodat de koper voor eventueele financieele schade gevrijwaard zou zijn.

Benaderende methoden ter bestrijding der runder-t.b.c.

In verreweg de meeste gebieden van ons land veroorloofden en veroorloven de hooge percentages aan tuberculose lijdende dieren in verband met de verdere technische bedrijfsomstandigheden de toepassing van deze „radicale” methode niet.

Daar was en is men aangewezen op een „benaderende” methode. De hierbij toegepaste werkwijzen hebben gemeen, dat men tracht — zoo volledig mogelijk — die dieren aan te wijzen, waarvan vast staat of is aan te nemen, dat zij aan „open tuberculose” lijdende zijn en die dus als „bacillenverspreiders” zijn aan te merken, om deze dieren dan door slachting uit de veestapels te verwijderen. Inderdaad wordt daarmee een belangrijk deel van het besmettingsgevaar weggenomen. Er zijn verschillende werkwijzen ontwikkeld, (bacterioscopisch, resp. cultureel onderzoek van secreta en dierproef) waardoor met zekerheid komt vast te staan, dat een bepaald dier aan „open tuberculose” lijdende is. Miswijzingen in dit opzicht zullen bij een goede organisatie der bestrijding tot een zeer gering aantal beperkt kunnen worden. *Er is echter geen enkel hulpmiddel bekend*, waardoor met volledige zekerheid verklaard kan worden, dat nadat eerst bedoelde dieren verwijderd zijn, *onder de overige op de tuberculineproef reageerende dieren, geen enkel dier met open tuberculose, zij het in nog zoo geringe graad, voorkomt*. Beperkt men zich bij deze bestrijdingswijze voor het opsporen van „open lijders” tot klinisch en min of meer doeltreffend laboratoriumonderzoek, dan blijft de kans bestaan, dat één of meer der tuberculeuze dieren, die niet als „open lijders” werden aangemerkt, de nog volledig gezonde dieren besmet of besmetten. (SCHORNAGEL).

Van zulk een „benaderende” methode is dan ook alleen succes te verwachten, wanneer behalve het wegnemen der als zoodanig herkende „open lijders” een definitieve scheiding plaats heeft tusschen de dan overblijvende niet reageerende (dus geheel gezonde) en reageerende dieren.

Onontbeerlijk en als onmisbare aanvulling van deze scheiding moeten dan twee andere maatregelen daaraan worden toegevoegd t.w. 1e. streng toezicht bij aankoop van vee elders (zie de opmerkingen daaromtrent gemaakt bij het radicale systeem) en 2e. tuberculose vrije opfok van het jonge vee. Noch door verblijf in dezelfde ruimte met de op het bedrijf aanwezige reageerende dieren, noch met enig voedingsmiddel of stuk stalgereedschap mag de jonge generatie de kans loopen te worden besmet.

De praktijk van het veehoudersbedrijf wijst uit, dat zulk een absolute scheiding (vooral in de middelgrooten- en kleine bedrijven hier te lande)

moeilijk is door te voeren. Het gevaar dat van de groep reageerders uitgaat is bij de practisch onvermijdelijke „lekken" in het isolatiesysteem voor de gezonde dieren evenredig aan het aantal „open lijdens" dat daarin na de bovengeschetste schifting overblijft, resp. daarin ontstaat. Vele schrijvers zijn nml. van oordeel dat practisch elk geval van gesloten tuberculose kan overgaan in open tuberculose en *dat dit in werkelijkheid ook zeer veelvuldig zou geschieden*. Wetenschappelijk vaststaande gegevens omtrent dit laatste zijn echter niet te verwerven. Immers men kan van een gegeven reageerend dier nooit met zekerheid verklaren, dat het niet aan „open" tuberculose lijdt. Men kan hoogstens zeggen, dat deze toestand op een bepaald oogenblik met de beschikbare hulpmiddelen niet werd aangetoond. Lukt dit later wel, dan zijn er twee mogelijkheden. Of de toestand van „open" tuberculose is tusschen beide onderzoekingen ontstaan, of zij bestond reeds bij het eerste onderzoek en trad pas bij het tweede aan het licht.

Het is om deze redenen, dat niet volstaan kan worden met een scheiding van de veestapel in reageerende en niet reageerende dieren, zonder deugdelijk onderzoek naar „open" lijdens in de eerste groep. Immers het gevaar stijgt, met het aantal „open" tuberculoselijders dat zich in de eerste groep bevindt. Een benaderend bestrijdingssysteem zal dus te beter naar het doel voeren naarmate ten eerste de „open" tuberculose lijdens zoo volledig mogelijk worden verwijderd en ten tweede de scheiding tusschen reageerende en niet reageerende dieren zoo volledig mogelijk tot stand wordt gebracht, met inbegrip van afdoende maatregelen bij den aankoop van vee en bij de tuberculosevrije opfok van het jonge vee.

De in den loop der jaren ontwikkelde bestrijdingswijzen zullen wij nu met deze criteria voor oogen de revue laten passeeren. Wij zullen dan kunnen vaststellen, welke practische waarde aan elk dezer moet worden toegekend, maar vooral waarom een aantal dezer hebben gefaald en welke tekortkomingen bij het thans nog hier te lande toegepaste systeem kunnen worden opgemerkt.

§ 2. *Verschillende in de practijk toegepaste benaderende methoden.*

I. Systeem VON OSTERTAG.

Dit systeem is uitvoerig door den ontwerper beschreven in 1905 in zijn in dat jaar verschenen monografie over de tuberculose-bestrijding. Getracht wordt de „open" tuberculoselijders op te sporen *door klinisch onderzoek in den regel zonder laboratoriumonderzoek van secreta*. Voor uier-tuberculose wordt dit onderzoek tot zekere hoogte ondersteund door microscopisch onderzoek van het melksediment van mengmelk.

VON OSTERTAG wilde zijn methode op de diverse bedrijven doorvoeren in drie etappen nml.:

1e *tijdperk*. Opruiming van de *klinisch* onderkenbare open vormen en tegelijk onderwijzing der veehouders over het hoe en waarom der bestrijding.

2e *tijdperk*. Opruiming der open vormen en tegelijk tuberculosevrije opfok der kalveren.

3e *tijdperk*. Doorvoering der maatregelen genoemd onder a. en b. met tevens jaarlijksche tuberculatie der „vrij” geboren dieren om hiermede een nieuwe tuberculosevrije koppel op te bouwen, welke dan steeds gescheiden moet blijven van de oorspronkelijke veestapel.

Kritische bespreking.

1. Door klinisch onderzoek zonder aansluitend sputumonderzoek worden zeker niet alle open lijders aan longtuberculose opgespoord. Men kan en mag niet alleen afgaan op het al of niet aanwezig zijn van afwijkende longgeruischen of het al of niet hoesten van een rund om hierop de diagnose longtuberculose laat staan „open” longtuberculose te stellen. Zoolang niet onomstootelijk aangetoond is of er al dan niet tuberkelbacillen uitgescheiden worden, kan geen definitieve uitspraak gedaan worden.

2. Hoe wordt de melk onderzocht? Volgens de aangegeven methode wordt 3 à 4 maal per jaar van alle aangesloten bedrijven een mengmelkmonster onderzocht op de aanwezigheid van tuberkelbacillen. Het sediment hiervan wordt microscopisch onderzocht. De kans op het vinden van tuberkelbacillen is op deze wijze al heel klein. De trefkans wordt grooter bij cultureel onderzoek of bij gebruikmaking van de dierproef. Er is echter geen voorschrift een van deze laatstgenoemde methoden te gebruiken. Bij uitsluitend microscopisch onderzoek van mengmelk zullen een zeker aantal gevallen aan de aandacht ontsnappen. Dit zal te frequenter voorkomen naarmate de koppel grooter is en de eventueel bijgemengde bacillenhoudende melk meer verdund is.

3. In de derde etappe is noodig een streng doorgevoerde scheiding van reageerende en niet reageerende dieren waaraan onvermijdelijk de bezwaren verbonden zijn, welke wij reeds bij de bespreking van de benaderende systemen in het algemeen hebben opgenoemd.

Bij deze benaderende methode volgens VON OSTERTAG ontbreekt dus de essentiële voorwaarde dat zooveel mogelijk open lijders worden opgespoord. Daar zeker in de beide eerste perioden geen scheiding van tuberculeuze en niet tuberculeuze dieren plaats heeft, zullen nieuwe besmettingen blijven voorkomen. Te verwachten is dat dit systeem niet tot het doel voert.

Wel wordt gesproken over tuberculosevrije opfok van kalveren die tuberculosevrij geboren zijn en daarmee zou iets te bereiken zijn; mits er voldoende waarborgen zijn voor een goede scheiding. Het is echter zeer aan twijfel onderhevig of deze scheiding voldoende streng op zulke

bedrijven zal worden doorgevoerd, als er voor de volwassen dieren niet over scheiding gesproken wordt.

Men kan wel zeggen dat dit systeem alleen zoolang is gehandhaafd door de groote autoriteit van den ontwerper. Kritiek daarop is in Duitschland sedert 1924 uitgeoefend o.a. door RAUTMANN en PRÖ-SCHOLDT. In elke jaargang van de Deutsche tijdschriften kan men van deze schrijvers artikelen over dit onderwerp vinden. Het systeem is dan ook na den dood van VON OSTERTAG in 1941 officieel verlaten.

Als laatste opmerking valt te zeggen dat men er zich bij dit systeem altijd erg druk om gemaakt heeft om te bewijzen, dat onder de klinisch als verdacht aangewezen dieren er zooveel zijn, die bij sectie ook het ziektebeeld van „open tuberculose” vertoonen. Maar daar gaat het niet om. Men zou hebben moeten bewijzen, dat bij de als *niet* open lijders aangewezenen er werkelijk ook geen open lijders voorkomen en daar heeft men nooit over gesproken. Hier ligt de principieele fout in de opzet van het systeem.

II. Systeem BANG.

Dit systeem is aangegeven door B. BANG die te beschouwen is als de grondlegger van de geheele tuberculosebestrijding. BANG heeft zijn systeem voor het eerst beschreven en toegepast in 1892 (Centr. bl. f. Bakt.). In het kort komt het systeem hierop neer.

Alle runderen welke op een te onderzoeken bedrijf aanwezig zijn, worden aan een nauwkeurig klinisch onderzoek onderworpen en alle dieren met klinisch duidelijk waarneembare tuberculose worden voor de slachtbank bestemd. De overblijvende klinisch gezonde dieren worden nu getuberculineerd. Er volgt dan een streng doorgevoerde scheiding van reageerende en niet reageerende dieren zoowel op stal als in de weide. Liefst moet hiervoor apart stalpersoneel aangesteld worden. Zoodra zich bij een reageerend dier klinische verschijnselen voordoen, moet dit dier geslacht worden. De niet reageerende dieren worden jaarlijks getuberculineerd en eventuele reactiedieren gaan over naar de besmette afdeling. Kalveren mogen geen melk krijgen van reageerende moederdieren. Zij worden zoo spoedig mogelijk getuberculineerd en de reageerende worden direct geslacht. Nieuw aangekochte dieren moeten eerst klinisch worden onderzocht en getuberculineerd. De koppel niet tuberculeuze dieren wordt steeds aangevuld met jonge dieren, terwijl de besmette koppel steeds ingekrompen moet worden, totdat ten slotte de geheele veestapel uit tuberculosevrije dieren bestaat.

Kritische bespreking.

1. Alle dieren met klinisch duidelijk waarneembare tuberculose worden opgeruimd. Daarmee zullen misschien meer open lijders ver-

wijderd worden dan in het systeem OSTERTAG. Intusschen is dit alleen uitvoerbaar in streken met een relatief laag tuberculose-percentages daar anders het financieele bezwaar direct al veel te groot wordt om aan de bestrijding te beginnen.

2. Er is een streng doorgevoerde scheiding tusschen reageerende en niet reageerende dieren. De kansen van besmetting voor de niet reageerende dieren zijn hier uitteraard veel geringer dan bij het systeem VON OSTERTAG. In de *praktijk* is echter deze scheiding vooral op kleine bedrijven niet volledig door te voeren wegens de groote hoeveelheid extra werk en de noodzakelijke groote kosten die er aan verbonden zijn, want niet alleen tijdens de stalperiode *maar ook tijdens de weidegang* mag er geen contact bestaan tusschen de beide groepen van dieren.

