



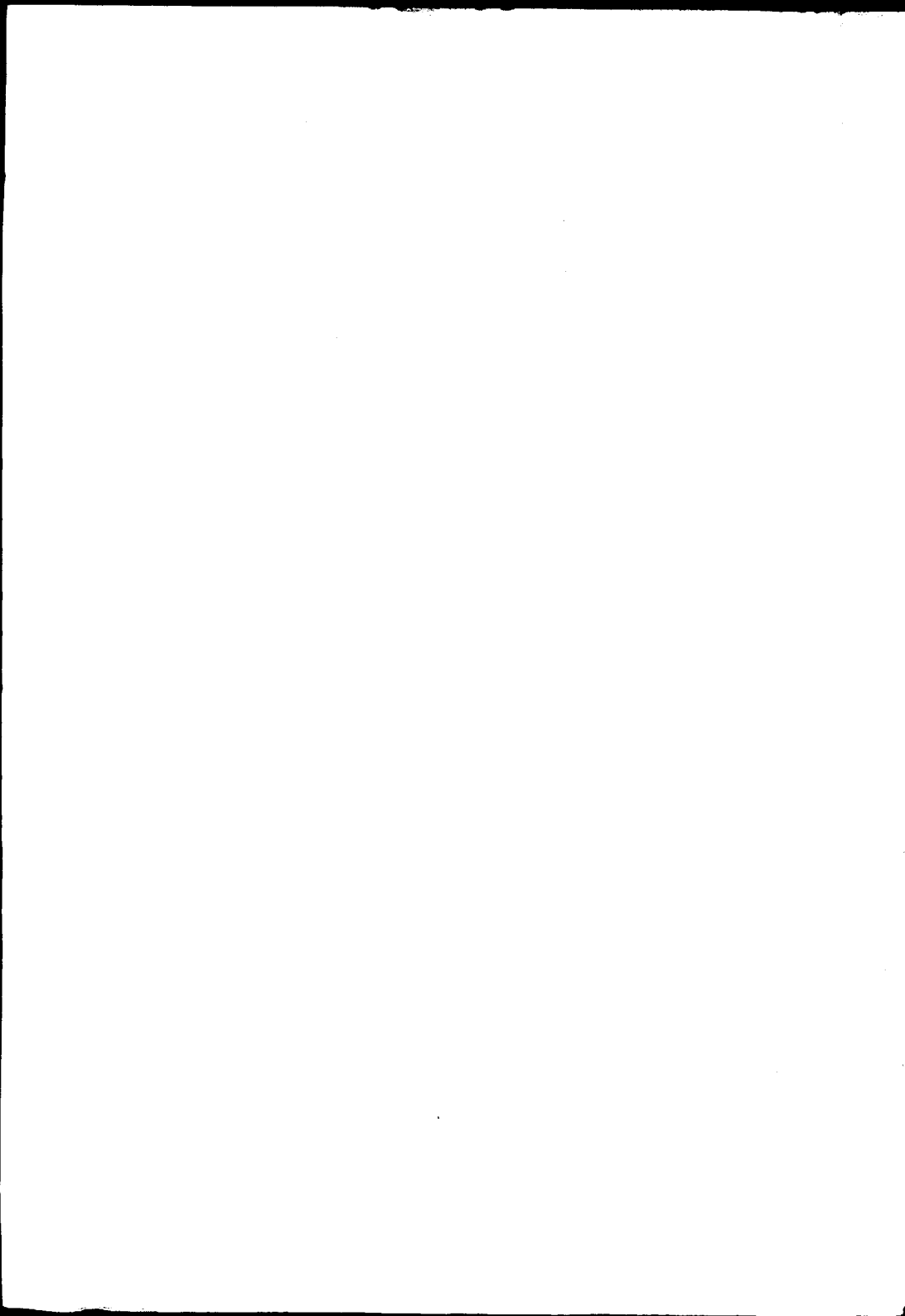
Bijdrage tot de Kennis

van de

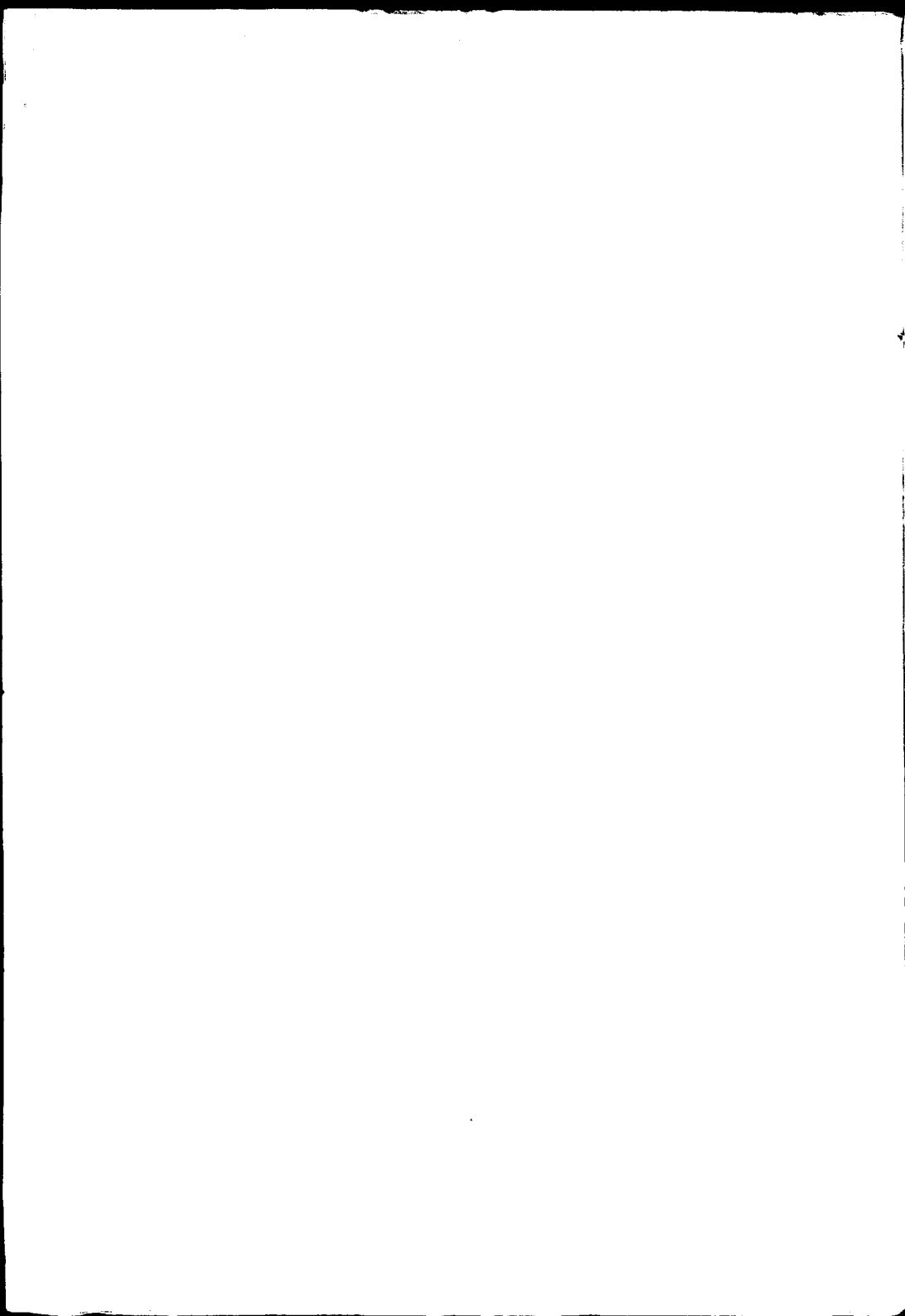
Werking van het Diphtherie-Ferment.



J. A. VAN DEN BRINK.







BIJDRAGE TOT DE KENNIS

VAN DE

WERKING VAN HET DIPHTHERIE-FERMENT.



