

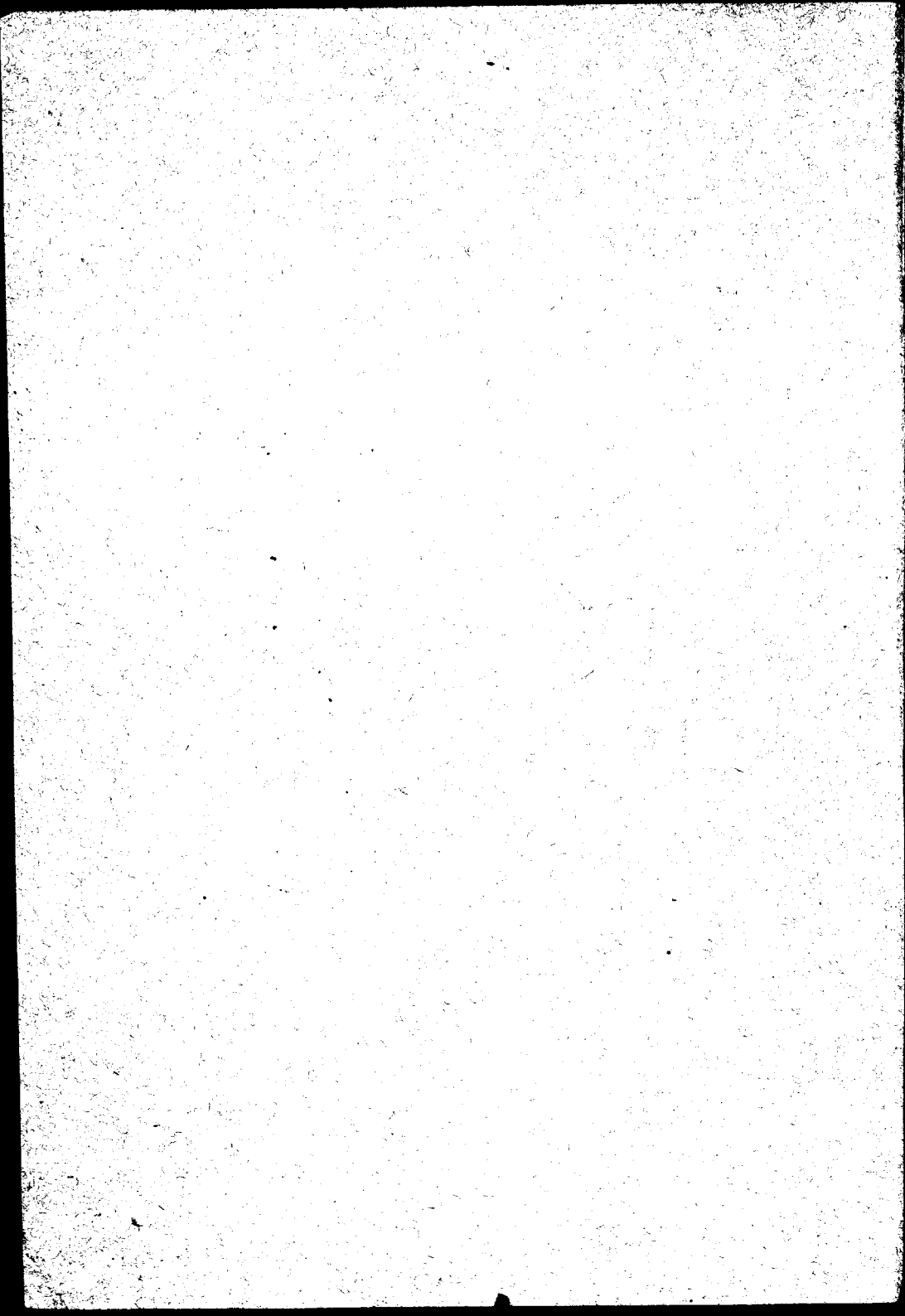


G. TH. WALTER.

*Walter*

Bijdrage tot de kennis der  
Streptococcen.





BIJDRAGE TOT DE KENNIS

DER

STREPTOCOCCEN.

Typ. J. VAN BOEKHOVEN, Utrecht.

BIJDRAGE TOT DE KENNIS  
DER  
STREPTOCOCCEN.

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN

Doctor in de Geneeskunde

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,

NA MACHTIGING VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS

DR. J. CRAMER,

Hoogleraar in de Faculteit der Godgeleerdheid,

MET TOESTEMMING VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT

TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE

TE VERDEDIGEN

op Zaterdag den 1<sup>sten</sup> Juli 1893, des namiddags te 7 uren,

DOOR

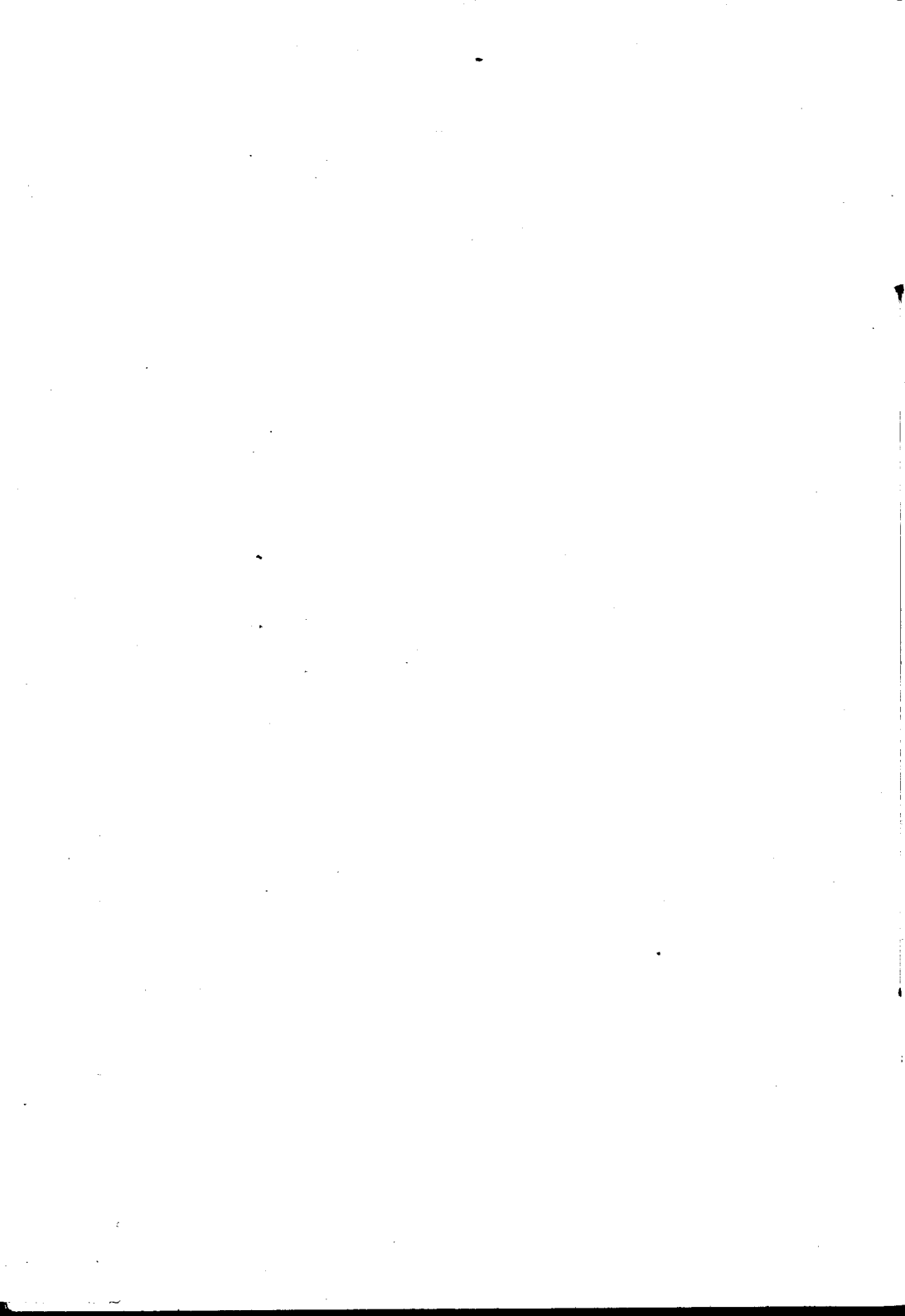
GERHARDUS THEODORUS WALTER,

Arts,

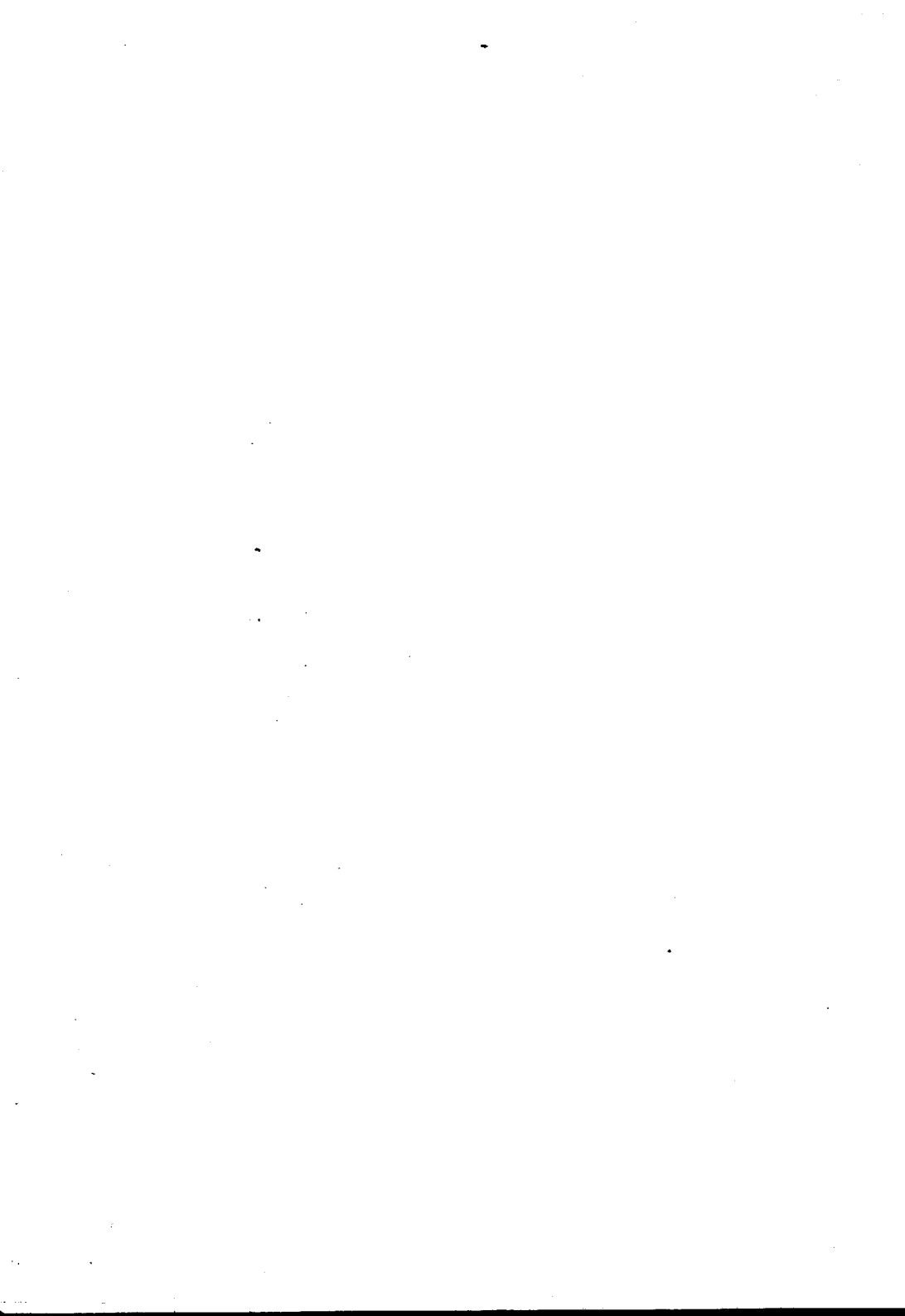
geboren te Passaroean.

UTRECHT. — J. VAN BOEKHOVEN. — 1893.





AAN MIJNE OUDERS.



*Het zij mij vergund, Hooggeleerde SPRONCK, hooggeachte Promotor, U mijn welgemeenden dank te brengen voor den steun en den raad, die mij bij de samenstelling van dit proefschrift door U herhaaldelijk en steeds hulpvaardig is geboden. Ik reken op verontschuldiging van Uwe zijde voor de vertraging, die de voltooiing van dit werk heeft onderconden. Houd U overtuigd, dat werkzaamheden van allerlei aard, waaraan ik mij niet onttrekken kon, de oorzaak daarvan zijn geweest, niet gebrek aan belangstelling.*

*Gaarne maak ik van deze gelegenheid gebruik om U, Professoren en Lectoren der medische en philosophische faculteit, aan wier onderwijs ik zoovele verplichtingen heb, mijne erkentelijkheid te betuigen voor hetgeen door U tot mijne vorming als geneesheer is bijgedragen.*

*Niet allen, helaas, tot wien dit woord is gericht, mogen*

—

*het vernemen. In dankbare herinnering blijft bij mij voortleven de nagedachtenis van professor DONDERS, professor BUYS-BALLOT, en van den te vroeg ontslapen professor SALZER, onder wiens leiding ik het voorrecht had langen tijd als assistent werkzaam te zijn en door wiens bezielenden invloed ik meer speciaal tot de studie der chirurgie werd geleid. Diep betreuren wij zijn verlies!*

-----

## INLEIDING.

In de volgende hoofdstukken zijn de resultaten neergelegd van een onderzoek, door mij ingesteld naar de morphologische en biologische eigenschappen van een pathogenen streptococcus, die, in verschillende opzichten afwijkende van de meer gewone pathogene streptococcen, de aandacht had getrokken.

In de eerste plaats scheen het daarom de moeite waard, dit microörganisme aan een uitvoeriger onderzoek te onderwerpen, omdat het bij de obductie van een aan *acute puerperale septichaemie* bezweken vrouw *in reincultuur* uit de milt was verkregen, en uit de literatuur niet bleek, dat bij den mensch, hetzij bij febris puerperalis, of bij enig ander infectieus proces, een dergelijke streptococcus tot dusver was gevonden.

Voornamelijk echter verdiende dit microörganisme aan een nauwkeuriger studie onderworpen te worden, omdat het in de nieuwste, onlangs te Berlijn in KOCH'S laboratorium onder BEHRING'S leiding door v. LINGELSHHEIM, BOER en KNORR en spoedig daarna door KURTH ont-

worpen classificaties der streptococcen niet paste en daardoor het onweerlegbaar bewijs leverde, dat de genoemde onderzoekers, hoe verdienstelijk hun streven overigens ook zijn moge, den sleutel van het moeilijk vraagstuk, dat zij trachtten op te lossen, niet hebben gevonden.

Voordat mijn onderzoek ten einde was, verschenen echter reeds een tweetal grootere verhandelingen over streptococcen, waarin meerdere waarnemingen worden medegedeeld, die evenals de mijne aantoonen, dat von LINGELSHIEM's en KURTH's classificatie der streptococcen den toets der kritiek niet kan doorstaan.

I.

## Historisch Overzicht.

---

Hoewel reeds in een betrekkelijk vroeg stadium van de ontwikkeling der bacteriologische wetenschap van verschillende zijden op de aanwezigheid van coccen is gewezen bij erysipelas (NEPVEU <sup>1)</sup>), diphtherie (TOMASI CRUDELI <sup>2)</sup>), OERTEL <sup>3)</sup>) en pyaemie (v. RECKLINGHAUSEN <sup>4)</sup>), zoo blijft het, wegens de in dien tijd zoo gebrekkige methoden van onderzoek twijfelachtig, of in deze onderzoekingen werkelijk van „ketens vormende coccen” sprake is geweest.

Bekend is het, hoe ROBERT KOCH <sup>5)</sup>) voor het eerst in

---

<sup>1)</sup> NEPVEU. *Des bactéries dans l'Erysipèle*. Paris 1870.

<sup>2)</sup> HÜTER u TOMASI CRUDELI. *Ueber Diphtheritis*. Centr. Bl. f. d. med. Wissenschaften 1868. pg. 531.

<sup>3)</sup> OERTEL. *Studien über Diphtheritis*. Bayerisches ärztliches Intelligenzblatt. 1868. n<sup>o</sup>. 31.

<sup>4)</sup> VON RECKLINGHAUSEN. Sitzungsberichte der phys-med. Gesellschaft zu Würzburg. 10 Juni 1871.

<sup>5)</sup> R. KOCH. *Zur Untersuchung von pathogenen Mikroorganismen*. Mittheilung aus dem kaiserl. Gesundheitsamt. 1881. Bd. I pg. 38.

1881 het constante voorkomen van coccen, tot ketens aan elkander gevoegd, heeft aangetoond in de lymphspleten van de door erysipelas aangetaste huid en hoe het FEHLEISEN <sup>1)</sup> ongeveer gelijktijdig gelukt is, dit micro-organisme rein te kweeken en er infectieproeven mede te verrichten.

Naast dezen streptococcus, die gedurende eenige jaren uitsluitend de groep der ketens vormende pathogene coccen heeft vertegenwoordigd, ontdekte men weldra een tweede species. Het was in 1884, dat ROSENBACH <sup>2)</sup> uit absces-etter een microorganisme cultiveerde, dat, hoewel bijna alle eigenschappen gemeen hebbende met den streptococcus van KOCH—FEHLEISEN, door den ontdekker op grond en van het voorkomen bij een geheel ander pathologisch proces, en van geringe verschillen in de agar-cultuur als een afzonderlijke species onder den naam van *streptococcus pyogenes* werd beschreven.