3. Een regelmatig klinisch onderzoek van de reageerende dieren ontbreekt. Het bacterioscopische resp. verder bacteriologische onderzoek van secreta ontbreekt. Onder de reageerders blijven dus gevallen van open tuberculose onopgemerkt tot het tijdstip, waarop duidelijke klinische symptomen optreden. Door lekken in de isolatie van de vrije dieren blijft er een kans bestaan op nieuwe besmetting vooral van kalveren.

4. Er is een streng doorgevoerde tuberculosevrije opfok. De kans tot het opbouwen van geheel tuberculosevrije bedrijven is hier aanwezig en zeker veel grooter dan bij het systeem VON OSTERTAG. In diverse mededeelingen gedaan door BANG, o.a. op het Internationale Veeartsenijkundige Congres te Budapest in 1905, vinden wij *zeer gunstige resultaten beschreven*, welke behaald zijn in Denemarken, Zweden en op enkele bedrijven in Hongarije. Het meerendeel daarvan zijn echter groote bedrijven met voldoende personeel en voldoende kapitaalcrachtig om alle maatregelen nauwgezet door te voeren. Voor kleine en middelmatige bedrijven is het systeem echter niet in alle onderdeelen uitvoerbaar.

§ 3. Systemen in Nederland toegepast.

I. Overzicht van de werkzaamheden der ter zake ingestelde commissies.

In Nederland met zijn uitgebreide veestapel, welke ook uit het oogpunt der fokkerij zoo hoog staat, heeft men al vele jaren groote aandacht geschonken aan de bestrijding der tuberculose. Reeds aan het einde der vorige eeuw was men van het belang van een goede, stelselmatig doorgevoerde tuberculosebestrijding doordrongen. In 1896 werd een commissie benoemd om aan den desbetreffenden Minister een verslag uit te brengen over het vraagstuk van de bestrijding der rundertuberculose.

Deze commissie kon echter niet tot overeenstemming komen en het gevolg was een nieuwe commissie in 1898, welke een rapport uitbracht,

waarin zij tot de conclusie kwam, dat in het belang van den gezondheids-toestand van de veestapel en de uitvoerhandel van vee en in het belang van de volksgezondheid, maatregelen getroffen moesten worden tot de bestrijding van de tuberculose onder het rundvee.

De Minister maakte hier in 1901 een wetsvoorstel van, maar dit werd door het aftreden van het Ministerie weer terug genomen en zoo duurde het nog vier jaar eer er van een ernstige bestrijding iets kwam. In het wetsontwerp was sprake van verplichte aangifte van klinisch tuberculeuze dieren en van maatregelen betreffende den verkoop van op tuberculine reageerende dieren. Het was dus een bestrijding geworden onder Staats-toezicht. Door de intrekking van dit wetsontwerp is hiervan niets gekomen. Men ging in plaats daarvan over tot een vrijwillige bestrijdingsmethode met bijdrage in de kosten van Staatswege. In 1908 heeft een commissie bestaande uit den directeur der Rijksseruminrichting en enkele Districtsveeartsen een rapport uitgebracht over de sedert 1905 met deze methode behaalde resultaten. In 1911 heeft men echter om financieele redenen dit systeem verlaten en een ander vrijwillig systeem ingevoerd (zie blz. 83). In 1924 werd een commissie ingesteld door de Mij. voor Diergeneeskunde, op verzoek van de afd. Nrd. Holland, om een uitspraak te doen over het al of niet koopvernietigend zijn bij de bevinding positieve reactie na tuberculinatie bij het rund. Deze kwestie achtte men urgent, omdat de rest van ons land overstroomd werd met zgn. afgespoten runderen uit Friesland. Deze commissie kwam tot o.m. de volgende conclusies:

1. Tuberculosebestrijding onder het rundvee in Nederland is noodzakelijk.
2. Vrijwillige bestrijding moet voorop staan: het nemen van dwangmaatregelen kan de zaak niet bevorderen.
3. De Staat subsidieert verenigingen van bestrijders, welke aan de gestelde voorwaarden voldoen.
4. Aangifteplicht van klinisch tuberculeuze dieren, afzondering van deze dieren, blokkeeren en merken van reactiedieren is niet gewenscht.

Deze gegevens vormden den grondslag voor het sedert 1928 vigeerende bestrijdingssysteem (zie blz. 89). Toch werd de gang van zaken om verschillende redenen niet bevredigend geacht, zoodat in 1940 de zaak door de Mij. voor Diergeneeskunde opnieuw ter hand wordt genomen, door het andermaal instellen van een studiecmissie. Deze commissie handhaaft de conclusies van 1924 maar wil de gebieden, waarvoor intusschen in 1938 de bestrijding verplicht is gesteld, langzaam aan uitbreiden om tenslotte te komen tot een voor het geheele land verplichte tuberculosebestrijding.

Wij zien hieruit dat men tot het laatst toe steeds is blijven vasthouden aan een vrijwillige bestrijding zonder dwangmaatregelen. Dat men op deze wijze nooit alle veehouders tot deelname aan de bestrijding kon winnen, nam men dan op den koop toe evenals het feit, dat op deze

manier steeds een groote kans bleef bestaan om door aankoop van ongecontroleerd vee nieuwe besmettingsbronnen naar binnen te halen.

II. Systeem POELS-LOVINK.

Dit systeem is ingevoerd op 1 Januari 1901. Het berustte geheel op vrijwillige deelname der veehouders. Elke veehouder, die meende één of meer dieren te hebben, welke lijdende waren aan *klinisch waarneembare tuberculose*, kon deze dieren aan het Rijk ter overname aanbieden. Er vond dan van Rijkswege een klinisch onderzoek plaats met in aansluiting microscopisch onderzoek der secreta en als het dier bleek lijdende te zijn aan *open tuberculose*, werd het tegen taxatiewaarde door het Rijk overgenomen om geslacht te worden. Als eenige verplichtingen voor den veehouder stonden hiertegenover een koppelonderzoek bij al zijn vee, om eventueel nog meer open lijders op te sporen en het op des veehouders kosten reinigen en ontsmetten van de standplaatsen der overgenomen runderen. Tevens werd hij opmerkzaam gemaakt op de belangrijkheid van tuberculosevrije opfok van het jonge vee.

Kritische bespreking.

Het systeem vertoont wel verwantschap met dat van VON OSTERTAG, maar het bezit in zijn opzet toch ook belangrijke verbeteringen. Behalve de groote beteekenis, die aan een grondig klinisch onderzoek werd gehecht (met in aansluiting daaraan verwijdering van dieren, die verdacht werden aan open tuberculose te lijden), volgde ook een bacterioscopisch onderzoek van sputum en melk. Er worden dus ongetwijfeld meer open lijders aangewezen dan bij systeem BANG en systeem VON OSTERTAG.

Voor het verkrijgen van voldoende sputum heeft POELS zijn methode van tracheotomie en tracheapenseel uitgewerkt en hierdoor kwam het microscopisch sputumonderzoek ineens een stap vooruit, want vóór dien tijd werd dit microscopisch sputumonderzoek slechts sporadisch toegepast.

De zwakke zijde van het systeem was, dat een scheiding in reageerende en niet reageerende dieren niet werd doorgevoerd en dat tuberculosevrije opfok wel werd aanbevolen, doch niet verplicht gesteld. Men was zoo geheel op de vrijwilligheid van het systeem ingesteld, dat men door het verplichtend stellen van enkele essentiele voorwaarden niet de kans wilde loopen om de aantrekkelijkheid van het systeem te verminderen. Heel goed voelde men aan, dat een strenge scheiding op de kleine bedrijven niet door te voeren was en dat dan de medewerking der veehouders onvoldoende of zelfs zeer gering zou zijn.

Een tweede ongunstige factor in het systeem was, dat het zeer kostbaar werd. De veehouders begrepen het systeem niet goed of althans poogden langs dezen weg hun wrakke dieren, waarvan er zeer velen niet aan

klinische tuberculose doch aan andere ziekten lijdende waren, tegen een zeer goeden prijs aan het Rijk over te doen.

In de derde plaats werd toentertijd door de met het onderzoek belaste dierenartsen veel te weinig waarde gehecht aan het onderzoek van se- en excreta en bepaalde men zich tot tuberculinatie en physisch onderzoek.

Het systeem werd in hoofdzaak om de grootte kosten na 6 jaar vervangen door het volgende.

III. Rijkssysteem van 1911.

Dit systeem was strenger dan het voorgaande. Voorop stond weer de vrijwillige bestrijding, waarvan de kosten in beginsel voor rekening van de veehouders komen, maar onder bepaalde voorwaarden kan het Rijk bijdragen in de kosten van het onderzoek. De veestapel wordt onderzocht door dierenartsen, die door het Rijk waren aangesteld. Daarbij wordt ook van het microscopisch sputumonderzoek gebruik gemaakt. Alle dieren, waarbij *klinisch* waarneembare open tuberculose gevonden wordt, moeten binnen acht dagen tegen taxatiewaarde aan het Rijk overgedaan worden. Er is verplichting de standplaatsen te reinigen en te ontsmetten en tevens de kalveren tuberculosevrij op te fokken. Er zal een herhaald klinisch onderzoek van alle dieren plaats hebben en eventueel later gevonden open lijders zullen voor een vastgestelden prijs per kg slachtgewicht aan het Rijk overgedaan worden. Nieuw aangekochte dieren moeten eerst worden onderzocht, voor zij in de koppel worden opgenomen. Het is geoorloofd om ter onderscheiding in reageerende en niet reageerende dieren gebruik te maken van de tuberculinatieproef onder voorwaarde, dat de positief reageerende dieren gemerkt worden en uitsluitend voor de slachtbank verkocht zullen worden.

Kritische bespreking.

Hoewel het systeem een vrijwillige deelname aan de bestrijding voorop stelt, zijn er om in aanmerking te komen voor de Rijkssubsidie enkele bepalingen welke een zekere dwang niet uitsluiten. Onder deze zijn die van verplichte tuberculosevrije opfok en levering van later te vinden open lijders zeker gerechtvaardigd en niet belemmerend werkend op een normale veehouderij. Dit geldt ook voor het verplichte onderzoek van aangekochte dieren.

Geheel anders is het gesteld met de bepaling omtrent het merken en blokkeeren van reageerende dieren. De uitvoering van dezen maatregel is over het algemeen practisch niet mogelijk gebleken en dat is begrijpelijk, wanneer wij nagaan het vrij hooge percentage van dergelijke dieren, dat vooral in die jaren in verschillende deelen van Nederland aanwezig was. Hier werd te drastisch in de veehouderij en in den vee-

handel ingegrepen. In theorie was het ongetwijfeld een prachtige maatregel om binnen afzienbaren tijd de geheele veestapel (voor zoover deze dan aan het onderzoek onderworpen is) te zuiveren van alle tuberculouze dieren. Zoolang echter de bestrijding vrijwillig bleef en niet voor het geheele land werd voorgeschreven, zou het een te zwaar offer vergen van de aangesloten goedwillende veehouders ten opzichte van hen, die zich afzijdig hielden.

Het is vooral om deze laatste reden dat dit systeem nooit populair is geworden, waardoor dus een bloeiende georganiseerde tuberculosebestrijding niet kon ontstaan.

IV. Vrijwillig systeem van den Frieschen Gezondheidsdienst voor Vee.¹⁾

De grondslag voor dezen dienst werd reeds in 1900 gelegd door den heer J. TIMMER te Kimswerd, die had ingesteld, dat aan de door hem geleide zuivelfabriek alleen melk verwerkt mocht worden van veebeslagen, waarin geen dieren met tuberculose voorkwamen. Men deed dit in hoofdzaak met het doel te kunnen waarborgen, dat aan het jonge vee slechts ondermelk resp. wei zou worden verstrekt, welke geen tuberkelbacillen bevatte (tuberculosevrije opfok). De dienst werd opgericht door samenwerking van het Friesche Rundvee Stamboek en den Bond van Coöperatieve Zuivelfabrieken (1919).