Stoomdruk van J. VAN BOERHOVEN, te Utrecht.

BIJDRAGE TOT DE KENNIS
VAN DE
WERKING VAN HET DIPHTHERIE-FERMENT,

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN

Doctor in de Geneeskunde,

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT

NA MACHTIGING VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS

D^r. J. A. C. OUDEMANS,

Hoogleraar in de Faculteit der Wis- en Natuurkunde

EN

MET TOESTEMMING VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT,

TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE

TE VERDEDIGEN OP

Dinsdag den 4^{den} Februari 1890, des namiddags ten 4 ure,

DOOR

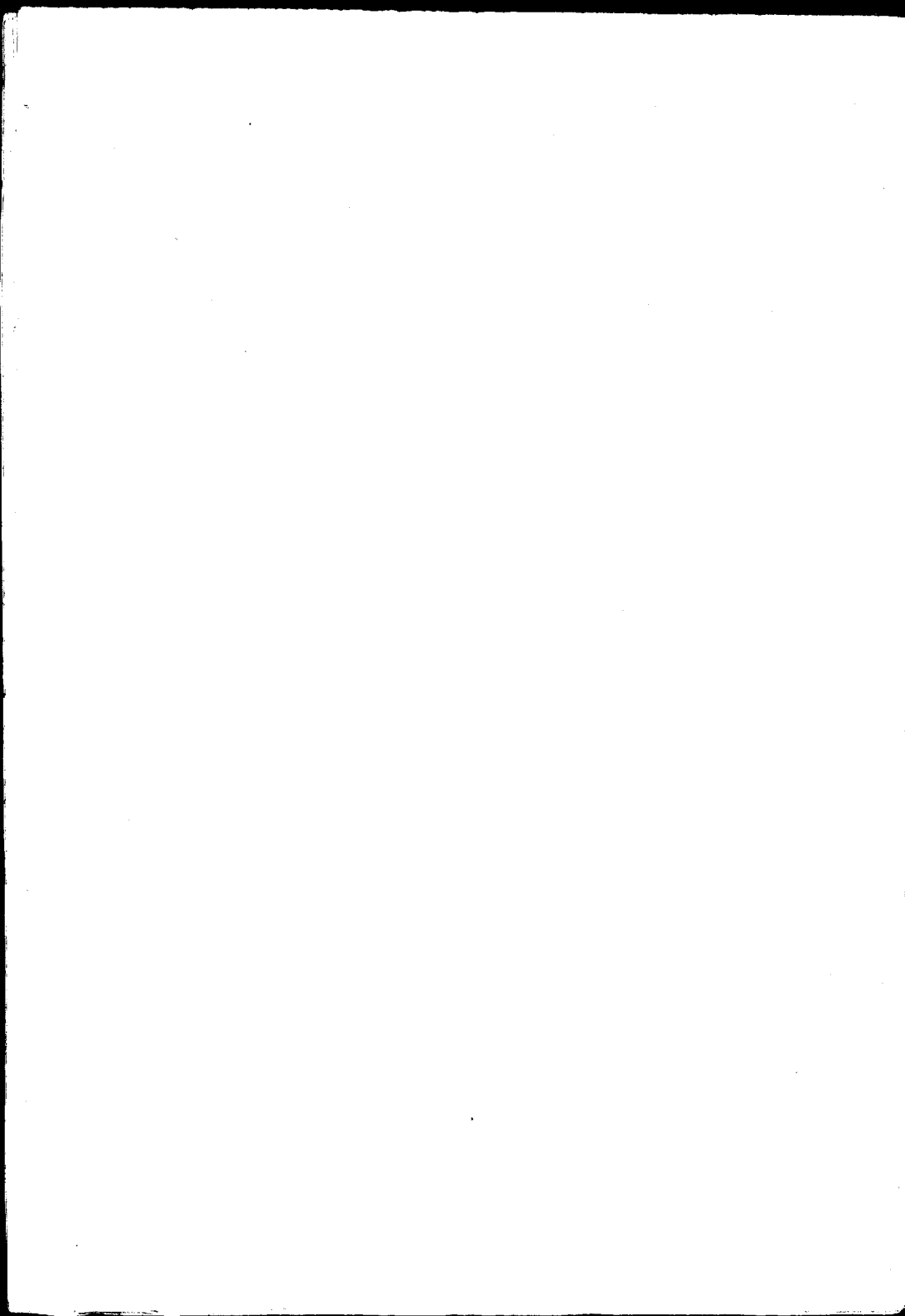
JOHANNES AREND VAN DEN BRINK, Arts,

geboren te Utrecht.



UTRECHT. — A. J. VAN HUFFEL. — 1890.

AAN MIJN GELIEFDE OUDERS.



Bij het eindigen van mijn studietijd is het mij een
hoogst aangename plicht, U Weledel Grootachtbare Heeren,
Curatoren van Rijks-Universiteit te Utrecht, mijn dank
te brengen voor den materieelen steun mij bij mijne stu-
diën door U. E. G. A. zoo ruimschoots bewezen.

U Hooggeleerde Heeren, Professoren der Medische
en der Wis- en Natuurkundige Faculteit, betuig ik mijn
hartelijken dank, zoowel voor uw uitstekend onderwijs
als voor de groote welwillendheid, die ik steeds van uwe
zijde mocht ontvangen.

In het bijzonder ben ik U, Hooggeschatte Promotor,
Hooggeleerde SPRONCK, grooten dank verschuldigd voor
de bereidwilligheid, waarmede Gij de leiding van mijn
proefschrift op U naamt.

Op Uwe vriendelijke hulp heb ik nooit tevergeefs
een beroep gedaan; wees er overtuigd van, dat Uwe
zeer gewaardeerde hulp en vriendschappelijke gezindheid
steeds bij mij de aangenaamste herinneringen zullen
achterlaten.

Ook U, Zeergeleerde Heeren, Lectoren in de Faculteit der Geneeskunde, een woord van dank voor het uitstekend onderwijs, dat ik van U heb genoten.

Ten slotte zij ook hier mijn dank uitgesproken aan U, trouwe vrienden, die ik niet bij name noem, maar aan wie ik immer blijf denken met een levendig gevoel van erkentelijkheid voor hetgeen gij gedurende mijn studietijd voor mij zijt geweest en voor mij hebt gedaan, weest er overtuigd van dat bij mij:

«Tout peut vieillir, sauf le coeur.»

En

.... sind wir auch fern von einander,

So bleiben die Herzen sich nah,

Und Alle, ja Alle wird's freuen,

Wenn Einem was Gutes geschah!

Und kommen wir wieder zusammen,

Auf wechselnder Lebensbahn,

So knüpfen an's fröhliche Ende

Den fröhlichen Anfang wir an.

I N H O U D.

	Bladz.
Inleiding	1.
Hoofdstuk I. Historisch overzicht	4.
Hoofdstuk II. Eigen onderzoek	15.
A. Proeven met gefiltreerde bouilloncultures bij konijnen	17.
Bijlage A.	
<i>a)</i> Intraveneuse injecties bij konijnen met gefiltreerde bouillon- cultures	32.
<i>b)</i> Subcutane inspuitingen bij konijnen	36.
Bijlage B.	
<i>a)</i> Subcutane inspuitingen van bouilloncultures bij konijnen	38.
<i>b)</i> Intraveneuse inspuitingen bij konijnen	40.
<i>c)</i> Entingen met cultures in de trachea bij konijnen	43.
B. Proeven bij duiven	44.
Bijlage C.	
<i>a)</i> Intramusculaire injectie bij duiven met gefiltreerde bouillon- cultures	53.
<i>b)</i> Intramusculaire injectie bij duiven met bouilloncultures	55.
<i>c)</i> Entingen op het slijmvlies van den pharynx bij duiven	56.
C. Proeven bij eenige andere dieren	58.
Bijlage D.	
<i>a)</i> Subcutane injectie eener gefiltreerde bouilloncultuur bij een cavia	63.
<i>b)</i> Intraveneuse injectie eener gefiltreerde bouilloncultuur bij een hond	64.
<i>c)</i> Subcutane injectie eener gefiltreerde bouilloncultuur bij een hond	65.

d) Subcutane injectie eener gefiltreerde bouilloncultuur bij een kat	66.
e) Subcutane injectie eener gefiltreerde bouilloncultuur bij een muis	66.
f) Subcutane injectie van een bouilloncultuur bij een muis . . .	66.
g) Subcutane injectie van gefiltreerde bouilloncultures bij kikvorschen.	67.
h) Subcutane injectie van bouilloncultures bij kikvorschen . . .	67.
Hoofdstuk III. Nadere eigenschappen van het diphtherische virus	68.
Bijlage E.	
Overige proeven.	74.
Résumé	75.
Bijlage F.	
Korte beschrijving der ziektegevallen.	77.
Theses.	81.