Van dit oogenblik af heeft zich een hevige strijd ontsponnen over de vraag of de beide beschreven micro-organismen als verschillende species moesten worden beschouwd, dan wel, of zij tot één en dezelfde soort moesten gerekend worden. De oudste onderzoekers waren over 't algemeen aanhangers van het dualisme, de jongere hellen meer over tot de uniteits-leer.

Deze controverse, die tot op den huidigen dag nog voortduurt, hield de belangstelling voor dit vraagstuk

1) FEHLEISEN. *Ätiologie des Erysipels*. Berlijn 1883.

2) ROSENBACH. *Die Mikroorganismen der Wundinfektionskrankheiten des Menschen*. Wiesbaden 1884

levendig en lokte een groot aantal onderzoekingen uit. En, zoo al de oplossing van het vraagstuk, dat het punt van uitgang vormde, trots al deze bemoeiingen nog niet is gevonden, in andere opzichten was het streven vruchtbaar. Een aantal nieuwe soorten van streptococcen werden ontdekt. Van verschillende zijden kwamen berichten over streptococcen, die met andere eigenschappen toegerust, in of buiten het menschelijk organisme waren aangetroffen.

Zoo heeft FLÜGGE <sup>1)</sup> een streptococcus gecultiveerd, die zoowel onder den microscoop als in het cultuurglas, niet te differentieeren was van den *streptococcus pyogenes* ROSENBACH, doch zich door een hoogen graad van virulentie voor het konijn en de muis van dezen laatsten onderscheidde. Op grond van dit verschil hield FLÜGGE zijn streptococcus voor een afzonderlijke species, welke hij met den naam: *streptococcus malignus* aanduidde. Zoo gelukte het, om nog een enkel voorbeeld van de vele, die men thans zou kunnen aanwijzen, te noemen, aan NICOLAÏER en GUARNERI <sup>2)</sup> uit onreine aarde een *streptococcus „septicus”* te isoleeren, die eveneens slechts door zijn hoogen virulentie-grad voor de muis was gekarakteriseerd.

Allengs kwam men op deze wijze tot een betrekkelijk groot aantal soorten van streptococcen. Dezelfde vraag, die zich voorgedaan had bij de beoordeeling van de twee, 't eerst bij den mensch ontdekte species, moest

<sup>1)</sup> FLÜGGE. *Die Mikroorganismen*. 1886.

<sup>2)</sup> NICOLAÏER und GUARNERI. Göttinger hygien. Institut.

nu op uitgebreider schaal gesteld worden. Moeten al de beschreven streptococcen werkelijk als verschillende soorten worden beschouwd, of is het één species, die, naar gelang van omstandigheden, modificaties kan ondergaan?

Tot vóór korten tijd waren alle onderzoekers het hierover eens, dat, met betrekking tot de streptococcen, noch in de morphologische eigenschappen, noch in die der cultuur, criteria te vinden waren, om ze van elkander te differentieeren. Veeleer werd men van de monotonie, die de verschillende soorten in deze opzichten aanboden, meer en meer doordrongen. Om deze reden werd dan ook bij de beoordeeling en de classificatie, zooals uit de nomenclatuur blijkt, het zwaartepunt gelegd op het verschil in virulentie voor verschillende diersoorten. Terwijl toch de *streptococcus erysipelatis* en de *streptococcus pyogenes*, zooals aanvankelijk geconstateerd was, bij het konijn slechts een snel genezende dermatitis of een onbeteekeend abscesje opwekten, bezat de *streptococcus septicus* van NICOLAÏER een zeer hoogen graad van virulentie voor de muis, de *streptococcus malignus* van FLÜGGE niet alleen voor dit dier, maar ook voor het konijn.

Slechts op één wijze meent men het vraagstuk beslissend te kunnen beantwoorden, n.l. door inoculatie van den mensch. Met den erysipelas-coccus zijn dergelijke inoculaties, zooals bekend is, herhaalde malen verricht. Voor dezelfde proefneming met andere species scheen het gevaar echter te groot, zoodat tot dusver niemand zich daaraan heeft gewaagd.

Men moest zich derhalve wel tot het proefdier beper-

ken. En, zooals wij reeds zagen, kon men slechts in den graad van virulentie verschillen constateeren. Deze werden zelfs zóo uiteenlopend gevonden, dat men er in den aanvang geen bezwaar in vond, alleen op grond daarvan de reeds bekende streptococcen als afzonderlijke species te onderscheiden en met verschillende namen te bestempelen.

De bacteriologen van den tegenwoordigen tijd stellen echter hogere eischen en achten het voor de differentiatie van soorten niet voldoende, dat er enkel verschillen in virulentie bestaan, doch verlangen meer standvastige kenmerken.

Hiervan doordrongen, hebben eenige medewerkers van het „*Institut für Infektionskrankheiten*” te *Berlijn* zich tot taak gesteld een reeks van streptococcen aan een nauwkeurig vergelijkend onderzoek te onderwerpen. Hun gelukte het inderdaad naast de verschillen in den virulentie-grad, ook verscheidenheid ten opzichte van de morphologische en biologische eigenschappen op te sporen en tusschen deze onderling een verband aan te wijzen, waardoor het uitzicht op een definitieve classificatie scheen geopend.

De uitkomsten van deze onderzoekingen, die een ware omwenteling schenen teweeg te brengen, berustten in hoofdzaak op een nauwkeuriger studie der culturen in bouillon, een voedingsvloei-stof, waarvan door de oudere onderzoekers bijna geen gebruik werd gemaakt. 't Is juist in dezen voedingsbodem, dat men typische criteria meende gevonden te hebben ter onderscheiding der streptococcen onderling.

VON LINGELSHEIM <sup>1)</sup> is de eerste geweest, die een onderzoek in deze richting heeft ingesteld en dit met groote nauwkeurigheid en op uitgebreide schaal verricht heeft. Het resultaat van zijn onderzoek was een nieuwe indeeling der streptococcen in twee groote groepen. Aan deze indeeling werden 3 factoren ten grondslag gelegd:

- 1°. het macroscopisch uiterlijk der bouilloncultuur;
- 2°. de lengte der zich in den bouillon ontwikkelende coccen-ketens;
- 3°. de virulentie-graad.

Tusschen deze drie eigenschappen bestaat volgens VON LINGELSHEIM het volgende verband: een streptococcus-soort, die in bouillon een diffuse troebelheid teweeg brengt, vormt daarin korte ketens en bezit geen pathogene eigenschappen voor de verschillende gebruikelijke proefdieren; een streptococcus-species daarentegen, die aan den bouillon de oorspronkelijke doorzichtigheid niet ontnemt, ontwikkelt zich in deze vloeistof in lange draden en is voor minstens één diersoort pathogeen. De eerste soort noemt hij *streptococci breves* en stelt die tegenover de *streptococci longi*, met welken naam hij de tweede soort bestempelt.

Om aan deze indeeling een nog bredere basis ten grondslag te leggen, was VON LINGELSHEIM nog verder gegaan en had hij voor elk der twee genoemde groepen nog een reeks van eigenschappen opgesteld, waarvan in het volgend schema een kort overzicht wordt gegeven.

<sup>1)</sup> VON LINGELSHEIM. *Experimentelle Untersuchungen über morphologische, culturelle und pathogene Eigenschaften verschiedener Streptokokken.* Zeitschrift für Hygiene. 1891. Bd. X. pg. 331.

STREPTOCOCCUS LONGUS.	STREPTOCOCCUS BREVIS.
<p>Vormt in bouillon lange ketens.</p>	<p>Vormt in bouillon korte ketens.</p>
<p>De bouilloncultuur blijft helder.</p>	<p>Brengt in bouillon een diffuse troebelheid teweeg.</p>
<p>Bezit voor minstens één diersoort pathogene eigenschappen.</p>	<p>Bezit geen pathogene eigenschappen.</p>
<p>Ontwikkelt zich nauwlijks in 5-voudig verdunnen bouillon.</p>	<p>Vertoont nog bij 10-voudige verdunning van den bouillon een levendige ontwikkeling.</p>
<p>Groeit in vloeibaar runderbloed-serum op dezelfde wijze als in bouillon, d. w. z. zonder troebelheid teweeg te brengen en vormt daarin lange ketens.</p>	<p>Brengt in vloeibaar runderbloed-serum geen troebelheid teweeg en vormt daarin lange ketens; bij 10-voudige verdunning daarentegen van dezelfde serum worden korte ketens gevormd.</p>
<p>Maakt gelatine niet vloeibaar.</p>	<p>Brengt een geringe vervloeijing teweeg op de plaats waar de naald bij de verwaardiging van een streepcultuur aanvangt te strijken en aan de oppervlakte der steekcultuur.</p>

STREPTOCOCCUS LONGUS.	STREPTOCOCCUS BREVIS.
<p data-bbox="245 363 559 427">Vertoont op aardappel een zeer twijfelachtigen groei.</p> <p data-bbox="245 555 559 619">Het temperatuur-minimum ligt bij 14—16° C.</p> <p data-bbox="245 651 559 715">Bezit geen reduceerende werking.</p>	<p data-bbox="620 363 933 523">Vormt op aardappel na 1 tot 2 dagen bij 35° C. een cultuur in den vorm van een gemakkelijk weg te nemen vlies.</p> <p data-bbox="620 555 933 619">Ontwikkelt zich nog bij een temperatuur van 10° C.</p> <p data-bbox="620 651 933 715">Bezit reduceerende werking.</p>

Zooals uit bovenstaande tabel blijkt, bezitten derhalve de streptococci breves in 't algemeen het karakter van saprophyten. Immers zij stellen, zoowel aan den voedingsbodem als aan de temperatuur, lagere eischen dan de streptococci longi.

Ongeveer gelijktijdig met, doch onafhankelijk van VON LINGELSHEIM, heeft KURTH <sup>1)</sup> zich met dezelfde onderzoekingen bezig gehouden en op grond van de eigenschappen der bouilloncultuur een overeenkomstige verdeling opgesteld. Zonder het gewicht van de lengte der ketens uit het oog te verliezen, hecht hij meer

<sup>1)</sup> H. KURTH. *Ueber die Unterscheidung der Streptokokken und über das Vorkommen derselben, insbesondere des Streptococcus conglomeratus.* Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte 1891. Bd. VII. pg. 389.

waarde aan hunne gedaante en met deze laatste juist houdt hij rekening in zijn nomenclatuur. De *streptococci rigidi* van KURTH, overeenkomende met de *streptococci breves* van VON LINGELSHEIM, zijn, meer nog dan door de korthed der ketens, gekarakteriseerd door stijfheid („rigiditeit”), tegenover de *streptococci flexuosi*, die lange gekronkelde draden vormen.

Bovendien verschillen de beide onderzoekers nog in twee andere cardinale punten van meening.

Zooals wij boven uiteengezet hebben, staat voor VON LINGELSHEIM, het bezit van pathogene of saprogene eigenschappen in nauw verband met de eigenschappen der bouilloncultuur. Voor KURTH daarentegen bestaat een dergelijk verband niet, of althans niet in absoluten zin. Onder de verschillende streptococci rigidi van zijne verzameling bevond er zich namelijk één, die, niettegenstaande zijn eigenschap van den bouillon diffuus troebel te maken en daarin korte stijve draden te vormen, zeer karakteristiek was, door bijzondere virulentie voor de witte muis uitmuntte.

In de tweede plaats is het neerslag in bouillonculturen, waaraan VON LINGELSHEIM geen gewicht had gehecht, voor KURTH van zulk een overwegende beteekenis, dat de aard daarvan naast den vorm van de coccen-draden en het temperatuur-minimum, waarbij nog groei te bespeuren is, de basis vormt van zijne indeeling der streptococcen.

Het schema, door KURTH ontworpen, luidt als volgt:

A. *Streptococci rigidi*.

α. in bouillon een geringe troebelheid veroorzakend

en daarin eerst bij 20—22° C. zich ontwikkelend (gevonden in de mondholte).

- β. den bouillon sterk troebel makend en reeds bij 16—17° C. daarin groeiend; voor een deel exquisiet pathogeen voor de witte muis (aangetroffen in de mondholte, in etter etc.)

B. *Streptococci flexuosi*.

- α. in bouillon een slijmig-dradentrekkend, of een slijmig-vlokkig neerslag vormend (voorkomend in de mondholte, in etter, bij erysipelas.)
- β. in bouillon een vliesachtig neerslag teweeg brengend (*streptococcus conglomeratus*, voorkomend bij scarlatina.)

In de 2<sup>de</sup> publicatie van VON LINGELSHEIM <sup>1)</sup> van Aug. 1892 moet deze zich bij KURTH aansluiten en op grond van diens vondst aan de pathogene eigenschap niet meer die overwegende beteekenis toekennen, welke hij bij zijne eerste onderzoekingen er aan gegeven had. Daarentegen wijst hij nogmaals met nadruk op het verband tusschen de lengte der ketens en het macroscopisch uiterlijk van de bouilloncultuur. Op pag. 314 l. c. geeft hij op ondubbelzinnige wijze zijn standpunt te kennen, wanneer hij zegt: „Ich fasse also auch nach den bis jetzt gemachten Erfahrungen, Klarheit der Bouillon und Länge der Ketten als die zusammen gehörenden und charakteristischen Eigenthümlichkeiten einer Classe von Streptococcen auf, wodurch dieselbe sich von einer

<sup>1)</sup> VON LINGELSHEIM. *Beiträge zur Streptokokkenfrage*. Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd XII. 3 pg. 308.



anderen, mit dem entgegengesetzten Verhalten morphologisch abgrenzen lässt." Voor hem bestaat er dus geen streptococcus, die naast de eigenschap lange ketens te vormen, het vermogen bezitten zou, den bouillon gelijkmatig troebel te maken, want, laat hij terstond op de bovenaangehaalde woorden volgen: „Auch wenn, wie ich das einzeln beobachtet habe, die Klarheit der Bouillon durch die Bildung zahlreicher kleiner, und dabei sehr leichter Bröckelchen <sup>1)</sup>, die dann namentlich bei jungen Culturen die Neigung haben in den oberen Flüssigkeitsschichten zu schweben, Einbüsse erlitten hat, wird sich bei genauem Zusehen eine *diffuse Trübung* — und um diese handelt es sich hier doch nur — leicht ausschliessen lassen."

Hoewel met zekere restrictie, speelt toch ook nog bij dit laatste onderzoek van von LINGELSHHEIM de virulentie-graad een zekere rol. Dit blijkt reeds uit de verdeeling, zooals hij die geeft, voor de streptococcen volgens den graad van virulentie, een verdeeling, die voortspuit uit de behoefte om een maatstaf te vinden tot onderlinge vergelijking en tot vergemakkelijking eener voorloopige orientatie. Als maatstaf nemend de hoeveelheid eener bouillon-cultuur <sup>2)</sup>, die noodig is om een witte muis, na subcutane infectie, te dooden, onderscheidt hij 3 virulentie-graden. Bij den eersten is slechts

<sup>1)</sup> Deze „Bröckelchen" heeft BEHRING blijkbaar op het oog, wanneer hij in zijn schema onder de streptococci longi een groep (B. I) opneemt, die den bouillon *troebel* maakt. Men vergelijke de indeeling volgens BEHRING op pg. 14.

<sup>2)</sup> Van deze wordt slechts gecischt dat het *verse* culturen zijn!

0.01—0.05 cM<sup>3</sup> noodig, om binnen 3 tot 4 dagen de witte muis door septichaemie te dooden; bij den tweeden is daartoe 0.05—0.15 cM<sup>3</sup> noodig, terwijl eindelijk bij den derden graad zelfs een hoeveelheid van 0.3 cM<sup>3</sup> niet toereikend is om bij deze proefdieren regelmatig den dood te veroorzaken.

Een résumé van al deze onderzoekingen heeft BEHRING zelf, onder wiens leiding VON LINGELSHHEIM gewerkt had, gegeven in het „Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde” 1892, Bd. XII pg. 192, in den vorm van een schematische indeeling, waaraan uitsluitend de eigenschappen van de bouillon-cultuur ten grondslag liggen, t. w. de lengte der ketens, het macroscopisch aspect van de bouillon-cultuur en de aard van het sediment.

Zijn schema luidt als volgt:

A. *Streptococcus Brevis*.

Deze is gecultiveerd uit het speeksel van gezonde personen, uit etter en uit verontreinigde culturen.

B. *Streptococcus Longus*.

Volgens het macroscopisch uiterlijk der bouillon-cultuur wordt deze wederom verdeeld in:

- I. een groep, die den bouillon *troebel* <sup>1)</sup> maakt (gevonden bij erysipelas, verschillende anginen en phlegmonen.)
- II. een groep, die den bouillon volkomen helder laat, en naar den aard van het sediment weder in 3 onderafdeelingen gesplitst wordt.
  - α. streptococcen, die een week-slijmig neerslag te weeg brengen (aangetroffen bij vele phlegmonen),

<sup>1)</sup> Zie noot pg. 13.

pneumonieën, puerperaal-koortsen, aandoeningen der serosae.)

- β. streptococcen, die vliesjes en brokkeltjes vormen, (gevonden bij scarlatina, [streptoc. conglomeratus KURTH], pyaemie.)
- γ. streptococcen, die de neiging bezitten in groote convoluten tegen den glaswand neer te slaan; (tot nu toe slechts bij pneumonie der paarden aangetroffen).

Hoe weinig er ook misschien van blijvende waarde in deze onderzoekingen, uit Berlijn tot ons gekomen, zijn moge, dit althans blijkt, dat er, in tegenstelling tot de meening der vroegere onderzoekers tusschen de verschillende streptococcen, wel degelijk punten van verschil bestaan, zoowel ten opzichte van de morphologie als van de cultuur. Deze verandering van inzicht is, zooals reeds boven is opgemerkt, uitsluitend aan de nauwkeurige studie van de cultuur in bouillon te danken. Op onverklaarbare wijze is deze in de eerste periode van onderzoek volkomen verwaarloosd; bij FEHLEISEN, ROSENBACH en FLÜGGE bijv. vindt men hiervan in 't geheel geen gewag gemaakt.