Bij het toegepaste systeem worden door middel van de tuberculineproef de dieren gescheiden in reageerende en niet reageerende. Door klinisch onderzoek, ondersteund door microscopisch onderzoek van sputum en of melk resp. andere secreta, wordt getracht de lijders aan open t.b.c. aan te wijzen. Deze worden onherroepelijk uit het veebeslag verwijderd. De reactiedieren worden niet gemerkt, voor niet reageerende wordt desverlangd een certificaat afgegeven.

Wel wordt het afzonderlijk opstallen der reageerende dieren bepleit, maar een zeer strenge scheiding wordt niet doorgevoerd. Veel gewicht wordt gehecht aan de tuberculosevrije opfok. De aansluiting der veehouders bij den Dienst geschiedt fabrieksgewijze, hoewel er vooral in den aanvang geen volstreekte dwang was, dat alle leveranciers van een zich aansluitende fabriek zich met de t.b.c.-bestrijding zouden bezig houden.

Men heeft met dit systeem in Friesland zeer fraaie resultaten bereikt. Voor de uitvoerige beschrijving daarvan verwijzen wij naar de jaarverslagen van dezen dienst.

Wij vermelden slechts den stand van zaken zooals deze in het laatste jaarverslag wordt geschetst, waarbij o.a. de toestand in het seizoen

¹⁾ Voor uitvoeriger beschouwingen omtrent de in Nederland thans toegepaste bestrijdingsmethoden, verwijzen wij naar het artikel van 't HOOFT:

Tuberculosebestrijding onder het rundvee in de laatste 25 jaar (Tijdschr. v. Diergeneeskunde 1937 blz. 1130).

1931/32 vergeleken wordt met dien van 1941/42 voor die bedrijven, waarin het systeem gedurende 10 jaar werd toegepast.

Jaar	Onderzocht		Reageerders		Vrije bedrijven		Aantal dieren per bedrijf
	Aantal bedrijven	Aantal dieren	Aantal	Percentage	Aantal	Percentage	
1931/32	1894	59.358	8703	14.7	685	36.2	31.3
1941/42	1894	60.497	1766	2.9	1522	80.4	31.9

Voor alle bij den dienst aangesloten bedrijven kunnen de volgende gegevens vermeld worden.

Aantal bedrijven		Aantal dieren		Aantal reageerders		Percentage reageerders		Vrije bedrijven			
								Aantal		Percentage	
40/41	41/42	40/41	41/42	40/41	41/42	40/41	41/42	40/41	41/42	40/41	41/42
11940	13666	238712	261124	17758	17649	7.4%	6.75%	8162	9664	69%	70%

Deze zeer gunstige resultaten zijn *niet alleen* door toepassing van dit systeem verkregen. De daling van het percentage reageerende dieren is niet onbelangrijk bevorderd door de in de laatste jaren geopende mogelijkheid bij afslachting resp. verplichte inkrimping van den veestapel in het bijzonder reageerende dieren ter aflevering aan te bieden. Hierdoor zullen ook een aantal *niet onderkende* open lijders uit den veestapel worden verwijderd. Wij komen op dit punt nader terug.

Met hoeveel vertrouwen men bij den Dienst de toekomst tegemoet ziet blijkt wel uit de uitspraak in het laatste verslag (1941/42):

„Al is in enkele streken de t.b.c. vrijwel uitgeroeid, wij moeten niet rusten voor „en aler alle bedrijven vrij zijn gemaakt. In sommige streken van onze provincie „ligt dit einddoel dicht bij, in andere deelen schijnt het nog ver af, maar wij weten „dat het verkrijgen van een t.b.c.-vrij Friesland mogelijk is en wat niet minder be- „langrijk is, wij weten hoe dit bereikt kan worden.

Kritische bespreking.

Het is hier niet de plaats uitvoerig stil te staan bij den invloed die de verkoop van reageerende dieren naar andere provinciën op de verbreiding der t.b.c. aldaar heeft gehad. Wie zich daartegen wilde wapenen kon een dier koopen met een bewijs, dat het bij de jongste tuberculatie

niet reageerde. Wie dit niet deed kon verwachten, dat hij zich een reageerder aanschafte.

De leiding van den Dienst is er zich sedert 1935 van bewust geweest, dat de toegepaste werkwijze geen waarborg inhield, dat de bestrijding *zoo snel mogelijk* tot het doel voerde. Men wees bij herhaling op de mogelijkheid dat de pasteurisatie der teruggeleverde bijproducten (ondermelk, wei) onvoldoende werd uitgevoerd, waardoor de tuberculosevrije-opfok van het jonge vee in het gedrang kwam. Tot dit zelfde euvel voerde ook de onvolledige scheiding tusschen reagerende en niet reagerende dieren. Het gevaar hiervan is uit den aard evenredig aan het aantal niet opgespoorde „open-lijders” die op het bedrijf zijn achtergebleven. Daartegen werden drie middelen in het veld gebracht.

1. Men drong er bij de dierenartsen op aan het jaarlijksch klinisch onderzoek zoo zorgvuldig mogelijk uit te voeren en zooveel mogelijk monsters sputum enz. ter microscopisch onderzoek op te zenden.

Het microscopisch onderzoek van sputum wordt in dezen dienst zeer veelvuldig toegepast. Immers het jaarverslag 1941/42 vermeldt, dat er in dat jaar 17.649 reageerders werden opgespoord, terwijl 12.472 monsters sputum werden onderzocht. Schattenderwijs kan men dus zeggen, dat bij $\frac{2}{3}$ der reageerders sputumonderzoek is verricht. Het hangt nu maar af van de zorgvuldigheid waarmede het klinisch onderzoek is uitgevoerd en of met het resultaat daarvan rekening is gehouden bij de keuze der dieren, waarbij het sputum microscopisch is onderzocht of er onder het niet onderzochte derde deel veel of weinig open lijders zijn achter gebleven. Maar onder het onderzochte $\frac{2}{3}$ deel zullen gezien de bij onze onderzoekingen verzamelde gegevens zeker meer dan de 97 in dat jaar aangetroffen open lijders aanwezig geweest zijn (zie ook blz. 95).

2. Het werd bij veehouders — aangesloten bij fabrieken, met een laag reactie-percentagc onder de melk leverende dieren — noodig geoordeeld het klinisch onderzoek *tweemaal* per jaar te herhalen onder opvoering van de frequentie van het microscopisch onderzoek. Er is wel bepleit dit tweede onderzoek in den zomer te verrichten, wanneer de dieren in de weide zijn, maar om technische redenen geven vele dierenartsen er de voorkeur aan dit in April, op stal uit te voeren (Jaarverslag '41/42).

3. Men streefde naar een verfijning van de laboratorium-techniek bij het onderzoek van sputum, melk, uterussecretum. Immers in het jaarverslag '38/39 zegt wijlen Dr. VEENBAAS:

„Zooals reeds eerder aangehaald is het noodzakelijk, dat het microscopisch onderzoek door andere onderzoekingsmethoden wordt aangevuld. Hiervoor komen dan „in aanmerking het aanleggen van culturen en het inspuiten van proefdiertjes. Hoewel „het cultureel onderzoek de laatste jaren zeer verbeterd en het ons ook gebleken is, „dat b.v. de bodem volgens PETRAGNANI, welke wij gebruiken, zich door toe-

„voeging van bepaalde stoffen nog wel laat verbeteren, is het toch niet doenlijk, doordat „in de meeste gevallen het materiaal waarvan wordt uitgegaan te zeer verontreinigd „is, deze methode op groote schaal toe te passen. Wel kan het gebruik van culturen „bij het onderzoek van melk goede diensten bewijzen.¹⁾

„Voor het sputum zijn we dan ook aangewezen op de cavia. Ingespoten zijn 228 „monsters sputum bij 169 cavia's. Van deze ingespoten cavia's zijn 19 (ingespoten „met 28 monsters sputum) binnen 3 weken na de injectie gestorven, zoodat we deze „buiten beschouwing moeten laten. Bij 150 cavia's zijn dus ingespoten 200 monsters „sputum, waarin microscopisch geen t.b.c.-bacillen werden aangetroffen: 32 proef- „dieren bleken tuberculeus te zijn geworden, wat m.a.w. wil zeggen dat in 15% der „microscopisch negatieve monsters toch tuberkelbacillen aanwezig waren. Nu moet „direct opgemerkt worden, dat het hier geen 200 willekeurige monsters betrof, maar „dat ze alle afkomstig waren van of verdachte koeien of van koeien uit verdachte stallen, „uit stallen dus waar volgens de anamnese een of meer smetstofverspreiders aanwezig „moesten zijn, maar bij het gewone onderzoek geen bepaalde aanwijzingen werden „gevonden.

De aandrang tot het toepassen van de cavia-proef treft men het eerst aan in het jaarverslag '34/35. Definitieve resultaten worden niet gemeld, totdat wij in het verslag over '37/38 lezen:

„Van de 131 met sputum ingespoten cavia's, in welk sputum microscopisch geen „tuberkelbacillen werden aangetoond zijn 24 (of ruim 18%) ontijdig gestorven: 31 „of ruim 24% bleken aan tuberculose te lijden toen ze werden afgemaakt. Het aantal „geconstateerde open lijdens zou dus vermoedelijk nog belangrijk vermeerderen, „als alle sputa bij cavia's werden ingespoten, zij het dan, dat de dieren in een vroeg „stadium werden opgeruimd. Ten einde niet te veel cavia's te gebruiken spuiten we „voor het onderzoek van sterk geïnfecteerde bedrijven telkens het sputum van groepen „van vier koeien in, waaraan echter het bezwaar vast zit van een later te herhalen „onderzoek van individuen uit bepaalde groepen, waarvan één cavia tuberculeus is „gevonden. Dit bezwaar trachten we op te heffen door sputum van de verdachte dieren „ieder afzonderlijk in te spuiten.

„Toch heeft de ervaring geleerd in bedrijven, welke we systematisch met behulp „van de cavia controleren, dat op deze wijze open lijdens in een jong stadium kunnen „worden opgeruimd en het succes van de bestrijding zelfs in sterk besmette bedrijven „groot is. Dit onderzoek echter stelt aan den veehouder den eisch van absoluut ver- „trouwen in de mogelijkheden van dit onderzoek, omdat het niet voor ieder gemakke- „lijk valt aan te nemen, dat in dat stadium de dieren moeten worden opgeruimd.

Ten slotte vinden wij hierover in het jaarverslag '39/40:

„Het aantal open lijdens dat opgespoord werd bedroeg dit jaar 230. Hiervan zijn „28 gevonden door proefdieronderzoek. Het proefdieronderzoek heeft zich dit jaar „bepaald tot 98 monsters sputum, ingespoten bij evenzoveel cavia's en tot 107 mon- „sters sputum ingespoten bij 39 cavia's. Het betrof hier monsters sputum van klinisch „verdachte koeien uit verdachte stallen, waarbij het microscopisch onderzoek geen „zekere aanwijzingen kon geven.

Wij willen naar aanleiding van deze mededeelingen nog bij een aantal punten stilstaan.

¹⁾ De dissertatie van Dr. VAN WOERDEN „De primaire cultuur van den Bacillus Tuberculosis typus Bovinus en hare diagnostische waarde", waarin dit voor den voedingsbodem volgens PETRAGNANI werd aangetoond verscheen in 1931.

Er wordt over de techniek der inspuiting niets vermeld. Het hooge percentage dieren dat intercurrent sterft (onder 169 in '38/39 ingespotenen 19, (= $\pm 11\%$) en in '37/38 wel 24 onder 131 (d.i. 18%) maakt het hulpmiddel niet aantrekkelijk. Of zwavelzuurbehandeling van het sediment vóór de inspuiting werd toegepast wordt niet vermeld. Toepassing op grooter schaal stuit af op het groote aantal proefdieren dat dan noodig is. Het hulpmiddel van de „groepswijze” inspuiting moet inderdaad gebrekkig genoemd worden.

Maar welke is nu de mate waarin het werd uitgevoerd?

Hierover geeft onderstaand tabelletje uitslag.