INLEIDING.

Sedert de diphtherie door BRETONNEAU als een specifieke infectie-ziekte beschouwd is geworden, hebben talrijke onderzoekers de aetiologie van deze ziekte nader bestudeerd; en hoewel er talrijke mededeelingen over de natuur van het diphtherie-contagium gepubliceerd zijn, zoo heerschte er toch onder de verschillende onderzoekers, tot voor een zestal jaren, nog zeer weinig overeenstemming omtrent de vraag, welken vorm van organisme men als karakteristiek voor de diphtherie en daarmee als de waarschijnlijke ziekteoorzaak beschouwen moest.

Hoewel KLEBS de eerste was, die in het jaar 1883 een bacil als specifiek voor de diphtherie heeft aangewezen, zoo komt toch aan LÖFFLER de verdienste toe, den eersten stap gedaan te hebben, ten einde de morphologische en biologische eigenschappen van den door KLEBS gevonden bacil nader te leeren kennen.

Nadat hij in een groot aantal gevallen van diphtherie, in de pseudomembranen door mikroskopisch onderzoek de aanwezigheid van den KLEBS'schen bacil had geconstateerd, gelukte het hem, door gebruik te maken van de kweekmethode op vasten voedingsbodem, reincultures van dezen te kweken en hiermede bij duiven, kippen, konijnen,

cavia's en apen diphtherische pseudomembranen op te wekken; terwijl hij tevens het effect naging dat de onderhuidsche en intraveneuse injectie met dezen bacil bij dieren teweegbracht.

Sedert zijn LÖFFLER's uitgebreide onderzoekingen door tal van waarnemers bevestigd, waaronder de Fransche onderzoekers ROUX en YERSIN een eerste plaats bekleeden. Het gelukte hen niet alleen in de pseudomembranen van bijna al de gevallen, die door hen onderzocht werden, den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil aan te toonen en met reincultures van dezen, diphtherische processen bij dieren op te wekken, maar tevens verkregen zij, in verscheidene gevallen, bij hun proefdieren verlammingen, analoog aan die, welke men bij den mensch, tengevolge van diphtherie, pleegt waar te nemen. Bovendien konden zij aantoonen, dat de cultures van den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil een gift bevatten, dat, naar gelang de hoeveelheden, welke men injecteert grooter, en de cultures ouder zijn, de dieren snel doodt of bij hen verlammingen teweegbrengt, zonder tusschenkomst van levende mikrogen.

Wanneer zij namelijk bij dieren bouilloncultures inspotten, die door filtratie van bacillen bevrijd waren, werden de dieren ziek en vertoonden, na den dood, dezelfde pathologisch-anatomische afwijkingen, als de dieren die geïnfecteerd waren met de niet gesteriliseerde cultures.

Deze waarneming is daarom van zooveel gewicht, omdat zij een helder licht verspreidt over de pathogenese van het diphtherische ziekteproces en een verklaring geeft van het feit, hoe een zuiver lokaal proces in staat is een algemeene infectie met daarmede gepaard gaande weefselveranderingen, teweeg te brengen, zonder dat in deze weefsels de aanwezigheid van mikroörganismen is aan te toonen.

In een tweede verhandeling, in Juni 1889 verschenen, deelen Roux en YERSIN de resultaten mede van verdere proefnemingen omtrent de werking van het diphtherische gift, terwijl zij tevens de chemische eigenschappen hiervan nader beschrijven.

Het doel, dat ik mij bij het vervaardigen van dit proefschrift voor oogen stelde, was de resultaten van deze belangrijke onderzoekingen te toetsen en zodoende een kleine bijdrage té leveren tot de kennis van de pathogenese van de *diphtheria faucium et laryngis*.

Voor ik echter overga de uitkomsten van mijn proeven mede te deelen, wensch ik een kort overzicht te geven van de onderzoekingen, die in de laatste zes jaren omtrent de aetiologische beteekenis van den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil, gepubliceerd zijn.

HOOFDSTUK I.

Historisch Overzicht.

Zooals ik reeds in de inleiding opmerkte, was KLEBS de eerste, die op het constant voorkomen van bacillen in de diphtherische pseudomembranen de aandacht vestigde.

Op het congres te *Wiesbaden* in 1883 deelde hij ¹⁾ mede, dat het hem gebleken was, dat er, behalve de vroeger door hem beschrevene zoogenaamde «*mikrosporine diphtherie*», nog een andere vorm van diphtherie bestond, die van eerstgenoemde geheel verschilde en die slechts in de grovere anatomische veranderingen met haar overeenstemde. Hij bestempelde dezen vorm met den naam van «*bacillaire diphtherie*», daar hij constant bij haar een groot aantal staafjes in de pseudomembranen verspreid zag liggen.

De ligging en vorm van deze staafjes beschrijft hij aldus : «Wanneer men voornamelijk de aandacht vestigt op zulke plaatsen, waar nog bijna geen fibrineus exsudaat aanwezig is, dan kan men er zich van overtuigen, dat de staafjes groepsgewijs in cellen liggen. Langzamerhand neemt het aantal staafjes toe, om ten slotte een samenhangende laag van mikroben aan de oppervlakte van de pseudomembranen te vormen. Wat de vorm van deze staafjes betreft, zij bezitten een gelijkmatige lengte, zij zijn uiterst

¹⁾ Verhandlungen des Congresses für inn. Medicin II. Abtheil. Wiesbaden 1883. S. 139.

dun en bereiken in toto nauwelijks de grootte van den tuberkelbacil. Een vrij groot aantal van deze staafjes vertoont sporen en men vindt constant twee eindstandige sporen aan elk staafje.» ¹⁾

Over hun beteekenis laat hij zich aldus uit: «Ik ben overtuigd en geloof inderdaad door een vrij groote ervaring tot de opvatting gerechtigd te zijn, dat men alleen dan van ware diphtherie mag spreken, wanneer in de membranen staafjesvormige mikroben worden aangetroffen.» ²⁾

In de discussie, die zich naar aanleiding van KLEBS' mededeeling ontwikkelde, bevestigde EDLEFSEN het veelvuldig voorkomen van deze bacillen in de door hem te Kiel waargenomen gevallen van diphtherie. HEUBNER daarentegen meende, de in de membranen voorkomende bacteriën, voor iets accidenteels te moeten blijven houden.

In het jaar 1884 verscheen in de «*Mittheilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte*,» van de hand van FRIEDRICH LÖFFLER ³⁾ een zeer uitvoerige verhandeling, waarin hij zijn talrijke onderzoekingen mededeelde «*über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalbe*».

In de eerste plaats ging LÖFFLER na, welke organismen door hunne verhouding in de zieke weefsels het vernooden deden rijzen, dat zij de oorzaak der diphtherie konden zijn. In eenige gevallen, waarbij weinig membraanvorming, doch uitgebreide nekrose en substantie-verlies van het slijmvlies werden aangetroffen, vond hij voornamelijk streptokokken, terwijl in het grootste gedeelte der overige gevallen deze streptokokken niet voorkwamen, doch daaren-

¹⁾ l. c. Seite 144.

²⁾ l. c. Seite 153.

³⁾ Mittheilungen a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. II 1884 S. 421.

tegen in de bovenste laag der membranen groepen van staafjes gevonden werden.