Verder dan tot een indeeling in groepen heeft men het echter, ook met behulp dezer gegevens, niet kunnen brengen. Van afzondering eener scherp gekarakteriseerde species in streng bacteriologischen zin, kan trots alle aangewende pogingen met ernst nog geen sprake zijn. Hoewel de onderzoekers van het „Institut” te Berlijn met betrekking tot de verhouding tusschen den *streptococcus erysipelatis* en den *streptococcus pyogenes*,

wederom teruggekeerd zijn tot de oorspronkelijke meening, door KOCH, FEHLEISEN, ROSENBACH e.a. gehuldigd, zoo steunt hun bewijsvoering toch nog steeds op dezelfde zwakke gronden, waarop voorheen de aandacht gevestigd was. Feitelijk is dan ook door deze onderzoekingen de strijdvraag over de identiteit van den *streptococcus erysipelatis* en den *streptococcus pyogenes* niet beantwoord kunnen worden.

Het is derhalve een vraagstuk, waarover het laatste woord nog niet gesproken is. Veeleer moet het, niet-tegenstaande reeds op vrij uitgebreide schaal is geëxperimenteerd, aan nader onderzoek voorbehouden blijven, de verkregen resultaten te toetsen. Hierbij zal voornamelijk het oog gericht moeten zijn op de vraag of werkelijk twee groepen met scherp omschreven eigenschappen zullen kunnen onderscheiden worden, dan of, zooals bijna overal in de natuur, overgangen gevonden worden, die zulk een scherpe scheiding verbieden. Men bedenke, dat het hoofdzakelijk quantitative verschillen zijn, waarop de indeeling berust, en dat bij de onbekendheid van het gewicht van verschillende uitwendige invloeden, vooral op bacteriologisch gebied met omzichtigheid moet geoordeeld worden.

Het voortgezette onderzoek heeft nu ook inderdaad de resultaten van VON LINGELSHIEM en KURTH niet bevestigd.

D'ESPINE en DE MARIGNAC <sup>1)</sup> hebben een bijdrage geleverd

<sup>1)</sup> D'ESPINE & DE MARIGNAC. *Note sur une espèce particulière de streptocoque, retiré du sang d'un homme atteint de scarlatine.* Archives de medic. experim. et d'anat. pathol. Tome IV. n<sup>o</sup>. 4. pg 438. 1892.

door het onderzoek van een reeks van 10 exemplaren van streptococcon van verschillende afkomst. Onder deze tien beantwoorden er 7 aan de eischen van een *streptococcus longus*; zij vormen in helder blijvenden bouillon lange ketens en bezitten pathogene eigenschappen voor de witte muis. Deze zijn gecultiveerd uit gevallen van diphtherie, erysipelas, scarlatina, uit de etter van purulent ontstoken klieren en van een pleuritis, na doorbraak van een retropharyngeaal absces ontstaan.

De drie overige worden, niettegenstaande zij voor de witte muis pathogeen bleken te zijn, door de onderzoekers tot de groep der *streptococci breves* gebracht. Onder deze drie is er echter slechts één, afkomstig uit de mondholte van een gezond persoon, die, wat de eigenschappen van de bouilloncultuur betreft, aan de eischen van een *streptococcus brevis* beantwoordt (vorming van diplococcon en zeer korte ketens in diffuus troebelen bouillon). De tweede, afgezonderd uit het secreet van een niet-specifieke angina, heeft reeds niet zulke scherp geprononceerde eigenschappen. In het neerslag van den diffuus troebelen bouillon werden toch naast korte, ook lange gekronkelde ketens gevonden. Zelfs werd enkele malen van dezen streptococcus een bouilloncultuur verkregen, waarin de lange ketens in de meerderheid waren, terwijl er geen troebelheid optrad. Nog grootere afwijkingen van het schema wijst n<sup>o</sup>. 3 aan, een streptococcus, uit een bronchopneumonischen haard gekweekt. Deze bracht in bouillon gewoonlijk geen of slechts een zeer geringe troebelheid teweeg; bij uitzondering alleen maakte hij den bouillon

diffuus troebel. In den regel werden lange gewonden ketens gevonden.

Het feit, dat deze beide laatste species op aardappel en Löffler's serum veelvuldig als diplococceen worden gevonden, mag, zooals de schrijvers dit doen, geen reden zijn om ze tot de groep der *streptococci breves* te brengen. Het criterium ligt in de bouilloncultuur, en deze als uitgangspunt genomen, representeeren zij veel eer tusschenvormen, die tot geen der beide groepen kunnen gebracht worden. Bovendien zijn zij pathogeen voor de witte muis.

Een scherpe kritiek werd uitgebracht door H. DE MARBAIX <sup>1)</sup>. Uitgaande van het feit, dat de virulentiegraad geen constante, maar een variabele grootheid is, komt hij tot de conclusie, dat er geen verband bestaat tusschen dezen en de eigenschappen van de bouilloncultuur en verwerpt hij het systeem, door von LINGELSHHEIM en KURTH opgebouwd. Van de 8 species, die hij onderzocht, gaven juist de twee meest pathogene (uit een geval van endocarditis en van febris puerperalis) in den bouillon een diffuse troebelheid, terwijl de niet pathogene, uit de mondholte van gezonde personen gekweekt, den bouillon, volgens von LINGELSHHEIM's voorschrift bereid, volkomen helder lieten. Wanneer de niet virulente exemplaren door passage, waarbij 't dikwijls noodig was door irriterende stoffen (hiertoe werd in zijn onderzoek van gal gebruik gemaakt) gunstige voor-

<sup>1)</sup> H. DE MARBAIX. *Étude sur la virulence des streptocoques*. La Cellule. Tome VIII. 2. pg. 257.

waarden aan te bieden, virulente eigenschappen verkregen hadden, dan gingen daarmee geen veranderingen in de bouillonculturen gepaard. De eigenschappen dezer laatste schijnen derhalve niet in nauw verband te staan met de virulentie.

Wij hebben boven gezien, dat von LINGELSHHEIM zelf in zijne tweede publicatie reeds hiermede rekening gehouden heeft en slechts nog vasthoudt aan het verband tusschen de lengte der ketens en het macroscopisch uiterlijk der bouilloncultuur.

Dat ook tusschen deze twee eigenschappen geen betrekking bestaat in absoluten zin, bewees reeds het onderzoek van d'ESPINE en DE MARIGNAC <sup>1)</sup>. Op nog overtuigender wijze wordt dit gereleveerd door een arbeid op zeer uitgebreide schaal, afkomstig uit het bacteriologisch laboratorium van het Zoölogisch station te Napels. Onder de 38 soorten, die de schrijver, ALESSANDRO PASQUALE <sup>2)</sup> onderzocht, waren er, die naast korte ook lange ketens vormden en den bouillon zonder bekende reden nu eens diffuus troebel maakten, dan weder volkomen helder lieten, terwijl eindelijk de virulentie een zeer wisselende bleek te zijn.

Meer en meer kwam men alzoo uit het resultaat der laatste onderzoekingen tot de overtuiging, dat de hulpmiddelen, door von LINGELSHHEIM en KÜRTH aan de hand

<sup>1)</sup> D'ESPINE & DE MARIGNAC. l. c.

<sup>2)</sup> ALESSANDRO PASQUALE. *Vergleichende Untersuchungen über Streptokokken*. Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie. Bd. XII. 3. pg. 433.

gedaan ter onderscheiding der verschillende streptococcen, ontoereikend zijn. Immers, zooals een nauwkeurige op feiten gegronde kritiek leert, is hunne classificatie gebaseerd op een drietal criteria, die niet constant genoemd mogen worden.

Zoo heeft toch het onderzoek aangetoond, dat, wat betreft de macroscopische eigenschappen van culturen in bouillon, de samenstelling van dezen laatste van overwegende beteekenis is. Meer en meer is gebleken, dat met geringe wijzigingen in de samenstelling van den bouillon, de cultuur een ander aanzien verkrijgt. Van verschillende zijden werd er reeds op gewezen, hoe relatief geringe verschillen in gehalte aan alkali, suiker of pepton, voldoende zijn om wijzigingen teweeg te brengen in den aard en de hoeveelheid van het neerslag, in de mindere of meerdere troebelheid, enz.

Wil men derhalve in de eigenschappen der bouilloncultuur voor de verschillende streptococcen punten van vergelijking zoeken, dan zou men moeten uitgaan van een bouillon van *constante* samenstelling. Aan dit postulaat is echter, met uitzondering van DE MARBAIX, door geen der latere onderzoekers, ook niet door VON LINGELSHHEIM voldaan. Integendeel, er is slechts met algemeene termen sprake van een „alkalischen bouillon.”

Ligt het nu niet voor de hand, het aan deze omstandigheid te wijten, dat D'ESPINE en DE MARIGNAC bij een tweetal streptococcen den bouillon nu eens helder, dan weder troebel vonden? Overigens blijft echter de mogelijkheid bestaan, dat ook nog andere omstandigheden van invloed zijn. PASQUALE geeft o. a. op, dat hij voor-

namelijk na passage verschillen in den aard der bouillon-culturen zag optreden.

Hoe dit ook zijn moge, het blijkt voldoende, dat de resultaten der verschillende onderzoekers niet onderling vergelijkbaar zijn, en dat, zoolang een bouillon van niet constante chemische samenstelling wordt gebruikt, de eigenschappen van de cultuur geen criterium voor een classificatie kunnen zijn.

Hetzelfde bezwaar doet zich gelden met betrekking tot de lengte der ketens.

Reeds in oudere onderzoekingen wordt gewezen op het verschil in de wijze van aaneenschakeling der coccen al naar gelang van den voedingsbodem, waarop zij gecultiveerd zijn. Het is een bekend feit, waarop in het onderzoek van HARTMANN <sup>1)</sup> reeds nadruk wordt gelegd, dat de streptococcus *Erysipelatis* bijv., die in zoo hooge mate de eigenschap bezit ketens te vormen, op een vaste voedings-gelei daartoe veel minder neiging vertoont en inderdaad daarop, behalve draden, ook groepjes van diplococcen vormt. Maar ook in een *vloeibaar* substraat is de wijze van groei niet altijd dezelfde. Sedert men gewicht gehecht heeft aan de lengte der coccen-draden is het n.l. gebleken, dat men slechts een hooger procents-gehalte pepton aan den bouillon heeft toe te voegen, om een streptococcus, die in lange ketens pleegt te groeien, slechts zeer korte draden te zien vormen.

---

<sup>1)</sup> HARTMANN. *Ueber die Aetiologie des Erysipelas und des Puerperalfiebers*. Archiv. für Hygiene 1887. Bd. VII.

Deze voorbeelden, waaraan nog een aantal andere zouden zijn toe te voegen, zijn reeds voldoende om de noodzakelijkheid in het licht te stellen, dat gebruik moet gemaakt worden van een voedingsvloei-stof van constante samenstelling.

Maar ook, al werd hiermede rekening gehouden, toch zouden de eigenschappen der bouilloncultuur in verband met den virulentie-grad niet aan een indeeling ten grondslag kunnen gelegd worden.

DE MARBAIX <sup>1)</sup>, wien wij een zeer nauwkeurig onderzoek te danken hebben, gelukte het n.l. door het aanbieden van een gunstigen voedingsbodem en door passage bij zeer gevoelige proefdieren streptococce-species, die aanvankelijk volkomen indifferent schenen, in 't bezit te brengen van pathogene eigenschappen, en dit wel zonder dat daarbij veranderingen plaats grepen wat betreft de eigenschappen van de bouilloncultuur. Hiermede was bewezen èn dat de virulentie-grad geen constante, onveranderlijke factor is, èn dat tusschen dezen en de morphologische eigenschappen niet het minste verband bestaat.

Neemt men al deze, van verschillende zijden nauwkeurig vastgestelde feiten in overweging, bedenkt men dat geen enkel der aangegeven criteria constant is en tusschen deze onderling geen verband bestaat, dan behoeft het geen verder betoog, dat aan de indeelingen, door VON LINGELSHEIM en KURTH ontworpen, ten eenen male vaste grondslagen ontbreken en is het niet te

---

<sup>1)</sup> DE MARBAIX. l. c.

verwonderen, dat bijna elke onderzoeker, die zich ten taak stelde hunne resultaten te toetsen, in het bezit kwam van een of meer soorten, die niet onder een der opgestelde groepen waren te brengen.

Zoo bezit ook de species, die het onderwerp uitmaakt van mijn onderzoek een aantal eigenschappen, waardoor zij niet in de bovengenoemde schemata past.

## II.

### Historia Morbi en Obductie-verslag.

---

Op den 22<sup>en</sup> Januari 1891 werd JACOBA VAN L . . .  
gravida, oud 40 jaar, wegens sterke metrorrhagie in de  
obstétrische kliniek van prof. HALBERTSMA opgenomen.

Bij onderzoek werd geconstateerd, dat patiente in de  
8<sup>ste</sup> maand der zwangerschap verkeerde, het foetus in  
abnormale ligging en wel in eerste positio transversa  
gelegen was en deze abnormaliteit nog werd gecompli-  
ceerd met placenta praevia centralis. Redenen, waarom  
nog op den zelfden dag tot versie op den voet en  
extractie werd besloten. Het gelukte daarbij niet de  
placenta met den vinger te doorboren; wel slaagde men  
er in haar van den uterus-wand los te maken, de  
vliezen hooger op te perforeren en spoedig na wending  
van het foetus de extractie te verrichten. Het bloed-  
verlies was bij deze operatie slechts zeer gering.

Nadat verder ook de placenta was verwijderd, werd  
de uterus-holte met warme 3 % carbol-oplossing geïrri-  
geerd en het onderste uterus-segment, zoowel als de  
vagina met jodoformgaas getamponneerd.

Nabloeding heeft niet plaats gehad.

De lichaamstemperatuur was daarentegen reeds op den volgenden dag, den 23<sup>en</sup> Januari sterk verhoogd; de ochtend-temperatuur bedroeg 37.5° C., de middag-temperatuur klom tot 40.2° C., terwijl de frequentie van den pols steeg tot 120, respectievelijk 130. Op den 24<sup>en</sup> Januari bleef de thermometer verhoogde temperatuur aanwijzen; 's morgens 40.3° C., 's avonds 40.5° C, in den nacht zelfs 41° C, terwijl de polsfrequentie stationair 130 bleef.

Zoo bleef ook op den 25<sup>en</sup> Januari de temperatuur boven de 40° C., niettegenstaande den vorigen dag de jodoformgaastampon was verwijderd, de uterus-holte nog eens met lauwe 3% carbol-oplossing ruim was uitgespoeld en een nieuwe jodoformgaasstrook was ingebracht. Bij deze kunstbewerking bleek de uterus niet sterk af te scheiden: de jodoformgaastampon was vrij droog en verspreidde geen bijzonderen reuk.

De algemeene toestand werd steeds ongunstiger, tot dat op den 26<sup>en</sup> Januari patiente volkomen buiten kennis succombeerde. Het delireeren, dat reeds in de eerste dagen post partum was begonnen, was sub finem vitae hoe langer hoe meer toegenomen.

Van braken of diarrheën wordt in de klinische aantekeningen niets vermeld.

---

Het verslag van de obductie, die op den 27<sup>en</sup> Januari werd verricht, luidt als volgt:

Rigor mortis is aanwezig. Op den rug worden enkele

lijkvlekken, aan hals en linker axilla litteekens aangetroffen. Het abdomen is opgezet. Geen oedemen.

Na opening van den buikwand constateert men, dat het vrij vetrijke omentum links met het peritoneum parietale vergrooid is. Het colon transversum is gedeeltelijk afgedaald en met gassen gevuld. De serosa is volkomen glad; noch in 't bekken, noch in de laterale recessus bevindt zich vrije vloeistof.

De lever staat in de rechter axillair lijn, één vinger breed beneden den ribbenboog, in de mediaanlijn daarentegen slechts twee vingers breed onder het sternum. De koepel van het diaphragma reikt links tot aan den onderrand van de 4<sup>e</sup>, rechts tot aan den bovenrand van de 5<sup>e</sup> rib.

Nadat het sternum verwijderd en de borstholte geopend is, blijkt de rechter long over hare geheele oppervlakte aan den thorax-wand te adhaereeren. De linker long is vrij van adhaesies, terwijl de linker pleura-holte 75 cM<sup>3</sup> rood helder vocht bevat.

In het pericardium wordt 10 cM<sup>3</sup> helder vocht aangetroffen. Het hart bezit normale afmetingen, de kleppen vertoonen geen afwijkingen, de hartspier alleen is wat bleek van kleur. In de aorta vindt men beginnend atheroom.

Behoudens agonaal oedeem en eenige hypostase, vindt men in de longen geen veranderingen.

De milt is groot (22 cM. lang), week en bezit een grijs-roode, breiachtige pulpa (infectie-milt).

De consistentie der nieren is afgenomen, de cortex is grijs van kleur, troebel; de kapsel laat gemakkelijk los.

De binnenvlakte van den sterk uitgezette uterus (de fundus reikt tot aan het promontorium) is bleek-grijs van kleur. De spierwand en het perimetrium vertoonen geen afwijkingen: geen spoor van lymfangitis, parametritis etc.

In de blaas worden geen afwijkingen gevonden; het collum echter is een weinig hyperaemisch.

De hersenen zijn niet onderzocht.

Van de verschillende organen is geen microscopisch onderzoek verricht.

Op grond van de sterke zwelling en van de weeke consistentie der milt, van de troebele zwelling in nieren, lever en hartspier, bij afwezigheid van andere afwijkingen, rees het vermoeden, dat de oorzaak van den dood was: *acute puerperale septichaemie*.