Jaar	Aantal reageerders	Aantal micr. onderzocht	Aantal door cavia onderzocht	Open lijders	
				Totaal	Cavia-proef
1937—1938	20270	9719	131 ¹⁾	311	31
1938—1939	19072	11040	228	318	32
1939—1940	14390	8217	205	230	28

Men ziet dat het aantal dieren waarbij de caviaproef werd toegepast wisselt tusschen ± 1 à $1\frac{1}{2}\%$ der reageerders en ongeveer 2% is van het aantal microscopische onderzoekingen. Dat is wel een zeer bescheiden omvang. En toch werden daarbij 10% der totaal aangetroffen open lijders opgespoord! Erkend dient te worden, dat het hier koeien betrof die „klinisch verdacht waren of van verdachte stallen”. Maar hoeveel „open lijders” zouden worden aangetroffen, indien niet bij 1 à $1\frac{1}{2}\%$ maar bij 10 , 15 of 20% der reageerders dit onderzoek was toegepast! Het vinden van zooveel aan open t.b.c. lijdende dieren, onder koeien, waarbij het microscopisch onderzoek van het sputum een negatief resultaat opleverde, heeft wel indruk gemaakt. Was dan de tot dien gevolgde werkwijze zoo onbetrouwbaar? Men trachtte zich te troosten en zoo lezen wij in het verslag '37/38:

„Van 109 gecontroleerde secties bleken 107 te lijden aan longtuberculose waarbij „69 gevallen van luchtpijptuberculose voorkwamen. Bovendien kwam nog een geval „van luchtpijp-t.b.c. voor, zonder dat long-t.b.c. geconstateerd kon worden. Dit „groot aantal gevallen van zweren in de trachea wijst wel op de noodzaak zooveel „mogelijk de diagnose te stellen door sputumonderzoek. *Het feit dat bij microscopisch „negatief resultaat, caviaonderzoek bij positieven uitslag in het algemeen weinig uitgebreide „processen aan het licht brengt, pleit in zoverre voor het microscopisch onderzoek, dat bij „voldoende nauwkeurigheid niet al te groote fouten worden gemaakt.* (Cursiv. M)

¹⁾ Er wordt slechts opgegeven dat 131 cavia's met sputum zijn ingespoten, waarvan een deel met sputa van vier koeien. Op hoeveel dieren dit onderzoek betrekking heeft is niet na te gaan. Het moet dus liggen tusschen 131 en 4×131 .

En in dat van '38/39 lezen wij:

„dat het hier over het algemeen dieren betreft met tuberculeuze processen van vrij „geringe afmetingen, dat we dus met het gewoon microscopisch onderzoek van — en „dat is hierbij een factor van groot belang — goed materiaal wel de groote smetstof- „verspreiders vinden.

Wij merken op, dat ook onder de door ons met de kweekmethode opgespoorde gevallen van open t.b.c. zooveel dieren met weinig uitgebreide tuberculeuze leasies in de trachea (resp. bronchiën) worden gevonden. Of het juist is, dat deze dieren daarom weinig bacillen uitscheiden en dus niet zulk een groot gevaar zouden opleveren, zooals de uit de verslagen aangehaalde zinsneden trachten te suggereeren, moge in het midden gelaten worden.

Het is jammer, dat Dr. VEENBAAS toepassing der kweekmethode afwijst (Verslag '38/39) met de enkele aan den voedingsbodem van PETRAGNANI gewijde woorden. Wij herinneren er aan, dat ook ons deze bodem niet de meest geschikte leek (zie hoofdstuk 4 § 2 blz. 43). Het bezwaar van het sterk bacteriologisch verontreinigd aan het laboratorium komen van het materiaal geldt blijkens de vele intercurrent stervende proefdieren evenzeer voor de caviaproef, als voor de door hem toegepaste kweekmethode. In een dienst met zoovele hulpmiddelen als de Friesche is dit toch te ondervangen, door goed georganiseerd direct transport van serie's sputa per auto naar het laboratorium. Wij vestigen er ten slotte de aandacht op, dat wij met de kweekmethode onder 379 klinisch verdachte dieren resp. dieren van verdachte stallen ongeacht de klinische bevinding, met bacterioscopisch negatief sputum 44 of 11.6% open lijdens vonden (zie blz. 71). In den Frieschen Dienst vond men in twee jaren ('38/39 en '39/40) onder 433 verdachte dieren met de caviaproef 50 open lijdens of ruim 11%. Het is natuurlijk zeer de vraag of de beide groepen dieren vergelijkbaar zijn, maar de door ons gevonden cijfers pleiten toch zeker niet ten nadeele van de kweekmethode.

Juist nu het aantal bedrijven, waarop nog groepen reageerders aanwezig zijn, tengevolge van de afslachting der reageerende dieren onder de inkrimping van den veestapel, zooveel geringer is geworden, zal men ook in den Frieschen Dienst door systematische toepassing van de door ons beschreven kweekmethode de open lijdens veel scherper kunnen opsporen en het trotsche doel „een tuberculose-vrije Friesche veestapel“ veel sneller kunnen bereiken.

V. Vrijwillig systeem van 1928 met Rijkssteun.¹⁾

Gedurende de periode, waarin de Friesche bestrijdingswijze zich baan brak, was in het overige deel van Nederland het systeem van 1911 van

¹⁾ Voor uitvoeriger beschouwingen omtrent de in Nederland thans toegepaste bestrijdingsmethoden, verwijzen wij naar het artikel van 't HOOFT: Tuberculosebestrijding onder het rundvee in de laatste 25 jaar (Tijdschr. v. Diergeneeskunde 1937 blz. 1130).

kracht (zie blz. 83) waarbij de strijd tegen de tuberculose door particuliere organisaties gevoerd werd. Inmiddels was de nieuwe Veewet (van 26 Maart 1920 S. 153) tot stand gekomen en op 5 Juni 1922 in werking getreden. Volgens art. 47 van deze wet kan de Regeering steun verleen en aan maatregelen ter bestrijding der tuberculose onder het rundvee. Een op dit artikel berustend K.B. van 25 April 1922 (S. 219) kwam tot stand, doch is slechts sporadisch uitgevoerd. Toch kwam uit de kringen van belanghebbenden de stellige wensch naar voren om de bestrijding doeltreffender door te voeren (commissie van de Centrale Landbouworganisaties, het Ned. Rundvee Stamboek en van de Federatie van Nederlandsche Bonden van Zuivelfabrieken in 1924). De noodzakelijkheid daarvan wordt o.m. aangetoond in de jaarverslagen van den Veterinair Hoofdinspecteur van de Volksgezondheid, belast met het toezicht op de uitvoering van de Vleeschkeuringswet, waaruit blijkt, dat in sommige keuringsdiensten bij meer dan 30% der geslachte runderen tuberculose werd aangetroffen. De schade aangericht door deze ziekte wordt op circa 4 miljoen gulden per jaar geschat!

Er zijn in dezen tijd twee bestrijdingswijzen toegepast, die op een belangrijk punt tegenover elkaar staan t.w. de reeds beschreven „Friesche methode” (zie blz. 84) met vrijlaten van de reactiedieren en de z.g.: „Hollandsche en Limburgsche” methode waarbij de *reageerende dieren op het bedrijf worden geblokkeerd*, totdat zij voor de slachtbank worden afgeleverd. Om aan de deswege gerezen bezwaren tegemoet te komen ontwikkelde Prof. Dr. BERGER (t. d. t. Directeur van den Veeartsenijkundigen Dienst) een nieuw systeem, dat in 1928 tot uitvoering kwam. De grondslag hiervan luidt: *Vrijwillige bestrijding door de veehouders (resp. hunne organisaties) met voorlichting en steun, zoo mogelijk ook financiële steun van de zijde van de Regeering*. Er werd voorgesteld de reageerende dieren niet te blokkeeren, doch van een blijvend merkteeken te voorzien (rond gat in de linker oorschelp). Hierdoor zouden zij voor een ieder duidelijk zijn aangewezen.

Er werd speciaal voor de tuberculosebestrijding een Inspecteur van den Veeartsenijkundigen Dienst in algemeenen dienst aangesteld, om door goed geleide en intensieve propaganda de bestrijding algemeen ingang te doen vinden. Met vooropstelling van het „vrijwillige” werden provinciale vereenigingen opgericht, die de bestrijding volgens de voorschriften der Regeering zouden uitvoeren. De desbetreffende voorschriften zijn neergelegd in:

- 1e. Kon. Besluit van 25 Mei 1928 S. 193;
- 2e. Min. Besch. van 22 Sept. 1928 S. 186, later gewijzigd bij Min. Besch. van 30 Oct. 1934 S. 209 en
- 3e. Besch. van de Directeur van den Veeartsenijk. Dienst van 17 Dec. 1928.

Hierbij werd aangegeven, wie voor financieelen steun in aanmerking konden komen en werden tevens de verplichtingen der veehouders

nader omschreven. De gevolgde werkwijze omvat het volgende:

1. Al het vee der deelnemende veehouders wordt minstens eenmaal per jaar klinisch onderzocht en getuberculineerd.

2. Dieren die blijken te lijden aan open t.b.c. (of die daarvan ernstig worden verdacht!) worden opgeruimd.

Wij teekenen hierbij aan, dat omtrent het instellen van microscopisch (of op andere wijze uitgevoerd) sputumonderzoek (of uiersecretum) geen bindend voorschrift wordt gegeven. Wel wordt gratis onderzoek van ziektestoffen toegezegd.

3. Reageerende dieren worden gemerkt.

4. De veehouders zijn verplicht den tuberculose-vrijen opfok van hun jonge vee zooveel mogelijk te bevorderen.

Als groote steun kan daarbij worden genoemd:

5. De krachtens het K.B. van 23 Febr. 1922 (S. 77) ter uitvoering van art. 8 der Veewet aan de zuivelfabrieken opgelegde verplichting tot pasteurisatie van aan de veehouders terug te leveren bijproducten (ondermelk en wei¹).

Het systeem bevat dus geen definitieve verplichting tot scheiding der reageerende en niet reageerende volwassen dieren, voor het jonge vee moet dit „zooveel mogelijk” bevorderd worden.

Tegenover deze verplichtingen werden tegemoetkomingen toegezegd bij opruiming van „open-lijders” — resp. van dieren, die daarvan werden verdacht — en in de kosten van het onderzoek. Tuberculine werd gratis verstrekt, evenals het verrichten van onderzoek van ziektestoffen bovengenoemd.

Groei van de tuberculosebestrijding volgens dit systeem.

Men begon in 1928 de bestrijding op deze wijze in twee districten t.w. Noord-Holland (benoorden het IJ) en Noord-Brabant en Limburg (in deze stukken Zuid-Nederland genoemd). Er waren 3785 aangesloten veehouders met te zamen 36.330 runderen waaronder 21% reageerende dieren.

Allengs werden in andere deelen van ons land, hetzij plaatselijke, hetzij grootere gebieden omvattende vereenigingen (z.g. provinciale organisaties) opgericht, zoodat omstreeks 1936 in het geheele land voor de veehouders gelegenheid bestond, zich bij deze georganiseerde bestrijding aan te sluiten. Verschillende factoren hebben deze aansluiting belemmerd en bevorderd. Onder de eersten noemen wij, dat eind 1934 aan de organisaties moest worden medegedeeld, dat geen nieuwe leden meer mochten worden aangenomen, omdat de aan den Dienst voor dit doel bij de Be-grooiting toegewezen middelen waren uitgeput. Bekend is dat men

¹) Men zie echter de technische bezwaren tegen pasteurisatie van wei ontwikkeld in het verslag der Commissie uit de Mij voor Diergeneeskunde. Tijdschr. v. Diergeneesk. 1939 blz. 1024.

bepaalde Rijksinkomsten t.w. overschotten van keurloozen van voor uitvoer gekeurd vee en vleesch heeft aangewend om nog zooveel mogelijk op het terrein der t.b.c.-bestrijding te kunnen doen. Doch ook dit ongewone hulpmiddel was ontoereikend om de wassende stroom van uitgaven te kunnen bestrijden. Er waren toen aangesloten ongeveer 24.000 veehouders met ongeveer 319.000 runderen, reactie percentage voor dieren boven 2 jaar 23.7% en voor jongere dieren 2.7%. Men telde ongeveer 13.500 „vrije bedrijven” (ongeveer 55% der aangeslotenen). Bedenkt men dat in Nederland toen zeker meer dan 2 miljoen runderen werden gehouden, dan ziet men dat nog maar een vrij gering deel van den rundveestapel in het onderzoek was betrokken. Men heeft daarom een hulpmiddel toegepast, waarbij behalve de groep met volledige rijkssteun werkende leden (A leden) ook B leden werden toegelaten. Voor deze golden alleen de voordeelen, pasteurisatie-gebod, gratis tuberculine en gratis onderzoek van ziektestoffen. *Het merken der reactiedieren was voor deze leden (meestal) niet verplicht.*

Op andere wijze werd de strijd door overheidslichamen en semi-overheidsorganen gesteund. Sommige provinciale en gemeentelijke besturen verleenden financiële steun, vaak voor belangrijke bedragen. (Gemeente Amsterdam). Voor hen, die daardoor gesteund werden op den voet der Rijks-regeling, golden dan weer alle verplichtingen o.a. het merken der reactiedieren.