Toen hij van deze beide vormen van mikroben zuivere cultures verkregen had, deed hij hiermede talrijke entingen en injectie-proeven bij muizen, cavia's, konijnen, vogels, honden en apen.

Zijn resultaten waren kortelijk de volgende: De proeven met de streptokokken-cultures brachten duidelijk aan het licht, dat de streptococcus slechts accidenteel in de membranen aanwezig is en deels tot lokale, deels tot algemeene bijkomende verschijnselen kan aanleiding geven. «Hij kan wel de met den naam van «Diphtheritis» aangeduide pathologisch-anatomische veranderingen teweegbrengen, doch met de aetiologie der typische infectieziekte „Diphtherie” heeft de streptokokkus niets te maken.» ¹⁾

De proeven met cultures van de bacillen, die hij in dertien gevallen van diphtherie in de pseudomembranen gevonden had, leverden de volgende resultaten op:

Bracht LÖFFLER ze onder de huid van cavia's en kleine vogels, zoo stierven deze dieren, terwijl een haemorrhagisch exsudaat op de entingsplaats en een ver zich uitbreidend oedeem in het onderhuidselweefsel gevonden werd. Entte hij op het vooraf gelaedeerde slijmvlies van de trachea van konijnen, kippen en duiven, zoo werden er pseudomembranen gevormd, evenals zulks het geval was, als zij gebracht werden op de gescarificeerde conjunctiva van konijnen en op het gelaedeerde vaginaalslijmvlies van cavia's.

Behalve de vorming van pseudomembranen, zag hij ook als karakteristieke gevolgen van hun inwerking, heftige vaatlaesies optreden, die zich door bloedige oedemen, hae-

¹⁾ Verhandlungen des Congress. f. innere Medicin gehalten in Berlin 1884. S. 163.

morrhagieën in het weefsel der lymph-klieren en vochtuitstortingen in de pleura-holten kenbaar maakten.

Alles wees er op, dat de staafjes dezelve werking uitoefenden als het diphtherie-contagium bij den mensch. Hij waagde het echter niet aan hen een specifieke beteekenis toe te kennen en wel om de volgende redenen:

- 1e. Had hij de staafjes in een aantal typische diphtheriegevallen niet kunnen aantoonen.
- 2e. Was hun wijze van verspreiding en ligging in de pseudomembranen bij den mensch niet dezelfde als in de pseudomembranen, na inenting bij zijn proefdieren ontstaan.
- 3e. Had de enting op de ongelacdeerde slijmvliezen van keel, luchtwegen, oogen en scheede geen resultaat bij dieren, die overigens wel voor enting vatbaar waren.
- 4e. Vertoonden de dieren, die in leven bleven, geen verlammingverschijnselen.
- 5e. Werden in het mondslijm van een gezond kind bacillen gevonden, die naar hun vorm en virulentie identisch bleken te zijn met de diphtherie-bacillen.

Het aflopende bewijs dat de bacillen de oorzaak der diphtherie waren, was dus door LÖFFLER niet geleverd, hoewel de mogelijkheid, dat zulks toch het geval was, niet uitgesloten kon worden.

De resultaten van zijn proefnemingen omtrent de diphtherie bij duiven en kalveren, zal ik, hoe belangrijk zij overigens ook zijn, hier ter plaatse onvermeld laten.

Een der eersten, die naging of de door LÖFFLER gevonden bacillen werkelijk de oorzaak der diphtherie waren, was EMMERICH ¹⁾ uit München.

Deze kwam door het onderzoek van acht diphtherie-

¹⁾ Comptes-rendus et mémoires du Ve congrès international d'hygiène et de démographie à La Haye 1884. page 247.

gevallen, tot een geheel ander resultaat. Hij vond namelijk mikroörganismen, die noch als kokken, noch als bacillen waren op te vatten en die hij daarom den naam *bacteriën* gaf. Hun vorm beschrijft hij aldus: «Zij doen zich voor als ovale kokken of korte plumpe staafjes, tweemaal zoo lang als breed; hun grootte is echter zeer wisselend en kan het dubbele of drievoudige van de gewone afmetingen bedragen; de langere vormen, die men tot de bacillen zou kunnen rekenen, vertoonen meestal een lichte insnoering, die er op wijst, dat zij uit twee celindividuën zijn samengesteld.» ¹⁾

Van deze bacteriën kweekte hij reincultures, zoowel op bouillonpeptongelatine als op gekookte aardappelen en deed hiermede entingen en injectie-proeven bij duiven, konijnen en witte muizen, die alle typische verschijnselen van diphtherie hierna vertoonden; zelfs maakt hij melding van verlamningsverschijnselen, die hij een tot twee dagen voor den dood bij duiven zag optreden.

In het jaar 1885 deed BABES ²⁾ onderzoeken omtrent de sporenvorming van den diphtherie-bacil. Hij heeft in zes gevallen van pharynxdiphtherie, in acht gevallen van laryngitis crouposa, in drie gevallen van diphtherie na morbilli, in één geval van diphtherie na scarlatina en in één geval van diphtherie van de conjunctiva steeds den KLEBS-LÖFFLER'schen diphtherie-bacil kunnen aantoonen, zoowel mikroskopisch als door de KOCH'sche cultuurmethode. Tevens kwam hij hierbij tot het resultaat dat in deze bacillen sporenvorming plaats heeft.

SÖRENSEN ³⁾, wiens verhandeling meer aan de klinische

¹⁾ l. c. pag. 250.

²⁾ Progrès med. 1886 n°. 8. 20 Févr.

CORNIL ET BABES. Les Bactéries. Paris 1885.

³⁾ Nordiskt medicinskt arkiv Bd. XVIII 1886 n°. 25 ref. in Jahres-

verschijnselen der diphtherie en de techniek der tracheotomie gewijd was, heeft in tien gevallen de croupmembranen in de trachea ook bacterioskopisch onderzocht. In zeven van deze gevallen werd de LÖFFLER'sche bacil nu eens in groot, dan weder in minder groot aantal aangetroffen. Bij de drie overige gevallen was tweemaal het resultaat onzeker, en eenmaal totaal negatief. In de inwendige organen kon hij evenals LÖFFLER geen diphtherie-bacillen aantoonen.

In hetzelfde jaar deelde A. d'ESPINE ¹⁾ aan de *Société médicale de Genève* de resultaten mede van zijn onderzoek omtrent de aanwezigheid van den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil bij diphtherie; steeds gelukte het hem dezen te kunnen aantoonen. Evenzoo bij veertien andere gevallen van diphtherie en croup, die hij in het volgende jaar onderzocht ²⁾, terwijl in vier en twintig gevallen van «*Angine simple*» nimmer de diphtherie-bacil werd aangetroffen.

In 1887 publiceerde Löffler ³⁾ zijn: «*Ergebnisse weiterer Untersuchungen über die Diphtheriebacillen.*» In tien gevallen van diphtherie, die hij binnen 24 uur na het begin der ziekte onderzocht had, was het hem steeds gelukt, de bacillen aan te toonen. Bij een cultuur van een dezer gevallen, vond hij, dat twee soorten van bacillen waren opgekomen, die buitengewoon op elkander geleken en waarvan de eene de voor cavia's in hooge mate virulente diphtherie-bacillen bleek te zijn, en de andere een voor cavia's geheel onschadelijke bacillensoort. De virulente bacillen waren iets grooter dan de onschadelijke,

bericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathog. Mikroörg. von BAUMGARTEN II Jahrg. 1886 S. 273.

¹⁾ Revue méd. de la Suisse romande 1886.

²⁾ Revue méd. de la Suisse romande 1888 n^o. 1.

³⁾ Centralblatt für bacteriol. u. Parasitenkunde Bd. II 1887 n^o. 4 S. 105.

ook hunne cultures op bloed-serum, agar en gelatine boden eenige kleine verschillen aan, die hem in staat stelden, ze steeds scherp van elkander te kunnen onderscheiden.