Met nauwkeurige inachtneming der asepsis werd, met behulp van de platinalis, een kleine hoeveelheid miltsap in vloeibaar gemaakte agar-agar verdeeld en hiervan plaatculturen gegoten. Bij 33° C. hadden zich na 2 dagen een groot aantal overeenkomstige, uiterst kleine kolonies ontwikkeld van een microorganisme, waarvan de eigenschappen in de volgende hoofdstukken beschreven zijn.

### III.

## Morphologische en Biologische Eigenschappen.

---

Het microörganisme, dat op deze wijze in *reincultuur* verkregen werd, behoort tot de groep der *coccen*. Het bezit een zuiver bolronden vorm, waarvan de diameter gemiddeld  $\frac{3}{4}$   $\mu$ . bedraagt, gemeten in het droogpraeparaat van een versche bouilloncultuur, met carbol-gentiana-violet gekleurd.

Afhankelijk van den voedingsbodem, waarop de cultuur zich heeft ontwikkeld, vertoonen de coccen bij microscopisch onderzoek een verschillende wijze van aaneenschakeling. Onderzoekt men een praeparaat uit een versche streepcultuur op agar-agar, dan treft men de coccen aan, voor het grootst gedeelte in groepjes bij elkander liggend. Bij den eersten aanblik meent men met een staphylococcus te doen te hebben. Ziet men echter nauwkeuriger toe, dan vindt men hier en daar de coccen tot korte ketens aaneen geschakeld en blijkt nader, dat men met diplococcen te doen heeft.

Deze opvallende neiging tot vorming van groepjes vindt men op alle gebruikelijke vaste voedingsbodems, zoo b.v. op gelatine en op Löffler's serum.

In vloeibare media daarentegen vindt men van deze neiging tot groepenvorming niets; zonder uitzondering zijn hierin de coccen onderling tot ketens aaneengesakeld. In bouillon, waarin zich het microörganisme gedurende 24 uur bij een temperatuur van 33° C. heeft ontwikkeld, vindt men over 't algemeen betrekkelijk korte ketens; *draden van 30 individuen behooren tot de allertangste*, die ik heb kunnen waarnemen. Deze draden vormen allerlei sierlijke kronkelingen. Rechte („rigide”) ketens worden nooit aangetroffen.

Het lijkt dus wel geen twijfel, dat wij met een streptococcus te doen hebben.

Om dezen te kleuren kan men van verschillende basische aniline-kleurstoffen gebruik maken, die in 't algemeen vrij sterk worden opgenomen. Zeer scherpe beelden verkrijgt men in dekglas-praeparaten met 5 % carbol-gentianaviolet en uitwassching in gedilueerden alcohol. Bij inwerking van zuren en jodium behoudt de coccus de cenmaal opgenomen kleurstof vrij lang. Volgens de GRAMSche methode worden zeer goede praeparaten verkregen. Voor het onderzoek van onzen streptococcus in weefsels bleek deze methode de meest geschikte.

---

Bij de cultuur heb ik gebruik gemaakt van gewonen bouillon (1 L. vleeschnat [het digeratie-product van 1 pond

vleesch], 1 % pepton, 0.5 % natrium-chloride) die ook voor de bereiding der verschillende vaste voedingsbodems diende, door toevoeging van 5—10 % gelatine, 2 % agar-agar, runderbloed-serum en glycose (Löffler's serum.)

Voorts gebruikte ik ter vergelijking der resultaten van VON LINGELSHHEIM ook den volgens zijne voorschriften bereiden bouillon (1 L. vleeschnat, 3 % pepton, 25 cM<sup>3</sup> normaal natronloog).

Eindelijk kweekte ik nog op gestold runderbloed-serum, op aardappel, die in waterdamp gesteriliseerd en met physiologisch keukenzout overgoten was en in gesteriliseerde melk.

Met uitzondering van den aardappel, waarop de streptococcus wel groeit, doch een macroscopisch bijna onzichtbare cultuur ontwikkelt, verkreeg men op al deze verschillende voedingsbodems krachtige ontwikkeling.

Van het meeste belang zijn de eigenschappen van de *bouilloncultuur*.

In den gewonen bouillon ontstaat bij de ontwikkeling van den streptococcus een *diffuse* troebelheid. Bij een temperatuur van 33° C. is na 12 uur de troebelheid reeds vrij sterk; gedurende den verderen groei neemt deze nog meer en meer toe, totdat zij na ongeveer 2 dagen haar maximum bereikt heeft. Nu vindt men op den bodem van het kolfje een groot gedeelte der streptococcen bezonken in de gedaante van een wit, niet samenhangend, fijn neerslag, terwijl de vloeistof *in hooge mate en gelijkmatig troebel is gebleven*.

Laat men het kolfje in volkomen rust, dan bezinken evenwel de aanvankelijk in suspensie gehouden bacterien

geheel, waardoor de bouillon van lieverlede helderder wordt en ten slotte de oorspronkelijke doorzichtigheid volkomen terug krijgt. *Hiertoe zijn echter 6 à 7 dagen noodig.*

Wordt de bezonken bouillon-cultuur voorzichtig omgeschud, dan stijgt het neerslag in den aanvang als een nevel spiraalsgewijs op en verdeelt zich gelijkmatig in de cultuur-vloeistof. Vliesjes of klompjes ziet men in den bouillon niet.

Volkomen dezefde eigenschappen bezit de cultuur in bouillon, volgens het voorschrift van von LINGELSHEIM bereid. Hierin vindt onze streptococcus, zelfs nog na 10-voudige verdunning met een steriele physiologische keukenzoutoplossing, nog een vrij geschikt voedings-medium.

Bij de ontwikkeling van de cultuur maakt de aanvankelijk alkalische reactie der vloeistof spoedig plaats voor een intensief zure. Door toevoeging van glycose aan den bouillon, wordt deze productie van zuur nog aanmerkelijk verhoogd.

Onderzoekt men een druppel eener versche bouillon-cultuur met den microscoop, dan treft men naast diplococcen en kleinere ketens, ook draden aan van langere dimensie, 15, 20 à 30 individuen tellende. Deze zijn fraai gekronkeld, niet stijf. In verdunden bouillon zijn in 't algemeen de ketens langer en treden de diplococcen op den achtergrond.

Op *gelatine* vindt de streptococcus gunstige voorwaarden voor zijne ontwikkeling. Bij de relatief lage temperatuur, waarbij op gestolde gelatine kan gekweekt

worden, is de intensiteit van den groei echter betrekkelijk zwak, zoodat bijv. bij 20° C. de cultuur ongeveer een week noodig heeft om hare maximale ontwikkeling te bereiken.

Overigens bieden de gelatine-culturen niets belangrijks of afwijkends van andere species van streptococcen aan.

De gelatine-streepcultuur ontwikkelt zich in den vorm van een grijs-witten band, waarvan de randen uit kleine, ronde kolonies van ongeveer gelijke afmeting bestaan.

De cultuur-massa adhaereert vrij sterk aan den voedingsbodem; met den platina-lis gelukt het niet de cultuur volkomen van de oppervlakte te verwijderen.

Overeenkomstige eigenschappen bezit de gelatine-steekcultuur: een zich gelijkmatig, over de geheele lengte van het steekkanaal uitstrekkende grijs-witte streep, die bij nadere bezichtiging uit kleine ronde kolonies samengesteld blijkt te zijn. Aan de oppervlakte der gelatine-steekcultuur heeft geen groei plaats.

In de gelatine-plaatcultuur ontwikkelt zich de streptococcus in kleine ronde kolonies, die bij kamer-temperatuur eerst na 2 × 24 uur macroscopisch zichtbaar worden en dan een grijze tint bezitten. Onder den microscoop vertoonen deze kolonies zich zonder uitzondering zuiver cirkelrond en gelijkmatig korrelig. Hebben zij hunne volle ontwikkeling bereikt, (waartoe bij 20° C. een week noodig is) dan bezitten zij een helder witte kleur en bij microscopisch onderzoek nog steeds dezelfde eigenschappen: een scherpen rand, een gelijkmatig korrelig aspect, zonder ringen of kernen, zonder verschil in dikte aan de peripherie of in het centrum. Ook onder

de gunstigste voorwaarden echter blijven de kolonies steeds klein en overschrijden zij nooit de grootte van een speldekop. De mate van toetredende zuurstof schijnt weinig invloed uit te oefenen op den groei; verschil in grootte, tusschen de oppervlakkiger en dieper in de gelatine liggende kolonies, is althans niet waarneembaar.

Te vermelden is nog, dat door den streptococcus in gelatine nooit eenig spoor van vervloeiing wordt teweeg gebracht en de culturen steeds dezelfde witte kleur behouden, zoodat zij, eenmaal tot volkomen ontwikkeling gekomen, ook na langdurige observatie hetzelfde aspect behouden.

Sneller en krachtiger ontwikkelen zich de culturen op *agar-agar*. Althans bij een temperatuur van 33° C. bereiken deze binnen 2 dagen hare volkomene ontwikkeling.

De streep-cultuur doet zich voor als een doorzichtige, fijn korrelige laag, terwijl de rand gevormd wordt door duidelijk afzonderlijk gelegen kolonies.

De steek-cultuur in agar-agar levert niets karakteristieks op.

In de agar-plaatculturen zijn bij 33° C. reeds na 24 uur kleine witte kolonies duidelijk waarneembaar. Bij microscopisch onderzoek blijken zij nu eens een meer cirkelronde, of althans hiertoe naderende gedaante te bezitten, dan weer een meer ovale of lenticulaire, terwijl daarnaast allerlei onregelmatige vormen worden aange troffen. Opvallend is deze polymorphie tegenover de monotonie in de gelatine-plaat.

Nog levendiger dan op gelatine of agar-agar groeit de

streptococcus in streep-culturen op *Löffler's serum*. Op dezen voedingsbodem vindt men na 24 uur bij 33° C. een cultuur in de gedaante van een dikken, witten, glanzend vochtigen band, „en relief” boven de oppervlakte van het serum uitstekend. Integenstelling met de gelatine-streep-cultuur, is de adhaesie aan de oppervlakte van het Löffler's serum gering; met de platina-lis gelukt het zeer gemakkelijk de cultuur volkomen van de serum-oppervlakte te verwijderen.

Dezelfde eigenschappen als op Löffler's serum biedt de cultuur aan op gestold *runderbloed-serum*.

Op den *aardappel* daarentegen vindt de streptococcus geen gunstige voorwaarden voor zijnen groei, zelfs wanneer deze vooraf gedrenkt is in een steriele physiologische keukenzout-oplossing. Macroscopisch is hoogstens een aanduiding van een cultuur zichtbaar door het optreden van een minimaal kleurverschil en geringen glans op de plaats van enting; bij de meeste entingen was echter in 't geheel niets hiervan te ontdekken.

Met den microscoop daarentegen constateert men, dat zekere groei heeft plaats gevonden en vindt men korte ketens, mono- en diplococcen.

In *melk*, door herhaalde inwerking van stroomenden waterdamp gesteriliseerd, treedt bij 33° C. in de eerste dagen na de overzetting niet de minste verandering op.

Op den 3<sup>en</sup> of 4<sup>en</sup> dag vindt men daarentegen de melk *en masse* gecoöguleerd, terwijl boven het coagulum, dat volkomen den vorm van de kolf heeft aangenomen, een geringe hoeveelheid serum zich verzameld heeft.

Zagen wij hierboven reeds, dat de groei van onzen streptococcus bij 33° C. veel weelderiger was dan bij 20° C., een nog krachtigere ontwikkeling heeft plaats bij lichaamstemperatuur. Voorzoover ik kon nagaan, is bij een temperatuur van 37° C. ongeveer het optimum bereikt. Bij dezen warmtegraad heeft de agar-cultuur voor hare volkomene ontwikkeling slechts 24 uur noodig.

Bij hogere temperaturen daalt de groei-kracht weder, totdat bij 45° C. geen groei meer plaats heeft. Als minimum vond ik een temperatuur van 16° C., waarbij op agar-agar eerst na 5 dagen eenige aanduiding van groei viel te bespeuren.

Om na te gaan welken invloed de *zuurstof* op de ontwikkeling van den streptococcus uitoefent, werden culturen aangelegd in een zuurstof-vrije atmosfeer, voor welk doel gebruik werd gemaakt van de kwik-lucht-pomp, en voorts van waterstof, een, zooals voldoende bekend is, voor bacterien onschadelijk gas. Op welke wijze ik ook experimenteerde, steeds leerde de proef, dat de culturen onder afsluiting van de zuurstof, in snelheid en intensiteit van ontwikkeling niet onderdedden voor die in gewone dampkringslucht gekweekt. Evenals de meeste tot nu toe bekende pathogene bacterien, moet derhalve ook onze streptococcus gerangschikt worden onder de rij der *facultatief-anaëroben*.

Eindelijk heb ik nog onderzocht, hoe onze streptococcus zich verhoudt tegenover uitdroging en vond daarbij, dat hij tegen dezen nadeeligen invloed vrij resistent genoemd mag worden. Zijden draden, die door middel van aether van vet bevrijd en in water-

damp gesteriliseerd waren, werden met een suspensie eener versche cultuur op Löffler's serum geïmpregneerd en vervolgens in den zwavelzuur-exsiccator gedurende 24 uur gedroogd. In een gedesinfecteerd reageerbuisje met wattenprop afgesloten, bewaard, hadden deze draden na verloop van een maand nog niet de eigenschap verloren, om, op een gunstigen voedingsbodem gebracht, het aanzijn te geven aan een aantal kolonies.

Ook in culturen behoudt het microörganisme langen tijd zijne levensvatbaarheid. Uit culturen op Löffler's serum, die, 5 maanden oud, zonder eenige verdere voorzorgsmaatregelen in het donker bewaard waren, gelukte het meermalen door overenting dochterculturen te verkrijgen, die in geen enkel opzicht behoefden achter te staan bij degene, die na korteren tijd waren overgezet. Regelmatig is dit echter niet het geval; wanneer, zooals bij zomerweder, na 5 maanden de culturen sterk uitgedroogd zijn, blijft ook een overenting meestal zonder gevolg.

Ook tegenover de inwerking van zeer lage temperatuur bezit de streptococcus een vrij sterk weerstandsvermogen. Werd een versche cultuur, gedurende eenige dagen aan een temperatuur van enkele graden onder 0° C. blootgesteld, dan deed dit niet het minste nadeel aan de levensvatbaarheid.

Minder groot daarentegen is de resistentie tegenover de inwerking van hogere temperatuursgraden. Het was voldoende het Löffler's serum, waarop was overgezet, slechts gedurende  $\frac{1}{2}$  uur in een waterbad van 60° C. te dompelen om de coccen volkomen tot afsterven te brengen.

---

#### IV.

### Pathogene Eigenschappen.

---

Om de streptococcus-species verder te differentiëren zijn een aantal infectieproeven genomen bij verschillende diersoorten, die voor het bacteriologisch onderzoek de meest gebruikelijke zijn, n.l. bij het konijn, de grijze en witte muis, de cavia cobaya en de duif.

Bij deze proefdieren werden injecties verricht, zoowel subcutaan als intraveneus met culturen, die zooveel mogelijk alle onder dezelfde voorwaarden verkeerden, en, toen ik mijn onderzoek begon, reeds gedurende eenige maanden op Löffler's serum waren voortgekweekt. Gewoonlijk werd voor de infectie gebruik gemaakt van culturen, die gedurende 24 uur bij 33° C. op Löffler's serum zich hadden ontwikkeld, een enkele maal slechts van culturen op glatine (proef VI en XXI) en op agar-agar (proef XX), met het doel de virulentie bij ontwikkeling op deze voedingsbodems vast te stellen. Ter vergelijking met de uitkomsten van von LINGELSHEIM zijn ook eenige proeven genomen met culturen in bouillon,

die volgens zijne voorschriften was bereid (proef VII en VIII). Terwijl deze laatste vóór de injectie werden omgeschud, bereidde ik van de culturen op vasten voedingsbodem een suspensie door met een platina-lis de bacterie-massa in 1 cM<sup>3</sup> gesteriliseerde physiologische keukenzout-oplossing te verdeelen. De injectie geschiedde met een Pravaz-spuitje.

Vooraf werd de huid op de plaats, waar de injectie verricht zou worden, van het haar bevrijd en goed gedesinfecteerd, met de voorzorg ten slotte de desinfectievloeistof weder met alcohol te verwijderen.

De subcutane injectie geschiedde bij cavia's aan den buik; bij konijnen aan den rug en aan den wortel van het oor, bij muizen steeds aan de sacraalstreek boven den staart. Bij duiven spoot ik de cultuurvloeistof in de borstspier.

De intraveneuse injecties, die ik slechts bij het konijn verrichtte, geschieden in de randvena van het oor, nadat deze door centralen druk tot aanzwellen was gebracht. Het gelukte gewoonlijk zeer gemakkelijk de fijne naald van de Pravaz' in de vena te voeren en de injectie te verrichten, hetzij uit het aangezette stempelbuisje, hetzij uit een met guttapercha-slang verbonden buret, waar het gold grootere hoeveelheden vloeistof in de veneuse bloedbaan te brengen.

Op deze wijze verrichtte ik bij 8 konijnen, waarvan één nog onvolwassen, subcutane injecties; bij 5 (proef I—V) spoot ik  $\frac{1}{2}$  c.M<sup>3</sup>. van een suspensie eener cultuur op Löffler's serum onder de huid, bij proef VI een suspensie eener gelatinecultuur, bij proef VII en

VIII 1.0 respectievelijk 0.5 c.M<sup>3</sup>. eener cultuur in bouillon, die naar het voorschrift van von LINGELSHAIM bereid was en gedurende 2 dagen bij 33° C gestaan had.