Van de maatregelen der semi-overheidslichamen noemen wij de volgende. De Nederlandsche Veehouderij Centrale stelde in 1933 en '34 de gelegenheid open tot levering van reageerende dieren, behoorende aan leden der tuberculose-bestrijdingsverenigingen (ongeveer 6000 werden er in den winter 1933/34 geleverd). In den winter van 1934/35 gold daarbij de bepaling, dat het bedrijf door deze levering „tuberculosevrij” moest worden, anderzijds werd het aantal per bedrijf te leveren dieren beperkt: circa 11.000 reactiedieren werden aan den veestapel onttrokken. Hoewel men erkentelijk moet zijn voor deze bijdrage, dient toch te worden vastgesteld, dat de invloed van dezen maatregel op de tuberculose frequentie in het geheele land niet mag worden overschat. Men telde in deze jaren onder de dieren der veehouders, die bij de Rijksregeling of bij den Frieschen Dienst waren aangesloten alleen al \pm 75.000 reageerders en deze groepen omvatten misschien 1/4 à 1/5 van den geheelen veestapel.

De N.V.C. stimuleerde de aansluiting van veehouders bij de t.b.c.-bestrijding op andere wijze. Aangeslotenen mochten in die jaren meer „reserve-kalveren” aanhouden dan niet aangeslotenen; aan tuberculosevrije bedrijven werd toegestaan meer „boventallige kalveren” aan te houden.

Ook de Nederlandsche Zuivelcentrale (N.Z.C.) bevorderde de tuberculosebestrijding onder het rundvee. In het z.g. „wettelijk consumptiemelkgebied” (Provinciën N. en Z. Holland en Utrecht) werd een premie-

stelsel ingevoerd. Tuberculose-vrije bedrijven ontvingen een zeker bedrag per rund; bij daling van het reactie-percentage werd een toeslag op de melkprijs uitgekeerd. De uitvoering van dit stelsel geschiedde onder leiding van den Veeartsenijkundigen Dienst, door de Consumptie-melk-centrale (C.M.C.), terwijl ook de Algemeene Vereeniging voor Melkvoorziening (A.V.M.) hare medewerking verleende.

Het is hier de plaats om er op te wijzen, dat de moeilijkheden bij de tuberculosebestrijding in dit gebied grooter zijn dan elders. Er is in deze streken een zeer hoog reactie-percentage, mede tengevolge van het veelvuldig aankopen van dieren uit andere provinciën. De melkvoorziening der groote steden maakt nu eenmaal geregelden aanvoer van „versche” koeien noodig. Deze dieren worden betrekkelijk kort aangehouden (afmelk-systeem), waarna zij worden verkocht. De veehouders vreesden, dat het verplichte merken tot waardevermindering zou voeren. Aangestipt moge hier worden, dat de desbetreffende bepalingen uit „Warenwet” en „Melkbesluit” (K.B. van 13 Febr. 1929 S. 93: sedert bij herhaling gewijzigd), waarbij aflevering van melk van dieren, die aan „open tuberculose” lijden, strafbaar is gesteld, in dezen strijd geen effect hebben gehad.

De veehouders in dit gebied bleven dan ook langen tijd afzijdig staan van de t.b.c.-bestrijding. Maar de door de N.Z.C. resp. C.M.C. in uitzicht gestelde premies hebben stimuleerend gewerkt op de deelneming. Het mag hier wel worden vastgelegd, dat deze premies werden voldaan uit een bepaald bedrag, dat in rekening werd gebracht bij den inkoopsprijs van de melk, welke de melkverkoopers (melkinrichtingen, slijters enz.) moesten betalen. Bij den verkoopprijs aan het publiek is eveneens met deze fractie rekening gehouden. Uiteindelijk zijn de kosten van dit deel der bestrijding dus direct door de consumenten, via de melkinrichtingen, opgebracht.

Reeds in 1924 heeft Prof. VAN OYEN er op gewezen (zie ook rapport tuberculosebestrijding. Tijdschr. v. Diergeneesk. 1939 blz. 1017), dat alleen op deze wijze een algemeene bestrijding mogelijk zou zijn. In 1938 werd dit laatste voor de consumptie melkvoorziening practisch bereikt, toen de C.M.C. het deelnemen aan de tuberculosebestrijding voor alle bij haar aangesloten leveranciers verplicht stelde. Wij zien hier dus, dat voor den individueelen veehouder het beginsel der „vrijwilligheid” is verlaten, al werd dit besluit door de organisatie (C.M.C.) zonder eenigen overheidsdwang, dus volkomen vrijwillig genomen.

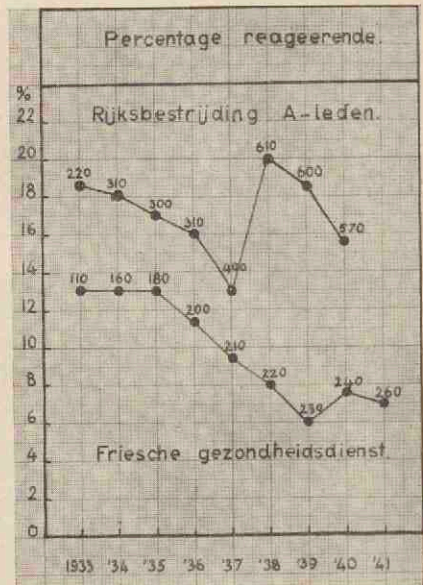
Voor de overige veehouders in dit gebied, die zelf van hun melk kaas bereidden, of haar aan een zuivelfabriek afleverden gold deze verplichting niet. Volgens een courantenbericht zou in begin 1943 deze verplichting aan alle Nederlandsche veehouders worden opgelegd. Daarmede zou dan de overgang der „vrijwillige bestrijding” tot de „verplichte” voltooid zijn.

Bereikte resultaten.

Een denkbeeld van den groei van de tuberculosebestrijding in de laatste jaren geeft Tabel No. 16. Deze cijfers zijn in hoofdzaak ontleend aan de verslagen van den Directeur van den Veeartsenijkundigen Dienst over de jaren 1933—1939. De Inspecteur bij dezen Dienst de Heer VENEMA was zoo vriendelijk, de nog niet gepubliceerde cijfers over de latere jaren, voor zoover zij te zijner beschikking stonden, aan ons te zenden. Wij zijn hem daarvoor zeer dankbaar.

Men ziet in grafiek No. I, dat in de jaren 1933—1937 ondanks een geleidelijke verdubbeling van het aantal onderzochte dieren, het percentage reageerenden van 18.5% op 13 daalt. Doch dan volgt in 1938 een toeneming van het aantal onderzochte dieren met 50%, welke dieren zich vooral in het westen des lands bevonden. Het reactie-percentage stijgt tot 20%. De jaren der inkrimping van den veestapel vangen dan aan, het aantal onderzochte dieren stijgt niet meer. Het reactie-percentage daalt tot 16%. Ter vergelijking brachten wij de corresponderende cijfers van den Frieschen Gezondheidsdienst ook in beeld. Men ziet dat in de jaren 1933—1935 de invloed van de sterke stijging van het aantal onderzochte dieren, daling van het reactie-percentage tegenhield, daarna begint bij langzamere toeneming van het aantal onderzochte dieren tot 1939 een geleidelijke daling van het percentage reageerenden tot op ongeveer de helft.

Grafiek No. I



De cijfers boven de ●-teekens geven het afgeronde aantal onderzochte dieren aan in 1000-tallen.

In de linkerhelft van grafiek No. II (blz. 96) ziet men dat het aantal „open lijdens” per 1000 reageerende bij de Rijksbestrijding grooter is dan bij den Frieschen Dienst. Onder dezen titel figureeren bij eerstgenoemde bestrijdingswijze een belangrijk aantal dieren, waarvan op grond van het klinisch onderzoek wordt aangenomen, dat zij ernstig verdacht zijn van te lijden aan open t.b.c. en die derhalve uit den veestapel worden verwijderd. Bij den Frieschen Dienst betreft dit alleen dieren, waar men

TABEL No. 16.

Tuberculosebestrijding in Nederland 1933—1942.

Jaar		Aantal		% reageerders	Aantal open lijders	Idem 1000 onderzoe-kingen	per 1000 reageer-	Sputum mon-sters onderz.	Idem per 1000 reag.
		onder-zochte dieren	reagee-rende dieren						
33/34	A	224908	41538	± 18.5	1080	± 41	± 26	2522	± 60
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	116842	14793	± 13	242	± 20	± 16	4575	± 300
34/35	A	318689	56659	± 18	1011	± 32	± 18	5907	± 100
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	163000	21190	± 13	292	± 18	± 15	6536	± 300
35/36	A	304080	51212	± 17	1083	± 36	± 20	5760	± 110
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	181154	24492	± 13	412	± 23	± 17	8305	± 340
36/37	A	314816	50335	± 16	959	± 30	± 19	7324	± 150
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	199372	23137	± 11.5	361	± 18	± 15	10024	± 435
37/38	A	406116	54190	± 13	961	± 21	± 18	5809	± 110
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	210450	20270	± 9.5	277	± 13	± 14	9719	± 500
38/39	A	610031	120917	± 20	2962	± 49	± 25	7748	± 64
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	228901	19072	± 8	280	± 12	± 15	11040	± 600
39/40	A	604260	111222	± 18.5	3529	± 60	± 32	16069	± 140
	B	72284	6564	± 9	68	± 9	± 10	—	—
	C	231678	14390	± 6	330	± 10	± 23	8217	± 570
40/41	A	577478	89116	± 15.5	2260	± 40	± 25	10673	± 100
	B	120311	11533	± 10	96	± 8	± 9	—	—
	C	238712	17758	± 7.5	239	± 10	± 13	9771	± 540
41/42	A	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	—	—	—	—	—	—	—	—
	C	261124	17649	± 7	97	± 4	± 6	12472	± 650

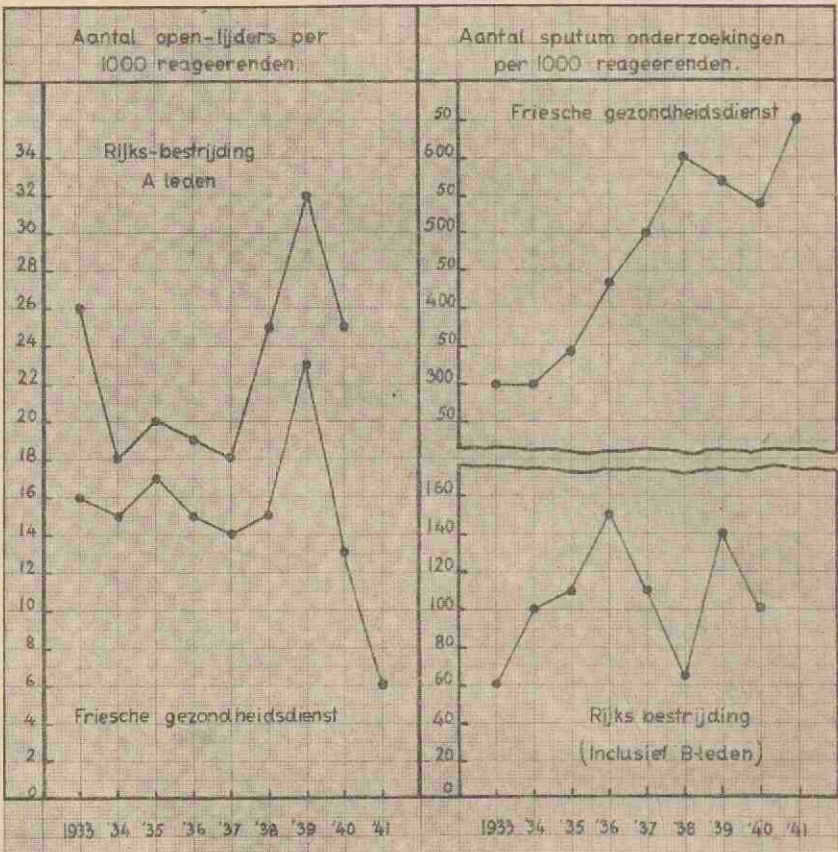
A. Dieren vallende onder de „bestrijding met Rijkssteun”.