Reeds vóór LÖFFLER had ook GEORGE v. HOFMANN—WELLENHOF ¹⁾ bij zijn cultuurproeven twee bacillensoorten gevonden die zeer op elkander geleken. Door het kweken op agar-platen beproefde hij de bij diphtherie in den pharynx voorkomende bacteriënsoorten te isoleeren. In acht gevallen van diphtherie heeft hij zesmaal reincultures verkregen van een bacil, die in morphologische eigenschappen, zoewel van de individuën afzonderlijk, als ook van de geheele cultuur, bijna geheel beantwoordde aan de beschrijving, die LÖFFLER van zijne diphtherie-bacillen gegeven had. Door gelijktijdige contrôle-proeven en wel in de eerste plaats van diphtheria faucium bij scarlatina en morbilli, verder van eenvoudige pharynx-katarrhen, eenvoudig van geheel normale slijmvliezen, kon hij zich overtuigen, dat de door hem gekweekte bacil waarschijnlijk een regelmatig voorkomende bewoner van de keelholte is, die met diphtherie niets te maken heeft, want infectieproeven op dieren hadden steeds hetzelfde negatieve resultaat.

Toen von HOFMANN echter de oudere methode van LÖFFLER volgde, namelijk de directe enting op gestold bloed-serum, kreeg ook hij reincultures van den echten bacil, die op agar zeer slecht groeit en door de andere bacteriën meestal spoedig overwoekerd wordt.

Entingen met deze reincultures brachtten aan het licht, dat haar virulentie zeer kon verschillen, zelfs bleek de cultuur van één geval geheel onschadelijk te zijn.

¹⁾ Tagebl. d. 60 Versamml. Deutscher Naturf. u. Aertzte in Wiesbaden 1887. S. 119.

Wiener med. Wochenschrift 1888 n°. 3 u. 4.

PENZOLDT ¹⁾ trachtte door verschillende proeven mensche-lijke diphtherie op dieren over te brengen. Hij deed dit met verse diphtherische membranen, verder met de mikroörganismen, die uit deze gekweekt waren en met de bacteriën, die hij kweekte uit de lokale aandoeningen, die door enting met diphtherische membranen bij dieren ontstaan waren en ten slotte met bacteriën uit het bloed van aan diphtherie gestorven personen. De entingen met reincultures van al deze bacteriën gaven wel lokale aandoeningen, doch veroorzaakten volgens hem nimmer typische diphtherie; wat hem er toe brengt om te besluiten, dat alle gevolgen van entingen met diphtherisch materiaal, resp. met de daaruit gekweekte bacteriën, niets met de menschelijke diphtherie te maken hebben; of, indien men dit een al te sceptisch standpunt vindt, dat, evenals het diphtherische proces in anatomischen, zoo ook de diphtherie in klinischen zin, niet uitsluitend aan één, maar aan meerdere ziekte-agentia tegelijk, of nu eens aan deze, dan weder aan gene hoofdzakelijk haar oorsprong ontleent.

In de *Annalen van het Instituut Pasteur* verscheen in December 1888 een belangrijke bijdrage tot de kennis van de diphtherie van de hand van ROUX en YERSIN. ²⁾

De onderzoekingen van LÖFFLER hebben hen tot uitgangspunt gediend bij hun proefnemingen, die hen in staat stelden te bevestigen, dat de door KLEBS en LÖFFLER gevonden bacil de specifieke mikrobe van de diphtherie is. In bijna alle door hen onderzochte gevallen van diphtherie, ten getale van vijftien, hebben zij dezen bacil gevonden en met reincultures, evenals LÖFFLER, pseudomem-

¹⁾ Deutsches Archiv. für klin. Med. Bd. XLII 1877. Heft 1—3 S. 193. Festschrift Herrn Dr. F. A. von ZENKER gewidmet Leipzig 1888. S. 193.

²⁾ Annales de l'Institut Pasteur. Tome II. Dec. 1888. n^o. 12. pag. 629.

branen bij de dieren opgewekt; bovendien verkregen zij in verscheidene gevallen bij hun proefdieren verlammingen, analoog aan die, welke men bij den mensch, ten gevolge van diphtherie, pleegt waar te nemen. Ten slotte hebben zij bewezen, dat de cultures van dezen bacil een gift bevatten, dat, naar gelang de hoeveelheden, welke men injecteert grooter en de cultures ouder waren, de dieren snel doodt, of bij hen verlammingen teweegbrengt, zonder tusschenkomst van levende organismen.

Daar hunne onderzoekingen tot uitgangspunt van mijn proeven gediend hebben, zal ik nog dikwijls in de gelegenheid zijn, nadere bijzonderheden omtrent hun hoogst belangrijke waarnemingen te vermelden.

Gelijktijdig met ROUX en YERSIN te Parijs, hebben KOLISKO en PALTAUF ¹⁾ in *Weenen*, uitgebreide onderzoekingen gedaan over de histiologie en pathogenese der diphtherie. In een voorloopige mededeeling vermelden zij, dat zij de aanwezigheid van den LÖFFLER'schen bacil hebben kunnen constateeren in ongeveer vijftig gevallen van verschillende vormen van neus- en pharynx-diphtherie; van ware croup of diphtherie van den larynx en de trachea; bij diphtherie en croup die als complicaties bij scarlatina, morbilli en typhus optraden; bij kinderen en volwassenen, zoowel in vivo als in cadavere; ook in een geval van diphtherie der conjunctiva.

Evenals ROUX en YERSIN namen ook zij proeven met gefiltreerde reïncultures. Inspuitingen met deze laatste hadden echter nimmer den dood bij hun proefdieren ten gevolge.

Verdere mededeelingen van deze onderzoekers worden met verlangen tegemoet gezien.

¹⁾ Wiener klin. Wochenschrift n^o. 8. 21 Febr. 1889.

ORTMANN ¹⁾ deelde in de zitting van 3 December 1888 van het: *Verein für wissenschaftliche Heilkunde zu Königsberg in Pr.* mede, dat het hem gelukt was in 16 gevallen van diphtherie, die hetzij bij de tracheotomie, hetzij bij de sectie, zeer kort na den dood onderzocht waren, 15 maal den LÖFFLER'schen diphtherie-bacil in reincultures te kweken.

In Juni 1889 verscheen een tweede memoire van ROUX en YERSIN, ²⁾ waarin zij de resultaten beschrijven van verdere proefnemingen met gefiltreerde bouillon-cultures, die zij voornamelijk bij honden verricht hebben en waarin zij tevens nadere bijzonderheden mededeelen omtrent den aard van het diphtherische virus. In het derde hoofdstuk van dit proefschrift hoop ik hierop uitvoeriger terug te komen.

Ten slotte rest mij nog op de belangrijke resultaten te wijzen van CARL ZARNIKO ³⁾, vermeld in zijn proefschrift: «*Beitrag zur Kenntniss des Diphtherie-bacillus.*» Deze heeft een groot aantal van diphtherie-gevallen onderzocht en de morphologie en biologie van den diphtherie-bacil nauwkeurig bestudeerd. Hierbij verkreeg hij o. a. de volgende resultaten: in twintig gevallen van epidemische diphtherie werd de bacillus 18 maal in de lokaal aangedane deelen gevonden, verder in een geval, waarbij de diagnose «diphtherie» hoogst waarschijnlijk was. 2) werd in 29 gevallen op het slymvlies van normale personen of bij angina catarrhalis de diphtherie-bacil *niet* aangetroffen; zoodat ook weder deze resultaten min of



¹⁾ Ref. in Berl. klin. Wochenschrift 11 März n^o. 10 1889.

²⁾ Annales de l'Institut Pasteur. Tome III. Juin 1889 n^o. 6 pag. 273.

³⁾ CARL ZARNIKO. Inaug. Dissort. Kiel 1889. ref. Centrabl. f. Bact. u. Parasitenk. Tome VI. S. 153.