Al deze proefdieren stierven binnen 1 tot 6 dagen na de injectie, met uitzondering van het konijn proef VIII, dat tot den 8<sup>sten</sup> dag leefde, terwijl eindelijk één konijn volkomen immuun bleek te zijn.

In de eerste uren na de injectie vertoonden de konijnen geen ziekteverschijnselen, zij springen levendig rond en nemen op gewone wijze voedsel tot zich. Terwijl sommige proefdieren den volgenden ochtend reeds dood in het hok worden gevonden, schijnen andere daags na de injectie nog geheel normaal, niettegenstaande in het bloed coccen in grooten getale voorhanden waren, wat zoowel door middel van de cultuur als door microscopisch onderzoek kon worden geconstateerd (cf. proef II). Op de plaats van injectie daarentegen heeft zich middelerwyl een ontstekingsproces ontwikkeld, zich openbarend door warmte, sterke zwelling en roodheid. In de volgende dagen neemt deze ontsteking een etterig karakter aan; op verschillende plaatsen breekt de huid door en ontlast zich pus.

Langzamerhand, bij het eene proefdier spoediger, bij het andere later, verschijnen ook teekenen van algemeen ziek-zijn. Het lichaamsgewicht neemt af, de levendigheid verdwijnt, de dieren krijgen diarrhee en eindelijk zijn zij, met hangende ooren ineengedoken, niet meer op te jagen. Zij voeden zich niet meer. De dood nadert.

Deze volgt nu eens langzaam en kalm, dan weder onder aanvallen van klonische krampen, met uitvloeijing van speeksel uit den bek en intervallen van heftigen ademnood, waarbij de geheele romp gestrekt wordt.

De temperatuur stijgt gedurende het geheele ziekteproces slechts weinig; sub finem vitae daalt zij snel onder den norm tot 30° C., 20° C., en lager.

Met uitzondering van een fibrineus-purulent ontstekings-exsudaat, dat zich over grootere of kleinere uitgestrektheid op de plaats van inoculatie vertoonde, waren bij de obductie macroscopisch geen pathologische afwijkingen te vinden. Nergens in het cadaver kon men een spoor van een exsudaat of een bloed-extravasaat aanwijzen. De hersenen, de longen, het hart (ook de klepvliezen), de groote buikklieren, de intestina en sereuse membranen, de gewrichten waren volkomen normaal; eenige malen alleen scheen de milt in geringe mate vergroot, en was de donkerbruine lever broozer dan gewoonlijk.

Regelmatig daarentegen kon uit een druppel bloed, dat onder de noodige voorzorgsmaatregelen uit den rechter boezem van het hart genomen was, een cultuur met een wisselend, dikwijls zelfs zeer aanzienlijk aantal kolonies verkregen worden, die bij nader onderzoek uit den geïnjecteerden streptococcus bleken te bestaan. Ook in de microscopische praeparaten van milt, lever en nier werden dezelfde bacteriën in grooten getale gevonden, diffuus verspreid zoowel in de bloedvaten als in het parenchym. Zij deden zich hier voor als mono- en diplococcen, zeldzamer als ketens van 4

tot 6 individuen, die ik nooit in leucocyten of bindweefselcellen aantrof, wel daarentegen in de epitheelcellen van de nier en in de levercellen. Ook op de plaats van injectie werden in de talrijke daar aanwezige leucocyten geen coccen gevonden, schoon deze daar ter plaatse tusschen genoemde elementen in zeer grooten getale aanwezig waren. Van phagocytose werd derhalve, zooals trouwens te verwachten was, niets waargenomen.

Aan de hand dezer gegevens heeft men zich dus voor te stellen, dat het microörganisme zich op de plaats van infectie, onder de verschijnselen eener acute purulente ontsteking, sterk vermenigvuldigt, hiervandaan in het bloed geraakt en op deze wijze zich door het geheele organisme verspreidt, zonder ergens ontsteking op te wekken.

De hoeveelheid cultuur, die noodig is, om een konijn te doodden, behoeft echter volstrekt niet zoo groot te zijn, als in bovengenoemde proeven werd geïnjecteerd. Zooals toch uit proef IX en X blijkt, is het voldoende een kleine insnijding in de huid te maken en deze met een in een versche cultuur op Löffler's serum gedoopte platina-lis te bestrijken, om het dier na eenige dagen te zien bezwijken onder dezelfde plaatselijke en algemeene verschijnselen als na de subcutane infectie hierboven beschreven.

In proef XI en XII vindt men de resultaten van de *intraveneuse* injectie van virulente cultuur-suspensies. Zooals uit de protocollen blijkt, wordt ook door de incorporatie van het virus langs dezen weg, het boven be-

schreven ziekte-proces te voorschijn geroepen en de dood veroorzaakt. Op twee punten van verschil alleen moet de aandacht gevestigd worden, n.l. op het uitblijven van de locale aandoening en op het veel sneller intreden van den dood.

De *stofwisselingsproducten* van den streptococcus, verkregen door filtratie van versche en oudere bouillon-culturen met behulp van filters CHAMBERLAND, wekken geen ziekte-verschijnselen. Uit de proeven XV en XVI blijkt, dat men zelfs een hoeveelheid van 20 cM<sup>3</sup> van het cultuur-filtraat per kilogram lichaamsgewicht, bij konijnen in het bloed kan spuiten, zonder dat het dier daarvan eenigen nadeeligen invloed schijnt te ondervinden. Na de injectie bleef de temperatuur normaal, het lichaamsgewicht nam niet af en de algemeene toestand liet, zelfs na den observatietijd van 14 dagen, niets te wenschen over.

Om na te gaan of de intraveneuse injectie van gefiltreerde bouillon-culturen een immuniseerenden invloed bij het konijn uitoefende, heb ik bij eenige proefdieren korter of langer tijd na zulk een intraveneuse injectie, een subcutane inoculatie met ons virus verricht. Zooals uit de proeven XIII—XVII blijkt, werd wel is waar in sommige gevallen een vertraging van het ziekteverloop waargenomen, doch in geen enkel geval absolute immuniteit geconstateerd.

Behalve voor het konijn bezit de streptococcus exquisiet pathogene eigenschappen voor de witte en grijze muis. Een suspensie, zooals boven beschreven, bereid uit culturen op Löffler's serum, agar-agar of gelatine,

werkt in hoeveelheden van 0,1 cM<sup>3</sup>, subcutaan aan den wortel van den staart geïnjecteerd, zonder uitzondering letaal (cf. proef XVIII—XXIV). Alle proefdieren sterven aan de gevolgen der infectie binnen den tijd van 1 tot 3 dagen onder de symptomen van een algemeen lijden. (Ook bij de muis levert de obductie, met uitzondering van een plaatselijk ontstekingsproces, dat vrij scherp omschreven en van kleinen omvang blijft, daarboven — waarschijnlijk wegens het zeer snelle verloop der ziekte — geen etterig karakter vertoonde, slechts negatieve resultaten op.

Hoe bijzonder gevoelig de muis voor het gif is, be-wijzen de proeven XIX, XXIII en XXIV. In deze experimenten toch, gelukte het de infectie van dier op dier over te brengen, door een platina-lis bloed van een na infectie gestorven muis bij een ander in een klein huid-wondje te inoculeeren. Tengevolge van deze inoculatie stierven de muizen even snel als na enting met een reïncultuur.

Of de virulentie-grad van den streptococcus bij deze passage veranderingen ondergaat, heb ik niet nader onderzocht.

Tusschen de grijze en witte muis onderling bestaat, wat de gevoeligheid voor het virus betreft, geen verschil; even zeker en even spoedig als bij de laatste soort, volgt bij de eerste de dood na injectie met 0.1 c.M<sup>3</sup>. eener suspensie van een Löffler's serum cultuur of met een droppel van een aan dezelfde infectie gestorven dier.

Bij microscopisch onderzoek der verschillende organen,

was ook bij deze proefdieren het microörganisme op dezelfde wijze als bij het konijn in de bloedvaten en voorts in en tusschen de parenchym-cellen, doch nergens in de leucocyten te vinden.

In tegenstelling tot het konijn en de muis bleken de duif en de *cavia cobaya* immuun te zijn.

Na injectie van 0.1, 0.2 en zelfs 0.5 cM<sup>3</sup> eener suspensie uit een cultuur op Löffler's serum, een hoeveelheid dus, die voor het konijn een doodelijke werking uitoefent, vertoont de duif niet de minste reactie.

Even refractair verhoudt zich de *cavia cobaya*, na de inoculatie van een dergelijke suspensie in hoeveelheden van 0.2, 0.4 cM<sup>3</sup> of van 0.5 cM<sup>3</sup> eener bouillon-cultuur, die zich gedurende 24 uur bij 33° C. had ontwikkeld.

## Conclusie.

---

Zoals uit de bovenstaande beschrijving van onzen streptococcus blijkt, bezit deze een aantal eigenschappen, geheel overeenkomende met die van vele andere, in de literatuur beschreven streptococceen-species. Immers, wat betreft den vorm, de verhouding tegenover kleurstoffen, het resistentie-vermogen, en de eigenschap, om ook bij afsluiting der zuurstof op kunstmatige voedingsbodems zich te ontwikkelen, komt onze streptococcus met den *streptoc. erysipelatis*, *pyogenes*, *pneumoniae conglomeratus*, *septicus* enz. geheel overeen. Hetzelfde geldt met betrekking tot de eigenschappen der culturen op vaste voedingsbodems, zoowel bij macroscopisch als bij microscopisch onderzoek. Alleen het feit, dat de culturen in het oogvallend krachtig ontwikkeld waren, krachtiger n.l. dan die van de andere hierboven vermelde streptococceen, trof mij herhaaldelijk.

Daarentegen wijkt onze streptococcus door de macroscopische en microscopische eigenschappen van de cultuur

in bouillon van de hierboven genoemde species af. Regelmatig toch werd geconstateerd, dat zoowel in gewonen licht alkalischen bouillon, als ook in den bouillon, volgens het voorschrift van VON LINGELSHEIM bereid, een diffuse en zeer intensieve troebelheid ontstond, die eerst 6 tot 7 dagen, nadat de cultuur hare volkomene ontwikkeling bereikt heeft, door langzaam bezinken der coccen verdwijnt. Men zou kunnen vermoeden, dat deze troebelheid aan eigen beweging der coccen toegeschreven moest worden. Bij onderzoek in den hangenden droppel kon ik evenwel van beweging niet constateeren.

Voorts valt op te merken, dat men in versche bouillon-culturen bij microscopisch onderzoek coccen-ketens vindt, die, schoon volstrekt niet zoo lang en fraai ontwikkeld als bij *streptoc. Erysipelatis*, *pyogenes* enz., toch vaak 20 tot 30 individuen telden, terwijl draden van 10 tot 20 individuen zeer talrijk daarin werden aangetroffen. Dat deze draden niet stijf, doch fraai gekronkeld waren, is boven uitvoerig vermeld.

Wat eindelijk de virulentie betreft, zoo bleek deze zeer hoog te zijn, zoowel voor het konijn als voor de grijze en witte muis en bovendien een zoo aanzienlijke standvastigheid te bezitten bij het voortkweken op kunstmatige voedingsbodems, als men slechts zelden bij de overige streptococcen, die lange ketens vormen en bouillon niet troebel maken, aantreft. De genoemde proefdieren stierven regelmatig aan een echte septicaemie, ook wanneer slechts zeer geringe hoeveelheden onder de huid of in het bloed werden gespoten, of in de huid werden geïnoculeerd. Opmerkelijk is bovendien

het feit, dat zoowel de cavia als de duif voor onzen streptococcus, niettegenstaande zijne zoo hoog ontwikkelde parasitaire eigenschappen, volkomen immuun waren. Voor zoover mij bekend is, heeft men deze laatste eigenschap nog bij geen enkelen streptococcus aangetroffen.

Bij vergelijking met de in de *Inleiding* vermelde schemata van VON LINGELSHEIM en KURTH constateert men derhalve dadelijk, dat de door mij beschreven streptococcus daarin niet past. Terwijl hij toch wegens de macroscopische eigenschappen der bouilloncultuur gerangschikt zou moeten worden tot de klasse der *streptococci breves* (VON LINGELSHEIM), of tot die der *streptococci rigidi* (KURTH), leert het microscopisch onderzoek, dat men noch met korte, noch met stijve draden te doen heeft.

Doch bovendien is onze streptococcus uiterst virulent, zoodat ook om deze reden dit microörganisme niet tot de saphrophyten-groep van VON LINGELSHEIM kan worden gerekend.

Hiermede, dunkt mij, is het bewijs geleverd, dat ook de nieuwere verdeelingen der streptococcen niet aan de eischen voldoen, en dat de criteria voor een classificatie nog niet gevonden zijn. Voorts blijkt, naar het mij voorkomt, uit mijne bevinding, dat er tusschen de pathogene streptococcen van den mensch grootere verschillen bestaan, dan men tot dusver meende te mogen aannemen, zoodat het zeer wenschelijk geacht moet worden, nogmaals deze microben aan een nauwkeurig onderzoek te onderwerpen.

Op grond van de feiten, dat onze streptococcus in reïncultuur uit de milt van een aan acute puerperale septichaemie overleden patiente werd gekweekt, bij het konijn, de witte en de grijze muis regelmatig septichaemie verwekt, en bovendien door de eigenschappen der cultuur in bouillon geheel afwijkt van de tot dusver bij den mensch aangetroffen streptococcen, geef ik in overweging aan dit microörganisme den naam te geven van *streptococcus septichaemiae hominis*.

Een kort overzicht van de eigenschappen van dit microörganisme wordt in de hier volgende tabel gegeven, ontworpen volgens het schema van JAMES EISENBERG'S „bakteriologische Diagnostik.”

## Streptococcus septichaemiae hominis.

<i>Aangetroffen:</i>	In de milt van een aan acute septichaemia puerperalis gestorven vrouw.
<i>Vorm.</i>	Zuiver bolronde coccen, met een diameter van $\pm \frac{3}{4} \mu$ , aaneengeschakeld tot diplococcen en tot ketens van 10 tot 20 tot 30 individuen.
<i>Bewegelijkheid.</i>	Geen eigenbeweging.
<i>Groei: op platen</i>	van gelatine, als zeer kleine, zuiver ronde kolonies, die de gelatine niet doen vervloeien. van agar-agar, eveneens als kleine kolonies, waarvan de vormen echter onregelmatig zijn.
<i>In steekculturen</i>	van gelatine, als een grijs-witte streep, die uit kleine ronde kolonies blijkt samengesteld te zijn.
<i>In streepculturen.</i>	Op gelatine ontwikkelt zich de streptococcus in den vorm van een grijs-witten band, waarvan de randen uit afzonderlijk liggende kolonies bestaan. Op agar-agar als een doorzichtige fijnkorrelige laag. Op Löffler's serum heeft zich bij 33° C. na 24 uur een dikke, witte, glanzende cultuur ontwikkeld. Op gestold runder-serum bezit de cultuur ongeveer dezelfde eigenschappen als die op Löffler's serum.
<i>Op aardappelen.</i>	Slechts een aanduiding van een cultuur.
<i>In bouillon.</i>	Zoowel in den gewonen alkalischen bouillon als in dien, volgens het voorschrift van von LINGELSHHEIM bereid, ont-

<i>In melk</i>	staat een intensieve diffuse troebelheid, die eerst na 6 tot 7 dagen door bezinken der coccen verdwijnt. In dezen bouillon worden ketens aangetroffen van 10 tot 20 tot 30 individuen. ontstaat bij een temperatuur van 33° C. op den 3 <sup>en</sup> of 4 <sup>en</sup> dag een coagulatie „en masse”, terwijl een geringe hoeveelheid serum boven de koek zich verzamelt.
<i>Temperatuur.</i>	Groeit 't krachtigst bij lichaamstemperatuur. Het minimum: 16° C.; boven de 45° C. vindt geen groei meer plaats.
<i>Snelheid van groei:</i>	groeit betrekkelijk snel.
<i>Sporenvorming.</i>	Geen sporenvorming.
<i>Aanwezigheid van lucht.</i>	Groeit ongeveer even krachtig bij afsluiting van de zuurstof als in de gewone atmosfeer.
<i>Gasproductie.</i>	Geen gasproductie.
<i>Verhouding tot gelatine</i>	brengt geen spoor van vervloeijing teweeg.
<i>Kleurstoffen.</i>	Tingeerbaar met alle gebruikelijke anilinekleurstoffen; ook volgens GRAM.
<i>Pathogenese.</i>	Doodt zelfs in zeer geringe hoeveelheden konijnen door septichaemie, zoowel na subcutane als na intraveneuse injectie. Eveneens sterven de witte en grijze muis na subcutane infectie aan een acute septichaemie. De infectie is van dier op dier over te brengen. Daarentegen zijn cavia's en duiven zelfs voor groote hoeveelheden immuun.

WAARNEMINGEN.

# Infectie-proeven bij het Konijn.

## A. SUBCUTANE INFECTIE.

### Proef I.

21 Sept. 1891. Bij een grijs konijn, dat een lichaamsgewicht bezit van 2150 gram, wordt  $\frac{1}{2}$  cM<sup>3</sup> eener Löffler's serumcultuur-suspensie subcutaan in den rug geïnjecteerd.

22 Sept. 1891. Het lichaamsgewicht bedraagt 2050 gram. Het dier is minder levendig en sleept den rechter achterpoot mede.

24 Sept. 1891. Het dier is zwaar ziek, zit ineengedoken en is bijna niet op te jagen. Beide achterpooten zijn paretisch. Het lichaamsgewicht is gedaald tot 1850 gram.

Op den namiddag wordt het dier dood in 't hok gevonden.

Obductie. Onder de huid van de regio lumbalis, beantwoordend aan de plaats van injectie, vindt men over groote uitgestrektheid een fibro-purulent ontstekingsexsudaat.