B. Dieren bij idem, maar behorende aan z.g. B.-leden.

C. Dieren vallende onder de bestrijding door den Gezondheidsdienst voor Vee in Friesland.

bij microscopisch onderzoek of caviaproef t.b.c.-bacillen in sputum of andere secreta aantrof. In beide diensten werden in 1939 recordcijfers aan „open lijdens” genoteerd, nadat in 1938 bij de Rijksbestrijding het hoogste percentage reageerenden was opgemerkt. Voor den Frieschen Dienst komt wel zeer sterk tot uiting, dat in de jaren 1940 en 1941, na de zeer belangrijke afslachting van reagerende dieren, het aantal aan-

Grafiek No. II



getroffen open lijdens sterk is gedaald. Hier ziet men als het ware het effect van de toepassing eener „radicale bestrijdingsmethode”, welke die van een benaderende methode doorkruist.

De rechter helft van deze grafiek geeft een beeld van de veelvuldigheid waarmede microscopisch sputumonderzoek werd verricht. Voor den Frieschen Dienst zijn deze gegevens aan de jaarverslagen ontleend. Voor de Rijksbestrijding werden de cijfers overgenomen uit de Verslagen van den Directeur van de Rijks-Seruminrichting. Deze laatste zijn met

de eerste niet geheel vergelijkbaar. Een aantal dierenartsen (resp. gezondheidsdiensten) onderzoeken de sputa zelf; aan de Seruminrichting worden misschien ook sputa voor anderen dan voor de georganiseerde bestrijding onderzocht. Ten slotte hebben deze aantallen betrekking op het kalenderjaar en het aantal reageerende op het seizoen 1 Mei—30 April.

Men ziet dat bij het Rijks Systeem *minder sputum* onderzoeken worden ingesteld en *meer open lijders* worden overgenomen. Of echter bij de overblijvende reageerders per 1000 bij de Rijks-Bestrijding meer of minder „open lijders” achterblijven, dan bij den Frieschen Dienst kan uit deze gegevens niet worden uitgemaakt.

Het leek gewenscht de verschillen tusschen de beide bestrijdingswijzen overzichtelijk samen te stellen, alvorens met de bespreking van het Rijks-systeem een aanvang te maken.

Kritische bespreking.

Hoewel in vele streken van ons land met de „Rijks-bestrijding” voortreffelijke resultaten zijn bereikt, is in de laatste jaren toch wel het vermoeden gerezen, dat men in andere gedeelten des lands niet op den goeden weg was. Dit vermoeden kwam tot uiting toen de Maatschappij voor Diergeneeskunde in 1938 besloot de zaak andermaal ter hand te nemen, door haar in de „Afdelingen” te doen bespreken. Prof. BEYERS hield daarbij telkens een inleiding over het „onderzoek” bij de tuberculosebestrijding. Doch deze gedachtewisseling was aanleiding, dat VENEMA in het Tijdschrift voor Diergeneeskunde 1938 (blz. 1210) de gerezen bezwaren aldus formuleerde:

„In het tiental jaren dat wij dierenartsen ons gewijd hebben aan de massale t.b.c.-bestrijding hebben wij ons een goed beeld kunnen vormen van de fouten, die aan het „huidige systeem kleven en wij hebben ons ook een oordeel kunnen vormen over „de bereikte resultaten. Wat dit laatste betreft kunnen wij matig tevreden zijn; het „is ons gelukt een groot aantal stallen, in het algemeen die waarin weinig reageerders „waren geheel vrij te krijgen van t.b.c., doch aan den anderen kant zijn er een groot „aantal bedrijven, nml. die met veel reageerders waarin wij geen succes hebben gehad. (curs. v. M.).

Zoekende naar de reden daarvan zegt schrijver:

„De oorzaak dat wij in bedrijven met veel reageerders geen succes hebben ligt in „het feit, dat niet voldoende de hand gehouden wordt aan het voorschrift, de gezonde „dieren van de reageerders te scheiden en aan de omstandigheid, dat deze reageerders „onvoldoende gespuld kunnen worden.

Aan het eind van zijn betoog maakt hij nog de opmerking:

„Op een belangrijke factor wensch ik nog den nadruk te leggen nml. dat wij niet „langer de strenge scheiding moeten maken tusschen open en gesloten lijders, immers „wij weten, dat wij met ons klinisch onderzoek niet alle open lijders vinden

Wij zien bij verdere bespreking van deze aangelegenheid af van de punten van organisatorischen aard, die in de straks te noemen stukken zijn behandeld, als daar zijn vrijwillige contra verplichte bestrijding, merken of blokkeeren der reageerders, wijze van tuberculatie, tuberculosevrije opfok enz. en beperken ons tot de voor het welslagen der bestrijding belangrijkste punten:

- a. scheiding tusschen reageerende en niet reageerende;
- b. doeltreffendheid van het opsporen der open lijders.

Scheiding tusschen reageerende en niet reageerende.

Wij lezen daarover in het in September 1940 verschenen rapport der door de Maatschappij voor Diergeneeskunde benoemde commissie (Tijdschr. v. Diergeneesk. 1940 blz. 1023).

„De commissie is van meening, dat zoolang deze scheiding niet zorgvuldig wordt „toegepast, de resultaten van de bestrijding onbevredigend zullen blijven.

Zij wil echter veehouders, die geen scheiding *kunnen* toepassen niet van de deelneming aan de bestrijding uitsluiten, wel wil zij dwingende bepalingen omtrent deze scheiding opleggen aan veehouders die zulks *wel kunnen maar niet willen*. Zij bepleit veranderingen in de stal aan te brengen, waardoor deze scheiding „zoo goed mogelijk” tot stand komt en breekt een lans voor het verlenen van subsidies voor dit doel. Haar standpunt wordt geformuleerd in de conclusie 6, aangenomen in de Algemeene Vergadering der Mij. voor Diergeneeskunde 18 October 1940 luidende:

„6. De reactiedieren worden afgezonderd van de niet reageerende gestald. Indien „de mogelijkheid bestaat deze afscheiding ook in de weide toe te passen zal dat zeer „zijn toe te juichen.

Men was hiermede in deze vergadering niet tevreden en besloot tevens er bij de Regeering op aan te dringen, veehouders, die na een overgangstijd van twee jaar aan deze afzondering niet kunnen of willen voldoen, van de georganiseerde bestrijding uit te sluiten.

Tevens werd een „stalcommissie” benoemd, om te bestudeeren hoe nieuw te bouwen stallen met het oog op de t.b.c.-bestrijding dienen te worden ingericht, resp. bestaande stallen tot dit doel gewijzigd moeten worden. Deze commissie bracht in 1941 een voorloopig rapport uit.

Daarin concludeert zij, dat dit vraagstuk door proefnemingen moet worden opgelost, en geeft zij aanwijzingen hoe één en ander waarschijnlijk op de eenvoudigste wijze ware te bereiken.

Volgens een courantenbericht is echter begin 1943 de bestrijding voor alle veehouders verplichtend gesteld. Uitsluiting daarvan op grond van het niet kunnen of willen afzonderen komt dan niet meer aan de orde.

Bovendien wordt door deze deskundigen blijkbaar geen prijs gesteld op de afzondering in de weide, hetgeen weinig consequent is te noemen.

Wij komen dus tot de conclusie, dat een efficiënte afzondering van reageerende en niet reageerende dieren in tal van bedrijven tot de vrome wenschen zal blijven behooren, en dat het snel en volledig succes der bestrijding volgens de Rijks-regeling dus in hoofdzaak zal afhangen van de doeltreffendheid waarmede de open lijdens worden onderkend.

Opsporen van open lijdens.

a. Miswijzingen bij klinisch onderzoek en tuberculatie.

Verschillende deskundigen wijzen er op, dat bij elke tuberculatie miswijzingen plaats hebben, zoowel in dien zin dat niet tuberculeuze dieren als lijdende aan deze ziekte worden aangewezen, maar ook, dat bij tuberculeuze dieren geen reactie wordt waargenomen. Onder deze laatste is er een aantal, dat ook bij klinisch onderzoek geen teekenen vertoont, waardoor het als verdacht van tuberculose zal worden aangewezen. Bevinden zich daaronder lijdens aan open t.b.c., dan komen deze dus direct in de koppel der niet reageerende dieren en is de kans op verdere uitbreiding der besmetting aanwezig.

Het succes dat met deze bestrijdingswijze bereikt kan worden is dus in de eerste plaats afhankelijk van de betrouwbaarheid der toegepaste tuberculine-reactie en van de volledigheid waarmede het klinisch onderzoek wordt verricht. Het ligt buiten het bestek van dit werk om een vergelijkende studie op te nemen van de betrouwbaarheid der diverse wijzen van tuberculineeren en de invloed van de bereidingswijze der daarbij gebruikte tuberculine. Wij vermelden slechts, dat men in den laatsten tijd om velerlei redenen de voorkeur geeft aan de intradermale- boven de conjunctivale reactie. Voor het overige moge omtrent dit punt naar de zeer omvangrijke speciale literatuur verwezen worden.

Toch is het weinig aannemelijk, dat het aantal „open tuberculose-lijdens”, dat door het *gecombineerde falen* van tuberculineproef en klinisch onderzoek in de koppels achter blijft, aanzienlijk zal zijn. De teleurstellingen, die ook bij deze bestrijdingsmethode worden opgemerkt, moeten nog andere oorzaken hebben.

Wij meenen daaromtrent het volgende te mogen opmerken.

Door de groote toename van het aantal te onderzoeken dieren zijn de aantallen dieren, welke per dierenarts binnen een betrekkelijk korte termijn moeten worden onderzocht, op vele plaatsen feitelijk te groot geworden, om van een nauwkeurig onderzoek verzekerd te kunnen zijn. Wij zien toch, dat in de maanden December tot en met April alle dieren onderzocht moeten worden (tuberculineeren, controleeren, klinisch onderzoek der reactiedieren en sputumonderzoek van dieren die ernstig verdacht zijn van open long-tuberculose). Voor het verrichten der tuberculatie (indruppelen) worden daarom plaatselijk wel leeken als

hulpkrachten toegelaten. Het is hier niet de plaats op het al of niet wenschelijke van deze werkwijze in te gaan, daarvoor moge verwezen worden naar de discussies dienaangaande in het Tijdschrift voor Diergeneeskunde gehouden.

Voorts is het algemeen bekend hoe vele dierenartsen zich jaarlijks gedurende dezen tijd, om het vele werk te kunnen verrichten, de medewerking van een assistent verzekeren. Indien dit jonge afgestudeerde collegae zijn, moet deze maatregel worden toegejuicht. Echter in tal van gevallen zijn als zoodanig doctorandi of candidaten in de veeartsenijkunde werkzaam. Hoewel voor een dergelijke regeling wel argumenten kunnen worden aangevoerd en zij althans in verschillend opzicht de voorkeur verdient boven het in deze te werk stellen van leeken, hetgeen zoo licht tot het in de hand werken der kwakzalverij voert, moet toch worden erkend, dat dit geen volkomen bevredigende regeling is.