Annales de l'Institut Pasteur. Tome III. Sept. 89. n^o. 9 pag. 505.

meer pleiten voor de opvatting, dat de KLEBS-LÖFFLER'sche diphtherie-bacil als de oorzaak der epidemische diphtherie te beschouwen is.

In zijn «Lehrbuch der path. Mykologie» geeft BAUMGARTEN een uitgebreid kritisch overzicht omtrent den tegenwoordigen stand der diphtherie-kwestie. Het valt echter zeer te betreuren, dat deze uitnemende onderzoeker bij het vervaardigen van dit overzicht nog niet in de gelegenheid was kennis te nemen van de belangrijke resultaten der proefnemingen van ROUX en YERSIN. Ongetwijfeld zou in dat geval zijn kritiek belangrijke wijzigingen hebben ondergaan.

Toen dit vel ter perse ging, verscheen een opstel van ESCHERICH ¹⁾, waarin hij de uitkomst mededeelt van het bacteriologisch onderzoek van een 22 tal diphtherie-gevallen. Twintigmaal werd de KLEBS-LÖFFLER'schen bacil gevonden en 14 malen constateerde hij dat de reinkultures in gelijke mate virulent waren.

ESCHERICH's mededeeling komt dus onze statistische gegevens versterken en is ook in zoover niet van belang ontbloom, als zij op nieuw een bewijs levert van de constantie der pathogene eigenschappen van onzen bacil. Overigens brengt dit opstel, waarin ROUX en YERSIN blijkbaar met opzet niet genoemd worden, niets nieuws; alleen dit zij nog vermeld, dat ESCHERICH, die werkzaam was onder leiding van EMMERICH, diens diphtherie-bacterium enkele malen naast streptokokken heeft gevonden.

¹⁾ Zur Aetiologie der Diphtherie. Centralbl. f. Bact. u. Parasitenk. Tome VII. 2 Jan. 1890.

HOOFDSTUK II.

Eigen onderzoek.

Een kort woord over het materiaal, dat mij bij mijne experimenten ten dienste stond, moge hier vooraf gaan.

Het eerste geval van diphtherie betrof een jongentje, dat wegens hevige asphyxie in het Stedelijk Ziekenhuis geopereerd werd, doch weldra aldaar overleed.

Daardoor in de gelegenheid gesteld de autopsie te verrichten, bleek het, dat men hier met een typisch geval van *diphtheria faucium et laryngis* te doen had.

Kort daarop brak een epidemie van diphtherie uit in het dorpje *Horn* in de provincie Limburg.¹⁾ Door de welwillendheid van Dr. E. WINTGENS, adjunct-inspecteur van het Geneeskundig Staatstoezicht in Limburg, werd ik in staat gesteld membranen van zeven zware en lichtere gevallen van deze epidemische diphtherie bacterioskopisch te onderzoeken, en gelukte het mij in al deze gevallen reïncultures van den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil te kweeken.

¹⁾ Nadere bijzonderheden omtrent deze epidemie vindt men vermeld in het Weekblad van het Nederlandsch tijdschrift voor geneeskunde n^o. 22 en 23. 25ste Jaargang 2^e deel 1889. Prof. Dr. C. H. H. SPRONCK, Dr. E. WINTGENS en J. A. VAN DEN BRINK Med. Doct's. De diphtherie-bacil (KLEBS-LÖFFLER) en zijn pathogene beteekenis.

Ook een geval van diphtherie uit Utrecht en een uit Roermond leverden een positief resultaat. Een korte beschrijving van deze gevallen vindt men onder Bijlage F.

Nadat reincultures van den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil verkregen waren, werden cultures in voedingsbouillon gekweekt, waarbij gebruik gemaakt werd van runderbouillon, die zwak alkalisch gemaakt werd en bereid uit één deel vleesch tegen twee deelen water.

Brengt men in kolven, met deze vloeistof gevuld, door middel van een platinadraad, een kleine hoeveelheid bacillen en plaatst hen in de broedstof bij 33° C, dan ziet men reeds den volgenden dag den bouillon troebel geworden, terwijl een dun vliesje aan de oppervlakte zichtbaar en een beslag tot op zekere hoogte tegen den wand van de kolf door de bacillen gevormd is.

De verkregen bouilloncultures werden gefiltreerd door middel van het filter van Chamberland; de gefiltreerde vloeistof bleek steeds vrij te zijn van mikroörganismen, daar peptonserum-buisjes met dit filtraat geënt, steeds steriel bleven.

Met de aldus verkregen, heldere vloeistof werden achter-eenvolgens verschillende injectie-proeven bij konijnen, duiven, cavia's, honden, muizen en kikvorschen verricht. De meeste dezer proeven herhaalde ik met ongefiltreerde bouilloncultures, terwijl ik tevens naging, welke de gevolgen waren van directe enting van de bacillen op slijmvliezen; en hoewel deze proeven reeds uitvoerig door LÖFFLER, ROUX en YERSIN e. a. verricht waren, zoo achtte ik het toch niet overbodig ze nogmaals te herhalen, om zodoende zelf in de gelegenheid te zijn mij er van te overtuigen, dat de proeven met *gefiltreerde* en die met *ongefiltreerde* cultures gelijke uitkomsten opleveren.

De resultaten, die mijne proefnemingen bij de verschil-

lende diersoorten hebben gegeven, zal ik nu in de volgende bladzijden beschrijven en wensch een aanvang te maken met de experimenten *bij konijnen* genomen.

A. Proeven met gefiltreerde bouillonecultures bij konijnen.

In de hier volgende tabel geef ik een overzicht van mijne proeven; nadere bijzonderheden omtrent deze laatste, alsmede de obductie-verslagen van de gestorven dieren, vindt de lezer in Bijlage A. bladz. 32.

a. Intraveneuse inspuitingen.

Nummer der proeven.	Datum van inspuiting.	Hoeveelheid der ingespoten vloeistof	Ouderdom der cultuur.	Gewicht van het proefdier.	Datum van exitus.	Tijd, dien het dier geleefd heeft.
I.	6 Mei	35 cc	9 dagen.	2350 gram.	6 Mei	4½ uur
II.	7 "	10 cc	9 "	—	8 Mei	17 "
III.	27 "	5 cc	28 "	2160 "	28 "	20 "
IV.	27 "	4 cc	28 "	1760 "	28 "	22 "
V.	27 "	2 cc	28 "	1180 "	28 "	24 "
VI.	27 "	1½ cc	28 "	1360 "	29 "	52 "
VII.	31 "	1 cc	28 "	1050 "	1 Juni	1 dag
VIII.	31 "	½ cc	28 "	1600 "	2 "	2 dagen
XI.	11 Juni	2 cc	28 "	1395 "	13 "	2 "
XII.	11 "	1 cc	28 "	1220 "	21 "	10 "

b. Subcutane inspuitingen.

IX.	8 Mei	1 cc	13 dagen.	—	—	—
	"	2 cc	"	—	—	—
	"	3 cc	"	—	—	—
X.	28 "	2 cc	28 "	—	2 Juni	5 dagen
XI.	11 Juni	2 cc	28 "	1325 gram	18 "	7 "
XII.	11 "	1 cc	28 "	1320 "	—	—

Wanneer men deze tabel overziet, zoo blijkt in de eerste plaats, dat de verschijnselen in intensiteit verschillen, naar gelang de hoeveelheid der ingespoten vloeistof grooter of kleiner is. Een enkel voorbeeld ter illustratie: Een konijn, dat 4 CC. in de oor-vena ontvangen had, stierf reeds na verloop van 22 uur, terwijl een ander, waarbij van dezelfde vloeistof slechts $1\frac{1}{2}$ CC. in het bloed gespoten was, eerst na 52 uur stierf.