Overigens worden geen afwijkingen gevonden: de buik- en borstholte, noch het pericard bevat vrij vocht, de sereuse vliezen zijn volkomen normaal. De intestina vertoonen geen haemorrhagieën, noch ontstekingsprocessen.

De groote buikklieren bieden niets pathologisch aan, de milt is in zeer geringe mate vergroot. Overige organen: long, hart, hersenen zijn volkomen normaal; ook in de gewrichten is niets te vinden.

Bacteriologisch onderzoek. Uit het, met aseptische

voorzorgsmaatregelen opengesneden hart, wordt een druppel bloed genomen en op agar-agar en Löffler's serum uitgestreken: na 24 uur vindt men in de beide eprouvetten welig ontwikkelde kolonies, die bij controle-onderzoek uit identische coccen blijken te bestaan (cf. ook proef IV).

Ook uit het ontstekingsexsudaat worden dezelfde culturen verkregen.

### Proef II. .

29 Sept. 1891.  $\frac{1}{2}$  cM<sup>3</sup> eener Löffler's serumcultuur-suspensie wordt bij een wit konijn, 1690 gram wegend, subcutaan in het linker oor gespoten.

30 Sept. 1891. Het linker oor is sterk ontstoken, (rood, gezwollen) en hangt. Het dier is minder levendig, neemt echter op gewone wijze voedsel tot zich.

Uit de randvena van het normale rechter oor wordt met aseptische voorzorgsmaatregelen een druppel bloed op een dekglas opgevangen en op de gebruikelijke wijze volgens GRAM gekleurd: de coccen worden reeds in groote menigte aangetroffen.

1 Oct. 1891. De algemeene toestand blijft vrij gunstig; de temperatuur bedraagt 41° C. en het lichaamsgewicht 1560 gram.

5 Oct. 1891. Op enkele plekken van het linker oor vindt men haemorrhagisch exsudaat doorgebroken. De algemeene toestand wordt ongunstiger; het lichaamsgewicht bedraagt 1520 gram.

6 Oct. 1891. 's Morgens vroeg wordt het dier dood gevonden.

Obductie. Behalve het fibrineus-purulente ontstekingsproces in het linker oor, wordt in het geheele cadaver niets gevonden.

De milt is absoluut normaal.

In het hart worden stolsels gevonden.

Bacteriologisch onderzoek. De agarbuisjes, met een druppel hartbloed geënt, vertoonen na 24 uur, slechts een zeer gering aantal kolonies.

## Proef III.

29 Sept. 1891. Bij een grijs konijn, met lichaamsgewicht van 1850 gram, wordt  $\frac{1}{2}$  cM<sup>3</sup> eener Löffler's serumcultuur-suspensie subcutaan in het linker oor gespoten.

30 Sept. 1891. Het linker oor is sterk ontstoken.

Het dier zit ineengedoken, zonder voedsel tot zich te nemen.

31 Sept. 's Morgens vroeg wordt het dier dood in het hok gevonden.

Obductie. Idem proef II.

Milt is donker gekleurd, niet vergroot.

Bacteriologisch onderzoek. In de agar-buisjes, met een druppel hartsbloed geënt, vindt men na 24 uur een groot aantal kolonies ( $\pm$  40).

## Proef IV.

29 Sept. 1891.  $\frac{1}{2}$  cM<sup>3</sup> eener Löffler's serumcultuur-suspensie (dochtercultuur 2<sup>e</sup> generatie uit de kolonies van het bloed van proef I) wordt bij een zwart konijn, 2330 gram wegend, subcutaan in het linker oor geïnjecteerd.

30 Sept. 1891. Het geïnjecteerde oor is sterk ontstoken, hangt. Algemeene toestand overigens gunstig.

1 Oct. 1891. Het dier is levendig, bezit een lichaamsgewicht van 2130 gram en temperatuur van 41.5° C.

Allengs wordt de algemeene toestand minder gunstig, en treden aan alle 4 extremiteiten pansen op.

3 Oct. 1891. Het lichaamsgewicht bedraagt slechts 2000 gram.

Onder aanvallen van klonische krampen en heftigen ademenood treedt de dood in; sub finem vitae daalt de temperatuur in het rectum tot 34.6° C., 29.7° C. en lager.

Bij de terstond verrichte Obductie valt in het geheele cadaver geen pathologische afwijking te constateeren, met uitzondering weder van de locale affectie aan het linker oor.

Een druppel bloed op agar-agar uitgestreken, geeft het aanzijn aan een reeks kolonies.

## Proef V.

23 Dec. 1891. Bij een grijs konijn, waarvan het lichaamsgewicht 2450 gram bedraagt, wordt  $\frac{1}{2}$  cM<sup>3</sup> eener Löffler's

serumcultuur-suspensie in de subcutis van den rug geïnjectieerd.

24 Dec. 1891. 's Morgens wordt het dier reeds dood gevonden.

Obductie. Ter plaatse der injectie, wordt over de uitgestrektheid van een halve handpalm een oranjekleurig purulent exsudaat aangetroffen, gelegen in en boven de fascia; de onderliggende spier vertoont in hare oppervlakkigste laag bloeduitstortingen.

Overigens levert de obductie weder negatieve resultaten.

Milt is slechts in geringe mate vergroot.

In de nauwkeurig onderzochte hersenen kan geen enkele afwijking geconstateerd worden.

Bacteriologisch onderzoek. In de met een druppel hartsbloed geënte agar-buisjes heeft zich na 24 uur bij 33° C. een samenhangende rij van kolonies ontwikkeld.

#### Proef VI.

23 Dec. 1891. In de subcutis van den rug wordt bij een jong zwart konijn, waarvan het lichaamsgewicht 850 gram bedraagt,  $\frac{1}{2}$  cM<sup>3</sup> eener gelatinecultuur-suspensie geïnjectieerd.

N.B. De gelatinecultuur had zich bij kamertemperatuur gedurende 14 dagen ontwikkeld. De cultuur was niet zeer krachtig opgegroeid, en kon bij de bereiding van de suspensie niet in haar geheel van den voedingsbodem verwijderd worden.

24 Dec. 1891. 's Middags overlijdt het konijn.

Obductie. Op de plaats van injectie in de lumbaalstreek vindt men in de fascia groote bloedeilanden, in de daaronder liggende spier slechts sporen van bloeduitstortingen. Het ontstekingsproces heeft zich tot in de mediaanlijn van den buik voortgezet; het peritoncum, aan de plaats der huidontsteking beantwoordend, is echter volkomen normaal gebleven.

Ook hier levert overigens de sectie geen bijzonderheden op. De milt is niet vergroot.

Bacteriologisch onderzoek. Daarentegen blijkt uit de agarculturen van een druppel bloed, dat een groot aantal

coccon in de circulatiebanen aanwezig was. Na 24 uur werd in de cultuurbuisjes een samenhangende rij van dicht naast elkander gelegen kolonies aangetroffen.

#### Proef VII.

13 Mei 1892. Uit een bouilloncultuur, die zich gedurende  $2 \times 24$  uur bij temperatuur van  $33^{\circ}$  C. heeft ontwikkeld, wordt, na sterk omschudden,  $1 \text{ cM}^3$  ontnomen en bij een wit konijn, waarvan het lichaamsgewicht 1620 gram bedraagt, subcutaan in het rechter oor geïnjecteerd.

14 Mei 1892. Het geïnfecteerde oor is sterk ontstoken; overigens valt echter niets aan het dier te bespeuren.

16 Mei 1892. Het rechter oor is met bloed en sereus vocht doordrenkt; de ontsteking heeft zich ook op het linker oor voortgezet.

Het lichaamsgewicht bedraagt slechts 1410 gram.

Uit een blootgelegde vena van den buikwand gelukt het aseptisch eenige droppels op te vangen en op agar en Löffler's serum met positief resultaat te enten.

17 Mei 1892. De algemeene toestand is nog ongunstiger geworden; het lichaamsgewicht bedraagt 1360 gram. Het dier neemt ternauwernood voedsel meer tot zich; het beweegt zich bijna niet meer: aan alle 4 extremiteiten, voornamelijk aan de 2 voorste, zijn paresthesiën opgetreden.

Nog op denzelfden dag sterft het dier.

Obductie. In het rechter oor wordt een fibrineus-etterig en haemorrhagisch ontstekingsexsudaat aangetroffen. Dwars over den kop is het ontstekingsproces van het rechter naar het linker oor te vervolgen. Overigens slechts negatieve resultaten.

Bacteriologisch onderzoek. Idem proef VI.

#### Proef VIII.

13 Mei 1892. Uit dezelfde bouilloncultuur als bij proef VII wordt  $\frac{1}{2} \text{ cM}^3$  bij een wit konijn, 1580 gram wegend, subcutaan in het rechter oor geïnjecteerd.

16 Mei 1892. Het konijn maakt den indruk algemeen ziek

te zijn; aan de achterextremiten zijn lichte pansen waar te nemen.

De toestand wordt steeds ongunstiger.

21 Mei 1892. Aan alle 4 extremiten verlamd, kan het dier zich niet meer op de pooten houden.

De sensibiliteit aan de extremiten heeft echter niet geleden.

Het lichaamsgewicht is gedaald tot 1380 gram en dunvloeibare faeces worden ontlast.

's Middags te 5 uur is het dier stervend.

22 Mei 1892. Obductie.

Het locaalproces is slechts gering.

Overigens idem proef I—VII.

Bacteriologisch onderzoek. De cultuurbuisjes met hartsbloed geënt, vertoonen na 24 uur slechts enkele kolonies.

## B. CUTANE INFECTIE.

### Proef IX.

19 Jan. 1892. Aan den wortel van het linker oor wordt bij een krachtig zwart konijn, onder aseptische voorzorgsmaatregelen een cutaan wondje van  $\pm 2$  cM. gemaakt, zonder dat bloeding daarbij optreedt, en dit geïnfecteerd door bestrijken met de, in een Löffler's serumcultuur gedoopte platina-lis.

20 Jan. 1892. Het linker oor is sterk ontstoken, ook het rechter is rood en gezwollen.

22 Jan. 1892. Aan de voorextremiten zijn pansen opgetreden. Het dier is algemeen ziek, en wordt

23 Jan. 1892, dood in het hok gevonden.

Bij de Obductie kunnen geen afwijkingen in het cadaver worden opgespoord, met uitzondering van het ontstekingsproces aan het linker oor, met de voortschrijding naar het rechter.

Bacteriologisch onderzoek. Na 24 uur vertoonen de agar-eprouvetten met een druppel bloed geënt, een dicht aaneengeschakelde rij kolonies.

## Proef X.

19 Jan. 1892. Een volwassen bruin konijn wordt op dezelfde wijze als bij proef IX, aan den wortel van het linker oortaan geïnfecteerd.

20 Jan. 1892. Aan het linker oor is het ontstekingsproces opgetreden.

23 Jan. 1892. Het dier is algemeen ziek, en wordt

25 Jan. 1892, dood in het hok gevonden.

Obductie. Aan het linker oor, is een fibrineus-etterig ontstekings-exsudaat waar te nemen. Behalve een geringe miltzwelling, kan in het cadaver geen afwijking geconstateerd worden.

Bacteriologisch onderzoek. In de met een druppel hartsbloed geënte agar-buisjes worden na 24 uur slechts eenige kolonies verspreid aangetroffen (controle-onderzoek).

C. INTRAVENEUSE INJECTIE VAN VIRULENTE CULTUREN.

## Proef XI.

6 Oct. 1891. 1 cM<sup>3</sup> eener Löffler's-serumcultuur-suspensie wordt bij een grijs konijn, waarvan het lichaamsgewicht 1680 gram bedraagt, in de randvena van het rechter oortoe geïnjecteerd.

Eenige uren later schijnt het dier nog volkomen gezond.

7 Oct. 1891. 's Morgens vroeg wordt het dier reeds dood in het hok gevonden.

Obductie. In het geheele cadaver is geen enkele pathologische verandering te constateeren; ook de plaats van injectie vertoont niet het minste teeken van ontsteking.

Bacteriologisch onderzoek. In tegenstelling met de absoluut negatieve resultaten, die de obductie oplevert, kan in het bloed een groot aantal bacterien worden opgespoord, zoowel met den microscoop als door middel van de cultuur.

In het dekglaspraeparaat, volgens de Gramsche methode gekleurd, vindt men deze terug in grooten getale als mono- en diplococcus, enkele malen ook in korte ketens van 4 individuen; nooit worden ze in leucocyten opgesloten gevonden.

Proef XII.

6 Oct. 1891. Bij een grijs konijn, dat 1850 gram weegt, wordt in de randvena van het rechter oor  $\frac{1}{2}$  cM<sup>3</sup> eener Löffler's serumcultuur-suspensie geïnjectieerd.

8 Oct. 1891. 's Morgens wordt het dood gevonden.

De obductie is niet verricht.

D. INTRAVENEUSE INJECTIE VAN BOUILLON-  
CULTUUR-FILTRAAT, GEVOLD DOOR SUBCUTANE  
INFECTIE MET VIRULENTE CULTUREN.

Proef XIII.

Een bouillon-cultuur, die zich gedurende 4 dagen bij 33° C. heeft ontwikkeld, en daarna nog 7 dagen bij koele kamertemperatuur is bewaard, wordt door middel van een CHAMBERLAND filter van bacterien bevrijd.

10 Nov. 1891. Bij een bruin-wit konijn, 2430 gram wegend, wordt in de randvena van het linker oor 12.15 cM<sup>3</sup> (d. i.  $\frac{1}{2}$  0/0 van het lichaamsgewicht) van dit filtraat geïnjectieerd.

Het dier heeft op deze injectie niet het minst gereageerd, noch lokaal, noch algemeen. De temperatuur is niet boven de 40° C. geklommen, terwijl op den 6<sup>en</sup> dag post inoculationem het lichaamsgewicht 2510 gram bedroeg, dus zelfs vermeerderd was.

17 Nov. 1891. Bij het volkomen gezonde dier wordt nu  $\frac{1}{2}$  cM<sup>3</sup> eener Löffler's serumcultuur-suspensie in de subcutis van het rechter oor gespoten.

18 Nov. 1891. Het rechter oor verkeert in ontsteking: het voelt warm aan en is gezwollen.

In de eerstvolgende dagen neemt de ontsteking van het oor steeds meer en meer toe, en baant zich het exsudaat een

weg naar buiten. De algemeene toestand blijft daarentegen in den aanvang goed, niettegenstaande de temperatuur tot over de  $41^{\circ}$  C. stijgt.

25 Nov. 1891. Allengs is het dier echter algemeen ziek geworden; het is vermagerd en zit incengedoken; aan de linker achterextremiteit zijn paresen opgetreden. Het rechter oor is ondertusschen voor een deel ineengeschrompeld, terwijl op sommige plekken het ontstekings-exsudaat nog steeds uitsijpelt.

Zoo gaat van dag tot dag de toestand achteruit, totdat 1 Dec. 1891, de dood is ingetreden.

Het lichaamsgewicht bedraagt slechts 1670 gram.

Bij de Obductie wordt onder de huid op het sternum over groote uitgestrektheid een purulent exsudaat gevonden, dat langs het verloop der groote vaten aan de rechter zijde van den hals te vervolgen is tot aan het rechter oor, het uitgangspunt der infectie.

Evenals bij de voorgaande proeven, wordt overigens in het cadaver geen enkele afwijking gevonden.

Bacteriologisch onderzoek. Zoowel met behulp van den microscoop (kleuring volgens GRAM) als langs den weg der cultuur wordt de aanwezigheid der coccen in het bloed vastgesteld. Tot hetzelfde resultaat leidt het onderzoek van de pus.

#### Proef XIV.

10 Nov. 1891. Van hetzelfde bouillonfiltraat als in proef XIII wordt bij een grijs konijn, waarvan het gewicht 1970 gram bedraagt,  $19.70 \text{ cM}^3$  (d. i. à 1 % van het lichaamsgewicht) in de randvena van het linker oor gespoten.

Evenmin als in de voorgaande proef, vertoont het dier na deze injectie de geringste reactie. De temperatuur stijgt niet boven de  $40.2$ . Het lichaamsgewicht is ook niet afgenomen, op den 16<sup>en</sup> Nov. bedraagt dit 1980 gram.

17 Nov. 1891. Bij het volkomen gezonde dier wordt  $\frac{1}{2} \text{ cM}^3$  eener Löffler's serumcultuur-suspensie subcutaan in het rechter oor geïnjecteerd.

18 Nov. 1891. Het rechter oor is warm, rood, gezwollen.

de temperatuur bedraagt 41° C. Het lichaamsgewicht daalt echter weinig; op den 23<sup>en</sup> Nov., den dag vóór den dood bedraagt het nog 1840 gram.

24 Nov. 1891. De exitus treedt onder convulsies in; een uur te voren werd bij de opname per anum een temperatuur van 29.5° C. gevonden.

Noch de Obductie, noch het bacteriologisch onderzoek levert bijzonderheden op. In het microscopisch praeparaat van een partikeltje uit de pus zijn de coccen, volgens de GRAMSche methode gekleurd, talrijk aanwezig, behalve als mono- en diplocoecus ook in draden van 4 tot 8 individuen.

#### Proef XV.

10 Nov. 1891. Van hetzelfde bouillonfiltraat (idem proef XIII) wordt 46.40 cM<sup>3</sup>, d. i. overeenkomend met 2 % van het lichaamsgewicht, bij een grijs konijn, dat 2320 gram weegt, in de randvena van het oor geïnjecteerd.

17 Nov. 1891. Bij het dier, dat 2020 gram zwaar is, en geen afwijkingen vertoont, wordt  $\frac{1}{2}$  cM<sup>3</sup> eener cultuursuspensie (idem proef XIII) subcutaan in het linker oor gespoten.