Juist bij het zoo sterk stijgen van het aantal te onderzoeken dieren per dierenarts is te vreezen, dat het *nauwgezet klinisch onderzoek* in het gedrang zal komen en vooral de beslissing over de vraag of van bepaalde dieren sputum moet worden opgevangen of niet.

Door het meerendeel der dierenartsen wordt de volgende werkwijze gevolgd: Na de tuberculatie en contrôle worden in het meerendeel der gevallen alleen die runderen klinisch onderzocht, waarvan de eigenaar vermoedt, dat zij ernstig verdacht zijn van open tuberculose. Een feit is dat een eigenaar, die zijn dieren goed observeert, ons een heel eind in de goede richting kan brengen.

De tuberculosebestrijding zal in dier voege moeten worden ge(re)organiseerd, dat elk dierenarts het klinisch onderzoek van alle daarvoor in aanmerking komende dieren volledig en op den voet als door ons in Hoofdstuk 4 § 4 beschreven, zal kunnen uitvoeren. Zoo noodig zal dit in sommige veebeslagen twee malen per jaar moeten geschieden, terwijl met den uitslag van dit onderzoek rekening moet worden gehouden bij de beslissing of al dan niet sputum (resp.) andere secreta voor microscopisch onderzoek moeten worden afgenomen.

b. Microscopisch onderzoek van secreta.

Op meer dan een plaats bepleit de commissie in haar rapport microscopisch onderzoek van se- en excreta. Zij beveelt aan, daartoe aan elken provincialen dienst een laboratorium voor deze onderzoekingen te verbinden. Inderdaad moet als bijkomstige moeilijkheid op dit oogenblik worden genoemd, dat aan de Rijks-seruminrichting de vele duizenden monsters in enkele maanden verwerkt moeten worden, zoodat begrijpelijkerwijs de per monster beschikbare tijd aan een bepaalde grens gebonden is.

In haar conclusies nam de commissie omtrent dit punt aanvankelijk niets op, doch bij de behandeling in de vergadering (Oct. 1940) werd haar conclusie 4 aangevuld aldus:

4. Zoo spoedig mogelijk na de tuberculatie of, zoo deze in de weide reeds heeft plaats gehad, zoo spoedig mogelijk na het opstallen heeft het klinisch onderzoek plaats van alle reageerende dieren en van de niet reageerende verdachte dieren, met de verplichting van het opvangen van sputum van alle reageerende en niet reageerende verdachte dieren.

Wij zagen hoe ver men bij de Rijks-bestrijding nog van dit ideaal verwijderd is (blz. 95). Zou de uitvoering van het bovenverlangde mogelijk zijn, dan zou inderdaad de tuberculosebestrijding op hechter basis worden grondvest. Echter ook dan zou men er nog niet zijn.

c. Caviaproef en kweekmethode.

Wij vermeldden bij herhaling dat bij het microscopisch onderzoek — ook wanneer dit van alle reageerders geschiedt — zelfs bij de beste en herhaalde uitvoering een zeer belangrijk aantal smetstofverspreiders niet wordt aangewezen. De commissie bepleit dan ook, dat „meer dan tot nu toe gebruik gemaakt (worde) van de cavia-enting”. Zij meent dat de hogere kosten wel te bestrijden zouden zijn en dat noodeloos opofferen van proefdieren wel ware te voorkomen. Technische aanwijzingen hoe dit doel bereikt kan worden geeft zij niet. Bij de behandeling van het rapport in de vergadering van October 1940 is hierop niet ingegaan.

Wij komen nu tot een samenvatting van de tegen de thans gebruikelijke wijze van bestrijding geopperde bezwaren en de aangevoerde middelen ter opheffing daarvan. Het is gebleken, dat in hoofdzaak twee middelen worden aanbevolen. Verbetering van de scheiding tusschen reageerende en niet reageerende dieren en veelvuldiger toepassing resp. verfijning van het laboratoriumonderzoek.

Het eerste stuit op de bedrijven van beperkten omvang op zeer belangrijke technische bezwaren en wordt zelfs tijdens de weidegang verwaarloosd. De tegenwoordige omstandigheden accentueeren deze moeilijkheden, doordat de materialenvoorraad grootscheepsche toepassing van dit middel in de eerste jaren wel niet zal toelaten. Welke waarde men er aan wil toekennen, het zal — althans voorloopig — terzijde gesteld moeten worden.

Wordt conclusie 4 der commissie uitgevoerd, dan is aan den eisch tot veelvuldiger laboratoriumonderzoek ruimschoots voldaan. Het mag dan echter in vele gevallen bij een *microscopisch* onderzoek alleen niet blijven.

Wij meenen te hebben aangetoond, dat de caviaproef bij toepassing in eenigen omvang inderdaad vele bezwaren oplevert.

Uit het door ons uitgevoerde onderzoek is evenwel gebleken, dat de goed uitgevoerde kweekmethode de hier verlangde verfijning van het onderzoek inderdaad mogelijk maakt. Voor de daarbij te volgen richtlijnen, in het bijzonder voor de aanwijzing der bedrijven, waar dit hulp-

middel in de eerste plaats moet worden toegepast verwijzen wij naar Hoofdstuk VI. Daarbij moet het volgende worden opgemerkt. Door de zeer ingrijpende inperking van den veestapel in 1941 en 1942 is in vele bedrijven het aantal reageerende dieren zoo belangrijk verminderd, dat hier tot de „radicale bestrijdingswijze” (slachten van alle reageerende dieren) kan worden overgegaan.

Bedrijven met grootere groepen reageerders, waar afslachting niet mogelijk is, zullen daardoor geringer in aantal zijn. Hierdoor zal het mogelijk zijn de kweekmethode op deze bedrijven systematisch bij de van Rijkswegen georganiseerde tuberculosebestrijding door te voeren. Aldus zal een belangrijk aantal smetstofverspreiders, dat thans aan de waarneming ontsnapt, worden opgespoord. Het doel der bestrijding zal daardoor sneller en vollediger bereikt worden.

Hier is inderdaad een taak weggelegd voor de regionale laboratoria der bestrijdings-organisaties, die ook door de commissie uit de Maatschappij voor Diergeneeskunde terecht noodig worden geoordeeld.

ZUSAMMENFASSUNG.

Zweck der Untersuchung ist: eine Arbeitsweise zu entwickeln, die es ermöglicht mit grösstmöglicher Sicherheit alle Fälle von offener Tuberkulose in einem Viehbestand zu erfassen.

Dazu wurde ein Züchtungsverfahren für Tuberkelbazillen aus Sputum und anderen „Secreta“ geprüft.

Das Sammeln der Sputa.

Das zu untersuchende Tier wird ein oder mehrere Male zum Husten gereizt. Der „Sputumfänger“ nach GRAE-TALLGRENN wird in den Schlunddarm eingeführt und es wird versucht ungefähr $\frac{1}{2}$ cc Sputum aufzufangen. Zunächst wird ein daraus angefertigtes ZIEHL-NEELSEN Präparat auf säurefeste Bazillen untersucht. Werden diese nicht angetroffen, dann folgt:

Die Bearbeitung der Sputa.

1. Behandlung während 20—40 Minuten mit $\frac{1}{4}$ N. H_2SO_4 (kräftig schütteln).
2. Zentrifugieren während 20 Minuten, 3000 Umdrehungen pro Minute.
3. Der Bodensatz wird durch Wasschen und abermaliges Zentrifugieren von Säure befreit und aufgenommen in ± 2 cc physiologischer NaCl Lösung. Es folgt das Besähen der Nährboden.

Nährboden.

Wir benutzten den Boden nach LOEWENSTEIN, ohne Glyzerin und mit „Malachietgrün“. (Für das Anfertigen des Nährbodens siehe Seite 4).

Es wurde entsprechende Vorsorge genommen damit keine säurefesten Saprophyten irrtümlich als „Tuberkelbazillen“ angesehen wurden. (Siehe Seite 6).

Zweckmässigkeit des Züchtungsverfahrens.

Um die Zweckmässigkeit des Verfahrens zu beweisen, führten wir die Ergebnisse der Untersuchung von 43 Kühe, ein Pferd und eine Ziege ganz ausführlich an. Alle diese Tiere hatten eine positive Tuberkulinprobe aufgewiesen, aber die (meistens einige Male wiederholte) bakterioskopische Untersuchung des Sputums war immer ohne Erfolg geblieben. Mit dem Züchtungsverfahren wurden daraus innerhalb 20 bis 30 Tage Tuberkelbazillen gezüchtet.

In beschränktem Masse wurden Vergleichen getroffen zwischen den Resultaten, die einerseits mit dem Färbverfahren nach JÖTTEN-HAARMANN resp. mit dem Fluoreszenzmikroskop erzielt werden und andererseits mit dem Züchtungsverfahren. Dabei zeigte sich deutlich, dass auch bei diesen zwei mikroskopischen Verfahren bedeutend weniger Fälle offener Tuberkulose angewiesen wurden als mit dem Züchtungsverfahren.

In einer kleinen Anzahl von Fällen fanden wir, dass die Ergebnisse des Züchtungsverfahrens bei denen des Tierversuches nicht zurückbleiben.

Ergebnisse des Verfahrens bei Anwendung in verschiedenen Tierbeständen.

Wir untersuchten 235 Rinder in Beständen, wo dem angewandten Tuberkulosezüchtungsverfahren zuwider eine grössere Zahl auf Tuberkulin reagierenden Tieren (auch bei den Kälber) vorgefunden wurden als im vorigen Versuchsjahr.

Bakterioskopisch war die Untersuchung der Sputa negativ, mit dem Züchtungsverfahren wurden 23 Tiere ($\pm 10\%$) als mit offener Tuberkulose behaftet angewiesen.

Bei 24 Tieren aus diesen Beständen wurde die Milch nach negativer bakterioskopischer Untersuchung des Sedimentes kulturell untersucht. Es wurden drei Tiere mit offener Eutertuberkulose angewiesen (Siehe Tabelle No. 13 Seite 69).

Unter 150 durch die klinische Untersuchung als „verdächtig“ angewiesenen Tieren wurden mittels der bakterioskopischen Methode bei 6 Kühen Tuberkelbazillen im Sputum gefunden. Das Kulturverfahren bestätigte aber, dass unter den übrigen 144 Tieren noch 22 an „offener Lungentuberkulose“ litten.

Bei 12 Kühen war klinisch der Verdacht auf offene Eutertuberkulose festgestellt worden. Bakterioskopisch konnten keine Tuberkelbazillen in der Milch erwiesen werden; das Züchtungsverfahren wies die Anwesenheit derselben in der Milch von zwei Kühe nach.

Insgesamt haben wir 385 Sputa untersucht. Bakterioskopisch wurden darin bei 6 Tieren Tuberkelbazillen vorgefunden. Wir haben 850 Kulturen angefertigt, bei 51 Sputa züchteten wir Tuberkelbazillen. Es wurden mit dem Züchtungsverfahren also 45 Tiere mehr als an „offener Tuberkulose“ leidende angewiesen als mit der bisher üblichen bakterioskopischen Methode. (Siehe Tabelle, No. 14, Seite 70 und Tabelle No. 15 Seite 71).

Anwendung des Züchtungsverfahrens bei der systematischen Tuberkulosebekämpfung.

Im letzten Abschnitt haben wir die verschiedenen Verfahren zur Tilgung der Rindertuberkulose zusammengetragen. Wir gaben eine Uebersicht der Schwierigkeiten, denen bei den jetzt ueblichen Arbeitsweisen begegnet wird und der Massnahmen, die zur Ueberwindung derselben vorgeschlagen worden sind. Diese Zusammenfassung und die Ergebnisse unserer Untersuchungen erlauben die Schlussfolgerung: *Mittels des Züchtungsverfahrens werden so viele Fälle von „offener Tuberkulose“ ermittelt, — die sonst nicht erkannt werden —, dass es unumgänglich ist dieses Verfahren bei der systematischen Tuberkulosebekämpfung durchzuführen.* Schliesslich stellten wir fest, dass hier eine Aufgabe vorliegt für die „Regionalen Laboratorien“, die in den Niederlanden auch aus anderen Gründen für die Bekämpfung der Rindertuberkulose notwendig sind.