Belangrijker is echter een tweede resultaat. Het is namelijk gebleken, dat de werking ook verschilt, naarmate de bouilloncultuur jonger of ouder is. Is namelijk de cultuur slechts een paar dagen oud, dan vertoont zij een zure reactie en is de toxische werking van het filtraat slechts een geringe. Deze aciditeit blijft eenigen tijd bestaan om weder vervangen te worden door een alkalische reactie, mits de lucht vrijen toegang hebbe tot de cultuur. In het luchtledige ontwikkelt zich de bacil, volgens de onderzoekingen van Roux en Yersin, veel minder krachtig dan bij aanwezigheid van zuurstof; ook in dit geval wordt de bouillon zuur en blijft deze reactie behouden. Heeft echter de lucht toegang tot de cultuur, dan vertoont deze na eenigen tijd alkalische reactie en bezit nu sterker giftige eigenschappen dan tijdens de zure reactie. In het derde hoofdstuk hoop ik op dit punt nader terug te komen.

Een derde waarneming, die ik bij mijne proeven deed, was de volgende: Steeds bleek een *intraveneuse* injectie veel sneller te werken dan een *subcutane*. Om dit duidelijk in het licht te stellen, nam ik proef XI en XII. Gelijktijdig spoot ik bij twee konijnen, A en B, 2 CC. van een gefiltreerde bouilloncultuur in; bij konijn A intraveneus, bij konijn B subcutaan. Konijn A stierf twee dagen na de intraveneuse injectie, terwijl konijn B eerst na 7

dagen is gestorven. Bij een tweede proef, waarbij twee konijnen, ieder met één CC. van hetzelfde filtraat werden vergiftigd, stierf het eene dier, dat die hoeveelheid in het bloed ontving, na verloop van 10 dagen, terwijl het andere, dat een subcutane injectie had gekregen, wel ziek werd, doch weder herstelde. Nog meerdere proeven met hetzelfde doel ondernomen, bevestigden ten volle deze waarneming.

Gaat men de gevolgen na, die de inspuiting, hetzij subcutaan, hetzij intraveneus, *tijdens het leven* van het dier teweegbrengt, zoo ziet men, dat de meeste dieren in den eersten tijd na de injectie niet de minste abnormale verschijnselen aanbieden. Zij bewegen zich levendig, nemen voedsel tot zich en zijn ongeveer in de eerste twee uur van gezonde konijnen in het geheel niet te onderscheiden. Kortere of langere tijd hierna echter beginnen zich, soms vrij plotseling, ziekelijke symptomen voor te doen; de dieren worden rustiger, bewegen zich weinig van hun plaats, gaan ineengedoken met ruige haren zitten, terwijl zij weinig of in het geheel geen voedsel meer tot zich nemen.

Soms treedt dan binnen eenige uren de dood in. Het dier valt op zijde, de ademhaling wordt kort, onregelmatig en frequent, om spoedig zeer oppervlakkig te worden, terwijl meermalen een profuse diarrhoe optreedt. Enkele dieren bewegen zich kort voor den dood angstig heen en weder, andere blijven rustig in een hoek van het hok zitten en sterven daar zonder de ingenomen plaats te verlaten.

Deze verschijnselen en de korte duur van het ziekteproces stemmen zeer wel overeen met het begrip van eene acute intoxicatie.

Sterven de dieren niet zoo spoedig, dan treden sterke

vermagering en algemeene verzwakking op. Wanneer men de urine onderzoekt, vindt men een groote hoeveelheid eiwit en een groot aantal cylinders, zoowel hyaline-, epithelium- als gegranuleerde, terwijl ook witte en roode bloedlichaampjes en epithelium-cellen soms in groot aantal worden aangetroffen.

In den regel zitten de dieren stil ineengedoken, terwijl zij met den buik op den bodem van het hok rusten; dwingt men ze echter te loopen, dan geschiedt dit hoogst gebrekkig, waarvan de oorzaak schijnt gelegen te zijn, in een particele of totale verlamming, die in een of in beide achterpooten is opgetreden.

Wanneer de intoxicatie minder heftig is, kan de verlamming eenigen tijd tot één spiergroep beperkt blijven; meermalen nam ik bijv. waar, dat de adductoren van een of beide achterextremiten niet meer functioneerden, terwijl dit met de abductoren nog wel het geval was, al geschiedde zulks gebrekkig (zie proef XXV). In verreweg de meeste gevallen was echter de verlamming een paraplegische, die somtijds een progressief karakter had en dan ook de spieren der voorste extremiteiten en van den hals aantastte. Is eenmaal de verlamming opgetreden, dan liggen de konijnen met den buik op den grond, terwijl de achterpooten uitgestrekt, onder of ter zijde van het lichaam liggen. Dwingt men het dier te loopen, zoo tracht het eenige korte schreden te doen, doch verliest zijn evenwicht en valt ter zijde. Blijkbaar wordt het dier zeer spoedig en sterk vermoeid door de gedane krachtsinspanning. Herhaaldelijk treden rillingen op, de respiratie wordt zeer frequent en vloeibare faeces worden ontlast.

Heeft de verlamming ook de spieren van den romp en van de voorste extremiteiten aangedaan, dan ligt het dier geheel ter zijde en is niet meer in staat zich op te

richten. De ademhaling ziet men allengs oppervlakkiger en de pauze langer worden en binnen korten tijd treedt de dood in. In eenige gevallen nam ik contractuur waar van de nekspieren en was de kop sterk naar achteren getrokken (zie proef IV, V en VI). In de enkele gevallen, waar ik temperatuursbepalingen gedaan heb in het rectum, heb ik geen verhooging kunnen waarnemen.

In hoeverre er overeenkomst bestaat tusschen deze acute verlammingen, die ik slechts weinige uren vóór den dood bij konijnen zag optreden en de zoogen: «postdiphtherische» verlammingen, waarvan ik typische voorbeelden heb waargenomen bij duiven en die ik hieronder zal mededeelen, waag ik niet te beslissen.

Terwijl hierboven de verschijnselen weergegeven zijn, die men tijdens het *leven* van het dier waarneemt, wensch ik thans de pathologisch-anatomische veranderingen te beschrijven, die de verschillende organen van de proefdieren na den dood vertoonen, terwijl bovendien zal nagegaan worden of deze veranderingen identisch zijn met die, welke men aan de organen van aan diphtherie gestorven personen waarneemt.

Een karakteristiek verschijnsel, dat ik vaak heb waargenomen, zijn de capillaire haemorrhagiën, die in de meest verschillende organen kunnen worden gevonden. De werking van het diphtherische gift schijnt dus in de eerste plaats te berusten op een laesie van de vaatwanden. Dieren, die subcutaan ingespoten waren, vertoonden op en rondom de plaats van injectie steeds een min of meer uitgebreid sercus oedeem met sterke vaatvulling en talrijke kleine of grootere bloedingen. De kleine capillaire haemorrhagiën geven hier aan het subcutane weefsel een eigenaardig gespikkeld voorkomen; op plaatsen, waar de haemorrhagiën grooter of dicht bij elkan-

der gelegen waren, was het oedeem diffuus rood gekleurd.

Zoover zich het sereuse oedeem in het onderhuidsch celweefsel uitstrecte en de haemorrhagieën reikten, waren ook de spieren in verschillenden graad aangedaan. In den omtrek van de plaats van inspuiting waren de spieren donkerrood gekleurd door talrijke capillaire bloedingen en meer of minder sereus geëmbibeerd.

Een tweede verschijnsel, dat zelden gemist wordt, bestaat in zwelling en hyperaemie der lymph-klieren. Vooral aan de axillair- en inguinaalklieren kan zulks duidelijk worden waargenomen; op doorsnede vertoonen zij zich sterk rood gekleurd en met een sereus vocht geëmbibeerd.

De veranderingen in de longen kunnen zeer verschillend zijn. In vrij veel gevallen konden makroskopisch in het geheel geen veranderingen worden aangetoond; in andere gevallen waren de longen als het ware bezaaid met kleine bruinroode vlekjes, beantwoordende aan multiple bloedingen (zie proef II.).

De pleurae vertoonen soms ook kleine ecchymosen (zie proef VIII). Uitstortingen van vocht in de pleura-holten heb ik bij konijnen slechts zelden waargenomen (zie proef IV.).