18 Nov. 1891. Het linker oor is sterk ontstoken.

De temperatuur stijgt op den 2<sup>en</sup> en 3<sup>en</sup> dag tot 41.2° C. De algemeene toestand gaat van dag tot dag achteruit. Het dier zit ineengedoken en kan zich ten slotte niet meer voortbewegen, wanneer het opgejaagd wordt (paresen). Het lichaamsgewicht neemt sterk af en bedraagt op den

29 Nov. 1891, toen het dier dood in het hok gevonden werd, slechts 1540 gram.

Bij de obductie en het bacteriologisch onderzoek viel niets bijzonders te commemoreeren. De milt was in geen deele vergroot, eerder abnormaal klein, en in het bloed werden een aantal coccen gevonden, die zich volgens GRAM lieten kleuren.

#### Proef XVI.

10 Dec. 1891. Een bouilloncultuur, die zich gedurende 3 dagen in de broedstof bij 33° C. heeft ontwikkeld, wordt door middel van een filter CHAMBERLAND kieuvrij gemaakt.

Bij een wit konijn, 2080 gram zwaar, wordt 41.60 cM<sup>3</sup> (d. i. a 2 % van het lichaamsgewicht) van dit filtraat in de randvena van het oor gespoten.

Op deze injectie van het filtraat is geen reactie gevolgd. De temperatuur is onder de 40° C. gebleven.

24 Dec. 1891. 14 dagen later wordt bij hetzelfde konijn, waarvan het lichaamsgewicht niet verminderd was (1920 gram) 1/2 cM<sup>3</sup> eener Löffler's serumcultuur-suspensie subcutaan in den rug geïnjecteerd.

27 Dec. 1891. Reeds na 3 dagen is de dood ingetreden.

Bij de Obductie wordt op den rug, beantwoordend aan de plaats van injectie, een fibrineus-purulent ontstekings-exsudaat aangetroffen, en een vergroting van de milt geconstateerd.

#### Proef XVII.

10 Dec. 1891. Een grijs konijn, met een lichaamsgewicht van 1870 gram, krijgt 37.40 cM<sup>3</sup> (d. i. overeenkomend met 2 % van het lichaamsgewicht) van hetzelfde filtraat, dat bij proef XVI ter injectie is gebruikt, deels intraveneus, deels subcutaan in den rug.

11 Dec. 1891. Bij het volkomen normale dier wordt een subcutane injectie verricht van 1/2 cM<sup>3</sup> eener Löffler's serumcultuur suspensie.

12 Dec. 1891. Een dag later bedraagt de temperatuur 40.8° C. en is de linker achterextremitet paretisch geworden.

15 Dec. 1891. Vier dagen na de inoculatie is het dier algemeen ziek. Het zit ineengedoken en ontlast dunne faeces. In de urine kan geen eiwit aangetoond worden.

17 Dec. 1891. Het wordt dood in het hok gevonden.

Obductie. De inwendige organen zijn volkomen normaal. Op de rugvlakte wordt ter plaatse van de injectie een purulent exsudaat aangetroffen. Deze heeft de uitgebreidheid van een handpalm verkregen, zonder op de paretische achterextremitet over te gaan.

Bacteriologisch onderzoek. De onderzochte pus-massa vertoont een groot aantal bacterien, voornamelijk als monococcus, vrij veelvuldig ook als diplococcus, terwijl hier en daar ketens van 6—8 individuen worden aangetroffen.

## Infectie-proeven bij de witte Muis.

### Proef XVIII.

27 Oct. 1891. Bij 3 witte muizen wordt boven den staart door middel van een Pravaz' spuitje een subcutane injectie verricht van 0.1 cM<sup>3</sup> eener Löffler's-serumcultuur-suspensie.

28 Oct. 1891. Alle 3 muizen worden dood gevonden.

Obductie. Met uitzondering van de plaats van injectie, waar een circumscript fibrineus-purulent exsudaat aangetroffen wordt, vindt men geen enkele afwijking.

Bacteriologisch onderzoek. Een druppel hartsbloed, op agar-agar-gelei uitgestreken, geeft het aanzijn aan een groot aantal kolonies. Ook bij het microscopisch onderzoek van het bloed als droogpraeparaat worden de coccen, na kleuring volgens de Gramsche methode, in grooten getale aangetroffen, en wel diffuus verspreid als monococcus, betrekkelijk veelvuldig nog als diplococcus, terwijl ketens van 4 tot 6 individuen zeldzamer zijn. Deze liggen steeds vrij, worden niet in leucocyten ingesloten gevonden.

De inwendige organen: milt, lever, nier worden microscopisch onderzocht. In al deze organen vindt men de coccen nooit in groepen gerangschikt, maar altijd diffuus verspreid in en tusschen het parenchym.

### Proef XIX.

28 Oct. 1891. Bij een witte muis, wordt, nadat boven den staart onder aseptische voorzorgsmaatregelen een kleine snede is gemaakt, een in het bloed van een der muizen van proef XVIII gedoopte platina-lis door de wond in het subcutane weefsel gevoerd.

29 Oct. 1891. Het diertje is schijnbaar gezond, wordt echter

30 Oct. 1891, dood in het hok gevonden.

Obductie. Idem proef XVIII.

Bacteriologisch onderzoek. De met een druppel

hartsbloed geënte cultuur-buisjes vertoonen, na 24 uur in de broedstof gestaan te hebben, welige kolonies.

Ook bij microscopisch onderzoek van het bloed zijn de coccen in grooten getale te constateeren, veelvuldig paarsgewijs.

#### Proef XX.

14 Dec. 1891. 0,1 cM<sup>3</sup> eener agar-streepcultuur-suspensie wordt bij een witte muis onder de noodige voorzorgsmaatregelen met behulp van een Pravaz' spuitje in de huid boven den staart geïnjecteerd.

16 Dec. 1891. Het diertje zit ineengedoken en maakt den indruk zwaar ziek te zijn.

17 Dec. 1891. Het reageert niet meer op aanraking, noch op knippen van den staart. Op den middag sterft het onder krampachtige respiratie-bewegingen, en tuimelt daarbij op den rug.

De Obductie geeft volkomen negatieve resultaten. Ook het. locaal proces is gering en bestaat slechts uit een diffuse vaatinjectie.

Bacteriologisch onderzoek is niet verricht.

#### Proef XXI.

14 Dec. 1891. 2 witte muisjes worden op dezelfde wijze als in proef XX boven den staart geïnfecteerd met 0.1 cM<sup>3</sup> eener gelatine-cultuur-suspensie. (De gelatine-cultuur had zich gedurende 5 dagen bij kamertemperatuur goed ontwikkeld.)

15 Dec. 1891. Beide muizen zijn ziek; een dezer sleept de rechter achterextremititeit mede.

16 Dec. 1891. 's Morgens vroeg zijn beide gesuccombeerd. Obductie. Idem proef XX.

Bacteriologisch onderzoek. In de, met een droppel hartsbloed geënte agar-buisjes ontwikkelt zich een samenhangende reeks van kolonies.

## Infectie-Proeven bij de grijze Huismuis.

### Proef XXII.

2 Nov. 1891. Bij 3 grijze muizen wordt boven den staart onder aseptische voorzorgsmaatregelen een subcutane infectie van 0,1 cM<sup>3</sup> eener Löffler's-serum cultuur-suspensie verricht met behulp van een Pravaz' spuitje.

3 Nov. 1891. 's Morgens vroeg loopen de dieren nog levendig rond, langzamerhand verliezen zij echter hunne levendigheid, blijven ineengedoken zitten en sterven nog op den middag.

Obductie levert slechts negatieve resultaten op, met uitzondering van een lokaal ontstekingsproces op de plaats van injectie.

Bacteriologisch onderzoek. Zoowel bij microscopisch onderzoek van het bloed, als in de agar-agarculturen zijn de coccen in grooten getale te constateeren.

Ook in de coupes uit lever, milt en nier zijn ze terug te vinden.

### Proef XXIII.

3 Nov. 1891. Een grijze muis wordt met het bloed van een der gesuccombeerde muizen uit proef XXII, geïnfecteerd. Daartoe wordt in de sacraalstreek onder de noodige voorzorgsmaatregelen een kleine huidwond gemaakt en door middel van een platina-lis het infectieuze bloed onderhuids ingevoerd.

9 Nov. 1891. Exitus.

De Obductie geeft slechts negatieve uitkomsten; ook de injectie-plek vertoont microscopisch geen veranderingen.

Bacteriologisch onderzoek. In de, met een druppel hartbloed geënte agar-eprouvetten wordt na 24 uur een samenhangende reeks van kolonies gevonden. Bij het microscopisch onderzoek van het bloed treft men ze eveneens in grooten getale aan.

## Proef XXIV.

9 Nov. 1891. Bij een grijze muis wordt op volkomen dezelfde wijze als in proef XXIII de infectiestof onderhuids ingevoerd. Ter infectie wordt het bloed genomen uit het hart van de grijze muis, proef XXIII.

10 Nov. 1891. Het dier is algemeen ziek.

11 Nov. 1891. Het wordt dood in het hok gevonden.

Obductie. Behalve een bloederig-sereus ontstekings-exsudaat op de injectieplek, wordt in het geheele cadaver niets gevonden.

Bacteriologisch onderzoek. Een droppel bloed op agar-agar-gelei overgezet, geeft het aanzijn aan een aantal kolonies.

Reeds bij microscopisch onderzoek zijn de coccen in grooten getale in het bloed en in de inwendige organen op te sporen.

Ook in de urine zijn ze voorhanden als diplo-cocceen.

---

## Infectie-Proeven bij de Duif.

## Proef XXV.

9 Jan. 1892. Bij 4 volwassen duiven, waarvan het gewicht ongeveer 400 gram bedraagt, wordt een suspensie van Löffler's-serum-cultuur in den m. pectoralis geïnjecteerd en wel

bij 2 blauwe duiven elk. . . . . 0.1 cM<sup>3</sup>

bij 1 witte duif. . . . . 0.2 "

bij 1 zwarte duif. . . . . 0.5 "

De dieren vertoonen hierop niet de minste reactie.

---

## Infectie-Proeven bij de Cavia Cobaya.

## Proef XXVI.

13 April 1892. Bij 3 cobaya's, waarvan het gewicht gemiddeld ± 700 gram bedraagt, wordt met behulp van een

Pravaz' spuitje Löffler's-serum cultuur-suspensie subcutaan in den rug gespoten:

bij de eerste . . . . 0,2 cM<sup>3</sup>

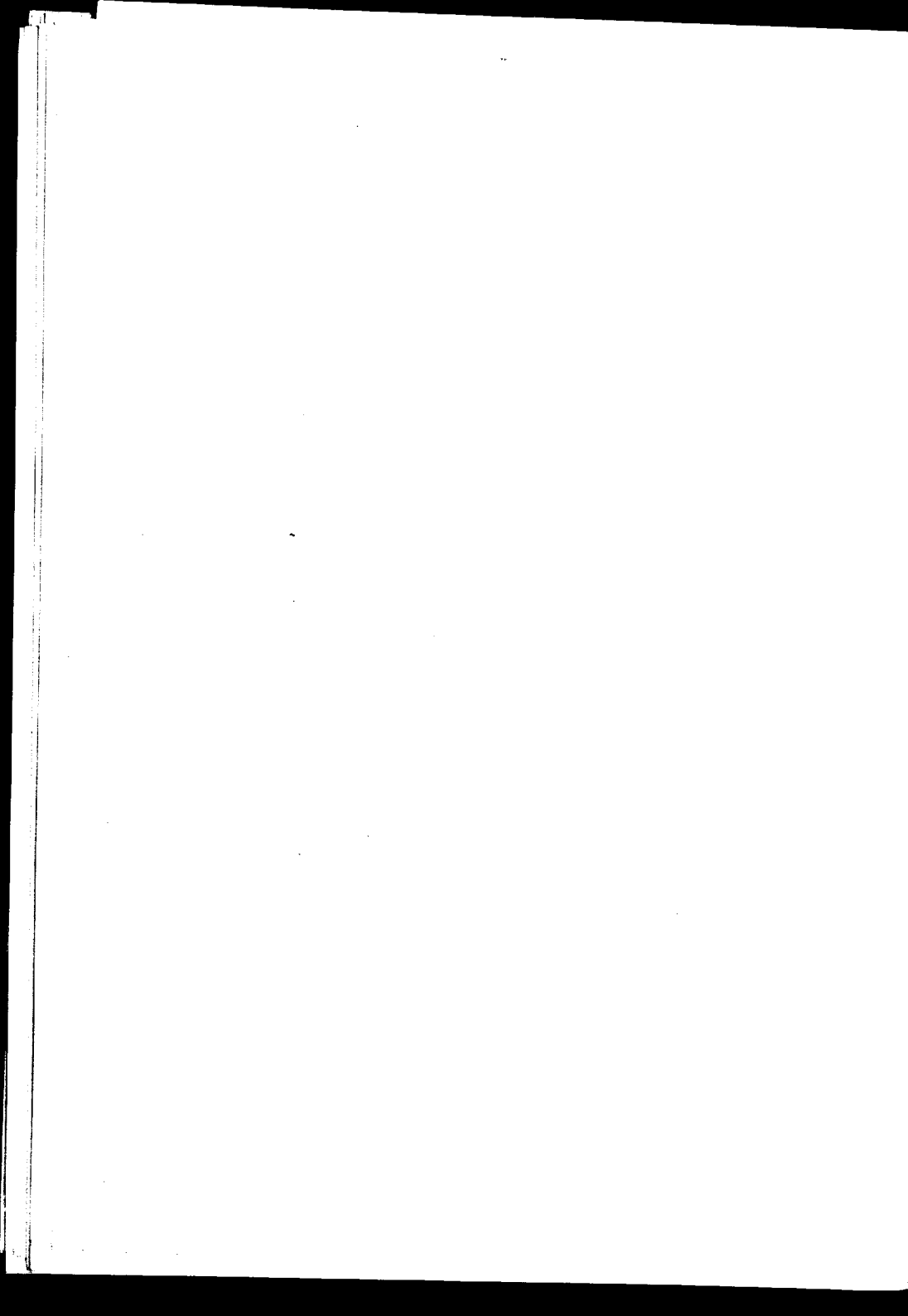
bij de tweede. . . . 0,2 "

bij de derde . . . . 0,4 "

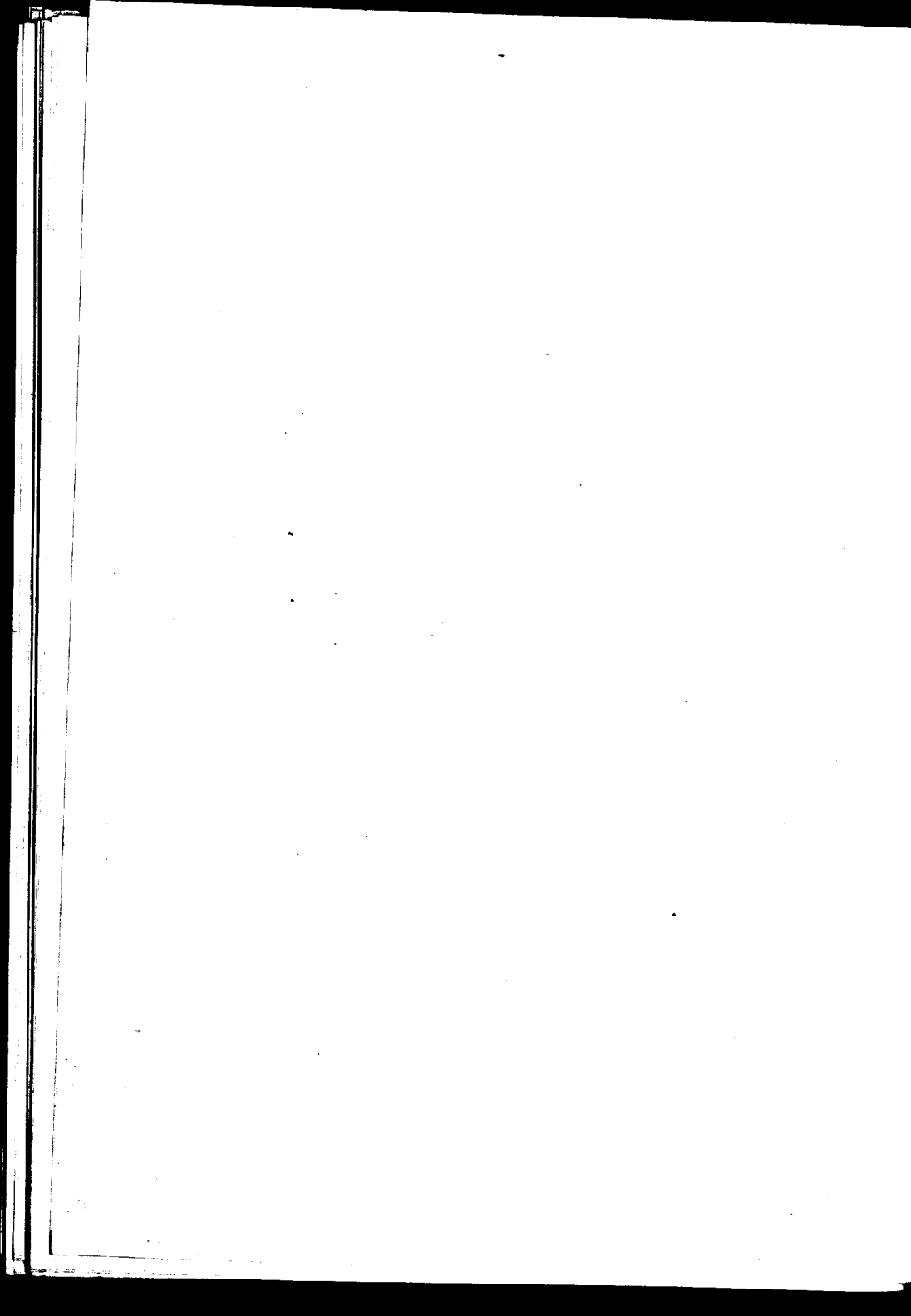
De infectie verloopt zonder de minste reactie.