SUMMARY.

The purpose of this investigation is: to introduce a method for the detection — as complete as possible — of animals with „open tuberculosis”.

For that reason the cultivation of tubercle bacilli on an artificial medium from sputum and from other exudates was studied.

The collection of the sputum.

The animals under observation are made to cough once or several times. The instrument for the collection of sputum from cattle devised by Grae-Tallgrenn is introduced into the esophagus, where by at least about $\frac{1}{2}$ cc of sputum is tried to be collected. Smears stained after ZIEHL NEELSEN are to be examined for acid-fast bacilli. If these are not found, one proceeds to the.

Treatment of the sputum.

1. Treatment with sulfuric-acid ($\frac{1}{4}$ N.) for 20—40 minutes, the liquid to be thoroughly shaken.
2. Centrifugation for 20 minutes, at about 3000 revolutions per minute.
3. Removal of the acid by washing and centrifugation: the sediment to be emulgated in about 2 cc physiological solution. Inoculation of the medium.

Artificial medium.

We used the artificial medium for the culture of tuberclebacilli by LOEWENSTEIN, without glycerine and stained with „malachite-green” (For the preparation of the medium. See page 4). Every precaution was taken to prevent acid-fast saprophytic-bacilli to be mistaken for real pathogenic tubercle-bacilli. (See page 6).

Efficiency of the cultivation method.

To prove the efficiency of the cultivation-method we registered the detailed results of the examination of 43 cows, one horse and one goat. All these animals showed a „positive” tuberculin-test, but the — repeatedly effected — bacterioscopical investigation of the smears had no results whatsoever. It was possible to cultivate tubercle bacilli in every one of them within 20 to 30 days.

We have compared the results of the examination of smears.

- a. stained after JÖTTEN-HAARMANN and
- b. by the fluorescenz microscope at one side and those of the cultivation-method at the other. It was very clear, that with cultivation many more cases of open tuberculosis were detected, than with either of the bacterioscopical methods.

We also compared — in a few cases — the results of the inoculation of sputum in guinea-pigs and those with cultivation. We found that the last method was not inferior to the first.

Results by application of the cultivation-method in some herds.

Among 235 cows, all giving a positive tuberculin-test, and residing on farms, where-notwithstanding systematic measures against tuberculosis had been applied, — a higher number of positive „reactors” had been found (especially among the calves) as the year before, we detected 23 cases of open tuberculosis of the lungs by cultivation of tubercle bacilli from the sputum. Of 24 cows, all of them giving negative results with the bacterioscopical examination of smears, three cows with open tuberculosis of the udder were indicated by the cultivation-method applied to the milk sediment. (See Table No. 13 page 69).

Of 150 cows, indicated by clinical examination as to be highly suspected of severe tuberculosis of the lungs only 6 „open” cases were found with the bacterioscopical examination of smears from the sputum. Among the remaining 144 another 22 cases of open tuberculosis were detected with the cultivation of tubercle bacilli on the medium by LOEWENSTEIN. In 12 cases of clinically suspected tuberculosis of the udder, all of which had been examined bacterioscopically without any result — two animals with tubercle bacilli in the milk were indicated by means of the cultivation-method.

On the whole we examined 385 lots of sputum: 850 tubes were inoculated. We found tubercle bacilli in 51 cases; only in 6 cases these bacilli were detected with the bacterioscopical examination of smears. The surplus of cases of open tuberculosis detected by means of cultivation was therefore 45 cases, among 385 animals. (See Table No. 14 page 70 and Table No. 15 page 71).

Application of the culture-method in the systematical eradication of tuberculosis in cows.

In a last chapter we revised the different methods of combating tuberculosis among cattle, the difficulties which were encountered and the remedies recommended.

From this revue and from our investigations we concluded: Cultivation on artificial mediums from sputum- and from other pathogenic-products indicates so many more cases of open-tuberculosis, that this method should be employed obligatorily in the systematic eradication of tuberculosis among cattle.

Here lies a task for the local-laboratories, which are necessary for the correct extermination of bovine tuberculosis in the Netherlands.

RÉSUMÉ.

Le but de la recherche était: envisager une méthode permettant de rattraper, aussi complètement que possible, les cas de tuberculose de forme dite „ouverte” chez les bovidés. L'objet de l'étude fut la culture des bacilles DE KOCH sur milieu artificiel pour le sputum et pour d'autres produits pathologiques.

La récolte des crachats.

L'animal à examiner est forcé à tousser une ou plusieurs fois. L'instrument de „GRAE-TALLGRENN” pour la récolte des crachats est introduit dans l'oesophage: on tâche de rassembler $\pm \frac{1}{2}$ cc de sputum. Recherche bactérioscopique d'une (ou de plusieurs) frottis selon ZIEHL-NEESEN. En cas d'absence de bacilles acido-résistants on passe au:

Traitement des crachats.

1. Traitement à l'acide-sulphurique ($\frac{1}{4}$ N.) pendant 20—40 minutes (agiter très fortement).
2. Centrifuger pendant 20 minutes, vitesse de ± 3000 tours à la minute.
3. Lavage du sédiment et centrifugation répétée, pour écarter l'acide: le sédiment est émulsé dans 2 cc de solution physiologique. Inoculation des terrains artificiels.

Terrain artificiel.

Nous avons employé le terrain artificiel de LOEWENSTEIN forme solide, sans glycerine au vert de „malachite” (Pour la préparation du terrain voir page 4).

Des précautions appropriées furent appliquées pour éviter, que des cultures de saprophytes acido-résistantes ne fussent prises pour celles de véritables bacilles DE KOCH pathogéniques (voir page 6).

Efficacité de la méthode.

Pour prouver l'efficacité de la méthode à culture sur terrain artificiel les résultats détaillés ont été enregistrés de l'examen de 43 bovidés, d'un cheval et d'une chèvre.

La réaction de tous ces animaux à l'inoculation de tuberculine appropriée fut „positive” sans exception. Mais l'examen bactérioscopique des crachats (pour la majorité des animaux l'examen avait été répété) n'avait jamais indiqué la présence des bacilles DE KOCH. *Le culture au terrain artificiel montra des sauches de bacilles tuberculeux après vingt à trente jours.*

Nous avons comparé d'un côté les résultats de l'examen bacterioscopique des frottis de crachat:

- a. colorié selon la technique de JÖTTEN-HAARMANN.
- b. au microscope à la lumière fluorescente avec de l'autre côté le succès de la méthode culturelle.

Le nombre des cas de tuberculose à forme ouverte démontrés à l'aide de ces deux méthodes bacterioscopiques fut de beaucoup inférieur à celui des cas décelés par le culture des bacilles tuberculeux sur terrain artificiel.

En examinant un nombre de cas très restreint par inoculation du sputum chez le cobaye et aussi à la culture sur terrain artificiel nous avons constaté que le résultat de la dernière méthode n'était pas inférieur à celui de la première.

Application de la méthode chez quelques groupes de bovidés.

Nous avons examiné 235 bovidés sortant des troupeaux soumis à des mesures systématiques contre la tuberculose, mais où l'on avait remarqué un plus grand nombre d'animaux donnant une réaction positive à l'inoculation de la tuberculine (notamment chez les veaux) que l'année précédente.

L'examen bacterioscopique des crachats n'apportait aucun résultat positif; l'inoculation des terrains artificiels montra la forme de tuberculose du poumon dite „ouverte” chez 23 animaux ($\pm 10\%$). L'examen bacterioscopique du lait étant négatif, l'inoculation du terrain de LOEWENSTEIN avec le sédiment du lait indiqua la tuberculose de la mamelle à forme dite ouverte chez trois vaches parmi 24 animaux examinés. (Voir Table No. 13 page 69).

Par la recherche clinique 150 bovidés furent indiqués comme grièvement suspects de tuberculose des poumons à forme dite „ouverte”. L'examen bacterioscopique des crachats affirmait ce diagnose pour 6 vaches. La méthode d'inoculation du terrain artificiel de LOEWENSTEIN montra que parmi les autres 144 il y en avaient 22 ou les bacilles de KOCH pouvaient être cultivés. Douze autres vaches furent indiquées par la recherche clinique comme suspectes de tuberculose de la mamelle à forme „ouverte”. L'examen bactérioscopique des frottis du sédiment du lait n'avait pas de résultat. Chez deux vaches on cultiva, à l'aide du terrain artificiel, des bacilles de KOCH dans le lait.

Les crachats de 385 animaux en total furent examinés. La recherche bactérioscopique décélait des bacilles de KOCH chez 6 animaux. On a inoculé 850 cultures. Des souches de bacilles tuberculeux furent cultivées chez 51 animaux. C'est ainsi que par la culture sur terrain artificiel on a rattrapé 45 animaux de plus avec tuberculose des poumons à forme ouverte, que par la méthode de routine appliquée jusqu'à l'instant.

(Voir Table No. 14 page 70 et Table No. 15 page 71).

Application de la méthode dans la lutte systématique contre la tuberculose des bovidés.

Les méthodes diverses appliquées dans la lutte systématique contre la tuberculose des bovidés ont été revidées dans le dernier chapitre de notre ouvrage, ainsi que les difficultés rencontrées et les remèdes qui ont été propagés. Cette revue et nos expériences, décrites dans cet ouvrage, permettent la conclusion suivante:

La culture des bacilles de KOCH sur le terrain artificiel de LOEWENSTEIN appliqué au sputum et à d'autres produits pathologiques, indique tant de cas de tuberculose à forme ouverte que son application est *obligatoire* dans la lutte systématique contre la tuberculose des bovidés.

Voici une tâche appropriée pour les laboratoires régionaux qui — pour plusieurs autres raisons — sont indispensables pour combattre la tuberculose des bovidés aux Pays-Bas.

STELLINGEN

I.

In veestapels waarin — ondanks de bestrijding — de tuberculose, vooral onder het jonge vee, hand over hand toeneemt, dient het klinisch onderzoek, aangevuld met de kweekproef, minstens tweemaal per jaar plaats te hebben.

II.

Bij het opsporen van runderen lijdende aan open uiertuberculose kunnen de „Melkcontrôle stations” daadwerkelijke steun verlenen.

III.

In de nieuw te ontginnen en te exploiteeren gebieden van de voormalige Zuiderzee mag alleen tuberculose-vrij rundvee worden aangehouden.

IV.

In gebieden waar veel varkenspest voorkomt dient, na overleg met en onder goedkeuring van den Inspecteur van den Veeartsenijkundigen Dienst, „simultaanenting” toegestaan te worden.

V.

De bereiding van „Vaccine” voor gebruik bij den mensch, dient mede onder verantwoordelijkheid van een dierenarts te geschieden.

VI.

Serum bestemd voor veterinair gebruik moet kiemvrij zijn.

VII.

De pyometra bij den hond, dus de sterk uitgezette, dunwandige uterus gevuld met pus en de chronische endometritis met sterke woekering van de wand zijn aetiologisch gelijk. De eerste kan uit de tweede ontstaan door sterke secretie en belemmerde afvloeiing van het secretum, hetgeen meestal optreedt bij de acute exacerbatie tijdens de oestrus.

VIII.

De differentiaaldiagnose tusschen chronische infectieuze anaemie en strongylosis bij het jonge paard biedt vele moeilijkheden.

IX.

Een grijze kleur van de iris bij kippen is geen zeker teeken voor het bestaan van Neurolymphomatosis gallinarum.

X.

Het is nuttig om in de gebruikelijke graan- en meelrantsoenen bij de veevoeding een belangrijk percentage graan- en meelproducten te vervangen door aardappelvlokkengries.

XI.

Voor de bepaling van het kiemgetal van melk en melkproducten kan het toestel volgens JULIUS niet gebruikt worden ter vervanging van de groote plaatmethode.

XII.

Het is noodzakelijk dat de studenten in de veeartsenijkunde vóór het Propaedeutisch examen enkele grondbeginselen der Latijnsche taal en grammatica zich eigen maken.

19