25 Mei 1892. Bij elk der eerste 2 cobaya's wordt 0,5 cM<sup>3</sup> eener sterk troebele bouilloncultuur, die gedurende 24 uur zich bij 33° C. ontwikkeld heeft, subcutaan in den buikwand gespoten.

Ook hierop reageeren de dieren niet; het lichaamsgewicht neemt in de eerste dagen na de infectie zelfs toe.



STELLINGEN.



## STELLINGEN.

### I.

De verdeeling der streptococcen volgens v. LINGELSHHEIM kan niet aangenomen worden.

### II.

Bij het bacteriologisch onderzoek is tot dusverre op den invloed van den voedingsbodem veel te weinig de aandacht gevestigd.

### III.

De streptococcus erysipelatis kan niet onderscheiden worden van den streptococcus pyogenes.

### IV.

De breukoperatie volgens de methode van KOCHER beantwoordt niet aan de eischen, die men aan een radicaal-operatie stellen mag.

## V.

De jodoform-glycerine therapie is voornamelijk bij de nabehandeling van een operatief ingrijpen tegen tuberculose op hare plaats.

## VI.

Bij diphtheritis der luchtwegen verrichte men de tracheotomie alleen bij sterke dyspnoe.

## VII.

Bij ileus worde, zoo men tot een operatief ingrijpen overgaat, aan een anus praeternaturalis de voorkeur gegeven boven de laparotomie.

## VIII.

Cocaine blijft een aanbevelenswaardig anaestheticum.

## IX.

De met antiseptica toebereide wattensoorten zijn ondoelmatig en behoorden derhalve niet opgenomen te zijn in de Nederlandsche Pharmacopee Ed. III.

## X.

Het is onphysiologisch chloroform per rectum toe te dienen.

## XI.

Er bestaan geen galcapillaria.

## XII.

Bij myopie van sterken graad is de lens-extractie niet aan te bevelen.

## XIII.

Eclampsie berust op auto-intoxicatie.

## XIV.

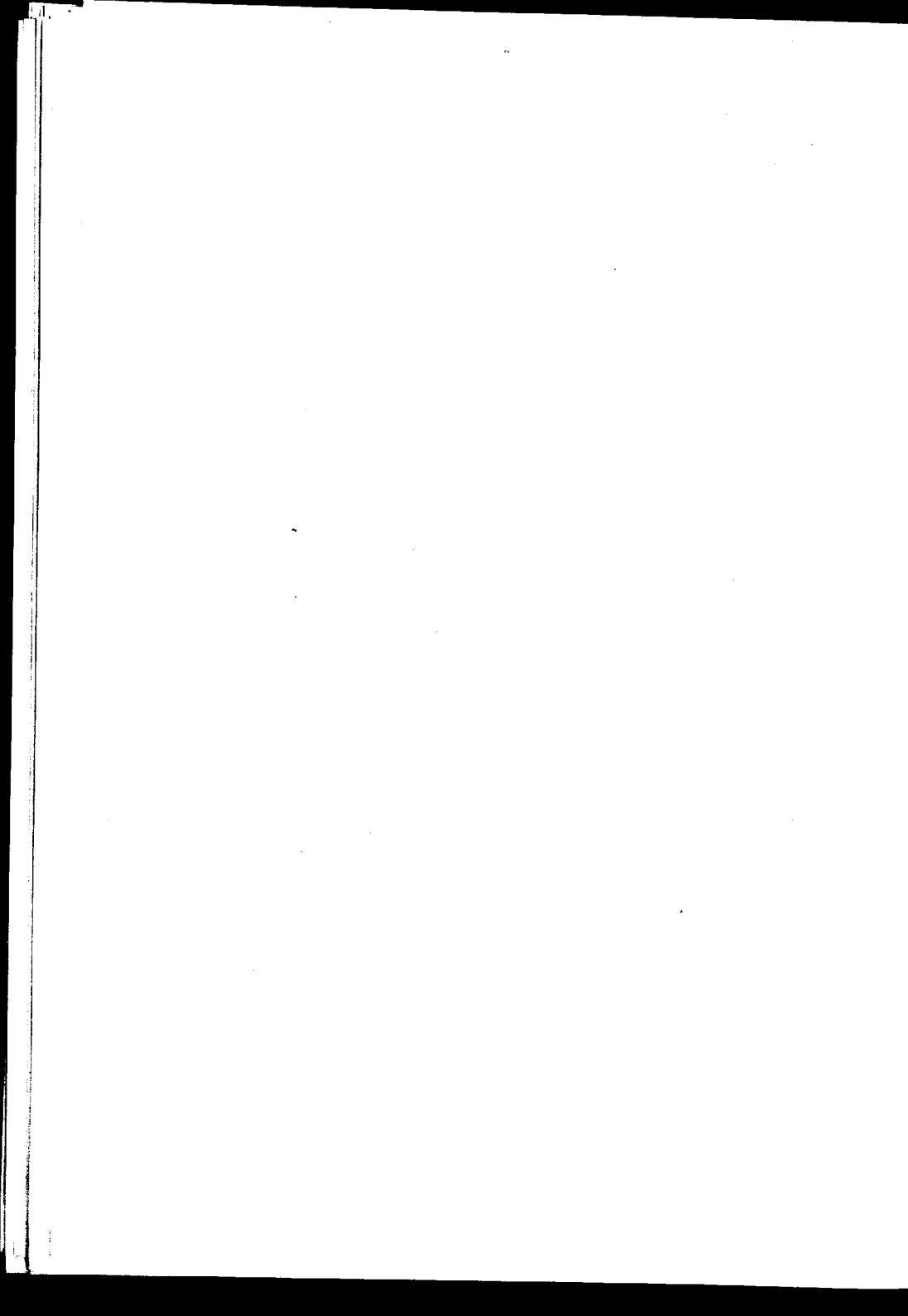
Symphyseotomie worde slechts dan verricht, wanneer het levende foetus zonder bloedige operatie, niet levend ter wereld zoude te brengen zijn.

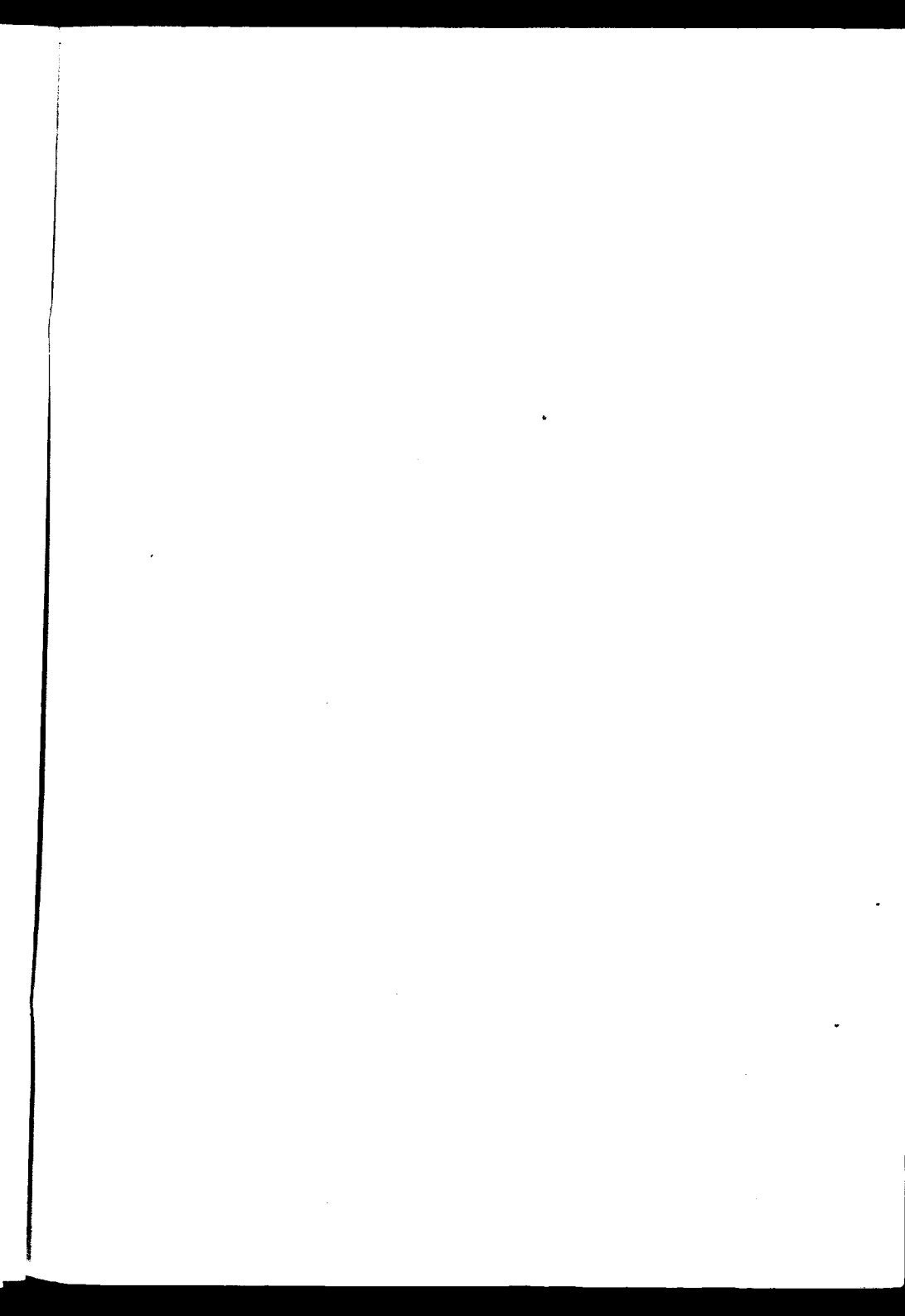
## XV.

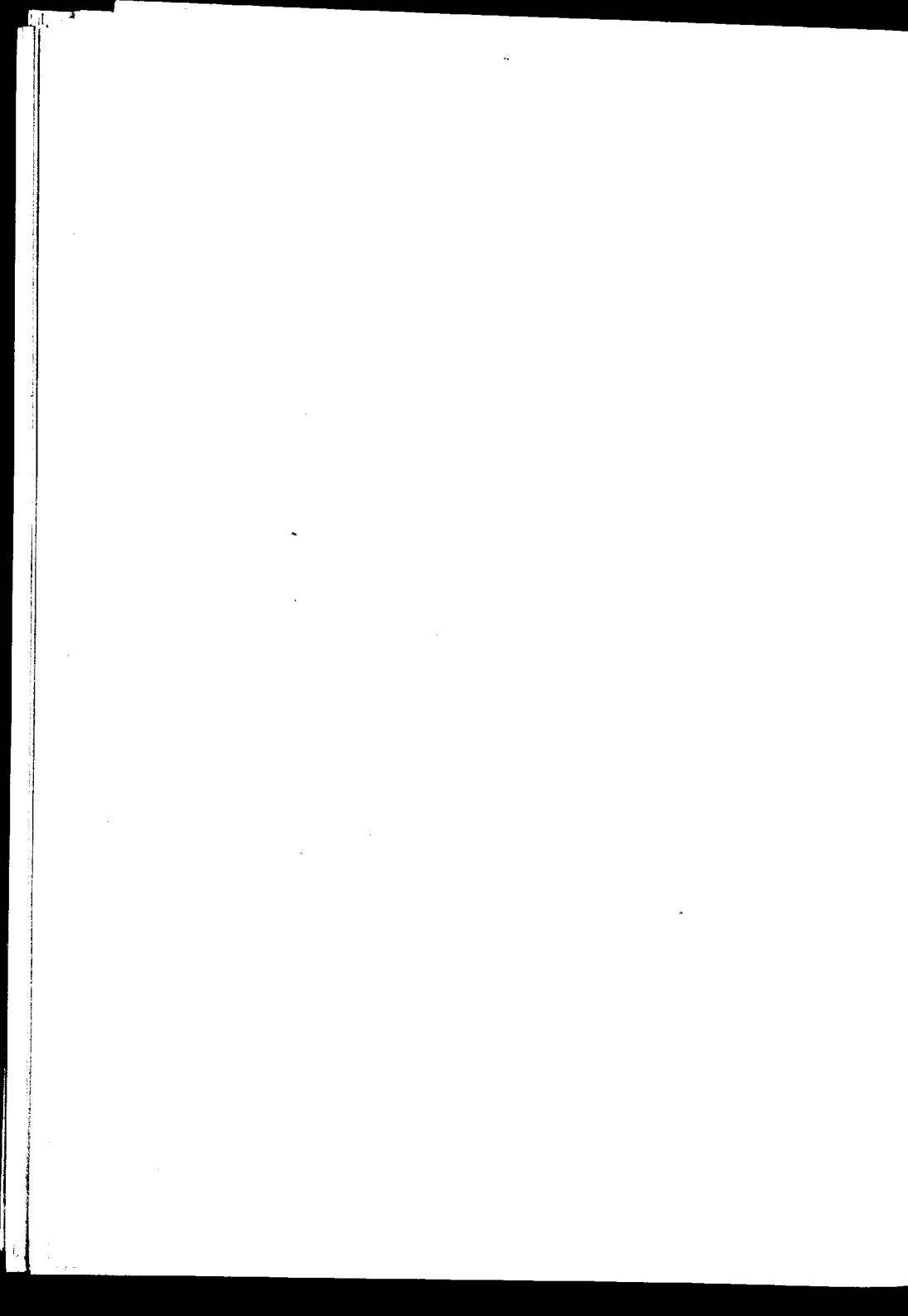
Het is irrationeel ter bestrijding van de pyrosis carbonas natrieus te gebruiken.

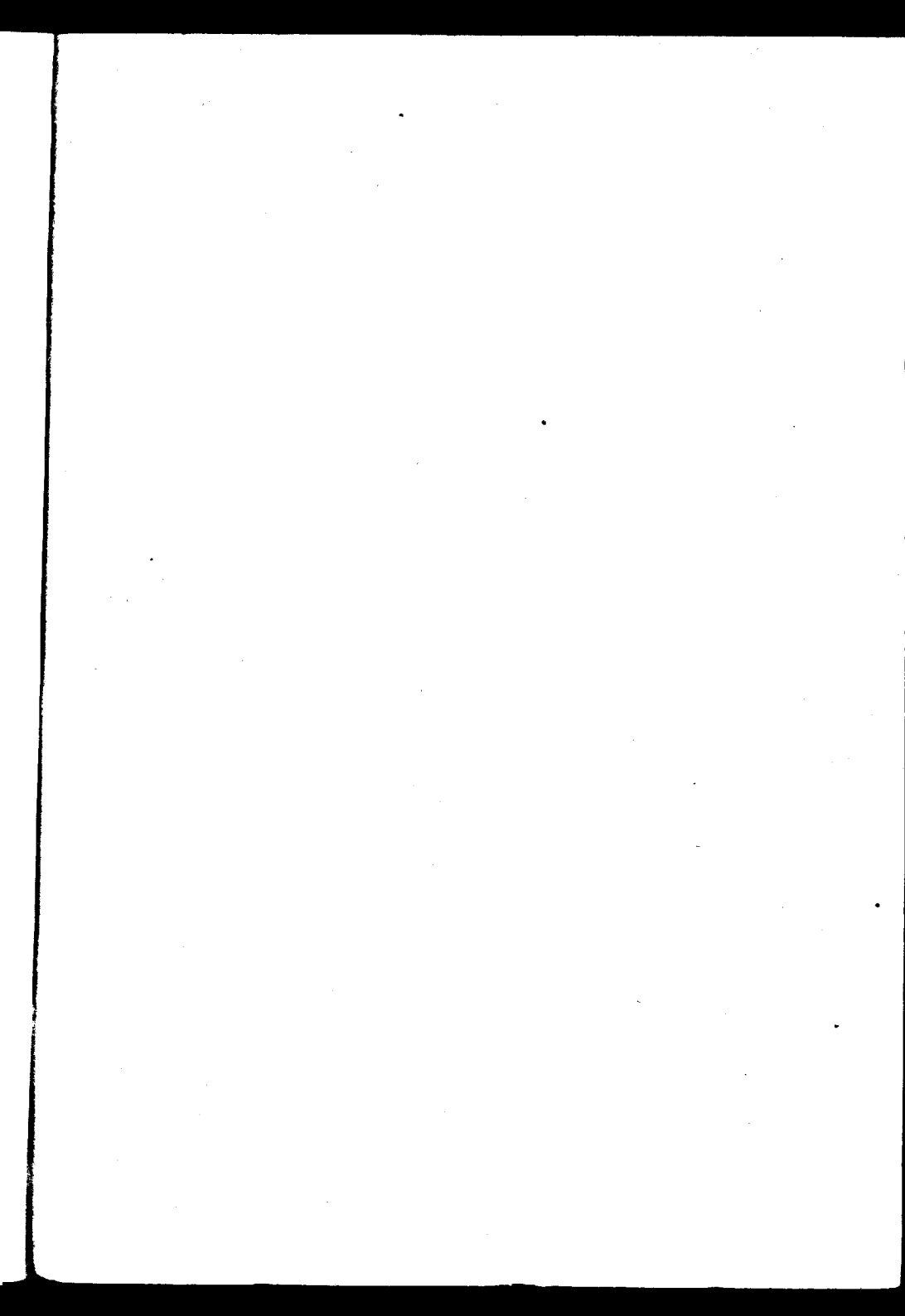
## XVI.

Niettegenstaande de negatieve resultaten die von PETTENKOFER en andere experimentatoren na ingestie van komma-bacillen verkregen hebben, dienen bij een aanstaande cholera-epidemie strenge maatregelen van desinfectie genomen te worden.









24490