Het hart is meestal slap en gevuld met gedeeltelijk gecoaguleerd bloed, terwijl de hartspier op doorsnede bleek van kleur is. In eenige gevallen vond ik in het visceraal blad van het pericardium kleine haemorrhagieën (zie proef II.).

Een zeer typische verandering, die ik bij konijnen steeds opmerkte, zoo zij niet binnen een te kort tijdsverloop gestorven waren, is die, welke de lever aanbiedt. Deze is namelijk steeds geel verkleurd en wel in meer of mindere mate, naar gelang het dier langer of korter na

de injectie geleefd had. Deze gele verkleuring, die van vettige degeneratie afhankelijk is, ontbreekt bij konijnen hoogst zelden.

De milt was in slechts weinige gevallen vergroot, meestal was zij donkerblauwrood van kleur (zie proef I en II).

In het omentum vormden de capillaire ecchymosen zeer fraaie beelden (zie proef IV, VI, VIII en XI); ook in het mesenterium werden deze meestal aangetroffen (zie proef VII), terwijl in het algemeen een sterke vaat-injectie van de bekleedselen der inwendige organen als een constant voorkomend verschijnsel werd waargenomen; het voorkomen van vlocistof in de peritoneaalholte is daarentegen zeer inconstant (zie proef II en VII).

Van de inwendige organen bieden ook de nieren duidelijke veranderingen aan, waarvan de intensiteit afhankelijk is van den tijd, die sedert de injectie verlopen is. Onder de nierkapsel vond ik herhaaldelijk bloed-extravasaten; nu eens was de nier egaal of gemarmerd donkerblauwachtig rood gekleurd, dan weder vertoonde zij een licht rose kleur. Op doorsnede bleek de bastlaag donkerder van kleur dan het merg; meermalen vond ik in het corticale gedeelte puntvormige bloedingen (zie proef VI en VII). De resultaten van het mikroskopisch onderzoek van deze nieren, waarvan de lezer een kort résumé vindt in de *Comptes-rendus des séances de l'Académie des sciences* van 12 Augustus 1889 ¹⁾ zullen elders uitvoerig worden medege-deeld door den heer C. H. VAN HERWERDEN. Med. Cand.

Langs den ureter nam ik in één geval talrijke bloedingen waar (zie proef XLV).

¹⁾ Prof. Dr. C. H. H. SPONCK. Le poison diphthérique, considéré principalement au point de vue de son action sur le rein.

Zooals reeds medegedeeld is, werden in de urine meermalen een zeer groot aantal cylinders aangetroffen, waarvan eenige hyalin en de meeste uit gedegenerende epithelium-cellen waren opgebouwd (zie proef IV, V en XI). Witte bloedcellen, epithelium-cellen uit de nierbuisjes en meermalen ook roode bloedlichaampjes werden eveneens in groot aantal gevonden. Soms was de hoeveelheid bloed in de urine zoo belangrijk, dat de urine reeds door haar kleur de aanwezigheid van bloed verreesde (zie proef IV en V).

De blaas bleef somtijds na den dood sterk samgetrokken en slechts enkele druppels urine te bevatten, terwijl zij bij uitzondering sterk uitgezet was (zie proef V).

De vaten van de darmen waren steeds sterk geïnjecteerd, terwijl laatstgenoemde bij heftige intoxicatie een weeken, soms vloeibaren inhoud bevatten (zie proef I en III).

In hersenen en ruggemerg werden eenige malen meningeale en parenchymateuse bloedingen aangetroffen (zie proef IV); ook kon ik in één geval in het gebied van den n. ischiadicus haemorrhagieën constateeren. Makroskopisch kon ik overigens aan hersen- en zenuwweefsel geen veranderingen waarnemen.

Vergelijkt men nu hetgeen het pathologisch-anatomisch onderzoek van de verschillende organen van mijn proefdieren heeft opgeleverd, bij welke grootere of kleinere hoeveelheden van de gefiltreerde cultures van den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil waren ingespoten, met hetgeen men na diphtherie in het menschelijk lichaam pleegt te vinden, dan valt een sterk sprekende overeenstemming niet te loochenen; want de talrijke haemorrhagieën in de verschillende organen, de zwelling der lymph-klieren, de vettige degeneratie van verschillende weefsels en de nephritis, kortom van al de veranderingen, die na diph-

therie in het lijk van den mensch worden aangetroffen, wordt geen enkele bij de proefdieren gemist.

De vraag doet zich vóór of niet eenige van deze veranderingen op rekening moeten gebracht worden van den ingespoten bouillon. Ik kan deze vraag ontkennend beantwoorden, want zelfs na een injectie van 35 CC bouillon in het bloed van een konijn, ondervond dit dier in het minst geen schadelijke gevolgen en vertoonde niets abnormaals. Dat in den bouillon door het lange verblijf in de broedstoof bij 33° C. geen chemische processen hadden plaats gegrepen, waarbij voor dieren giftige stoffen gevormd waren, bleek duidelijk toen een konijn 10 CC bouillon werden ingespoten, die gedurende 12 dagen in de broedstoof gestaan had. Geen spoor van ziekelijke verschijnselen, zelfs geen tijdelijke albuminurie kon worden geconstateerd. De vorming van het gift moet dus zonder twijfel aan de bacillen worden toegeschreven.

De verschillende veranderingen der inwendige organen van den diphtherie-lijder zijn derhalve niet het gevolg van een verspreiding van bacterien door het geheele organisme, maar van de werking van een in den bloedstroom circuleerend gift, dat in de eerste plaats een altereerende werking op de vaatwanden pleegt uit te oefenen.

Men kan de specifieke veranderingen in de weefsels niet uit een direkte inwerking van mikroörganismen verklaren, want in dat geval zouden de schizomyceten ook in de inwendige organen moeten kunnen worden opgespoord, wat geenszins het geval is.

Verschillende onderzoekers, o. a. KLEBS, LÖFFLER, OERTEL, ROUX en YERSIN, SÖRENSEN, KOLISKO en PALTAUF, en ZARNIKO zijn tot het resultaat gekomen dat de diphtherie-bacil, althans zoolang er geen nekrose van het

slijmvlies is opgetreden, slechts in de oppervlakkigste lagen der pseudomembranen wordt aangetroffen, voorts in het epithelium, doch nimmer in het intacte slijmvlies zelf. Noch in de inwendige organen, noch in het bloed konden de bacillen worden aangetoond.

ROUX en YERSIN evenals LÖFFLER, namen hetzelfde waar bij dieren die stierven ten gevolge van een experimenteele infectie. Een groot aantal onderzoeken verrichtten zij, om te weten te komen of de bacillen zich ergens in het lichaam van het dier vermenvulldigden. Zij hebben daartoe een reeks van cavia's onder de huid geënt en daarna om de twee uur een dier gedood. Reeds na vier uur is er een lokaal oedeem op de plaats van inenting zichtbaar, waarin zich de bacillen tot het 6^{de} of 8^{ste} uur vermeerderen. Maar weldra wordt hun aantal geringer en wanneer het dier sterft, zijn er veel minder bacillen op de plaats van injectie te vinden dan kort nadat deze geschied is. Het bloed en het parenchym van de organen van deze gedooide cavia's leverden na uitzaaiing geen cultures. Slechts een enkele maal heeft de lever van een cavia, die 6 uur na de enting gedood werd, een cultuur gegeven. Het peritoneaalvocht, wanneer de enting onder den buikwand geschied was, evenals het lokale oedeem hebben steeds cultures geleverd. Wanneer de genoemde onderzoekers intraveneuse injecties deden bij konijnen, konden zij bij deze na den dood, noch in het bloed, noch in de inwendige organen bacillen mikroskopisch aantoonen. Doodden zij een konijn 5 of 6 uur na de injectie, dan konden zij mikroskopisch slechts hoogst zelden bacillen opsporen, doch wanneer de milt onder de noodige voorzorgsmaatregelen in de broedstoof werd geplaatst, leverde deze na 12 tot 24 uur cultures van den diphtherie-bacil. Konijnen, in wier lichaam 16 uur na een

intraveneuse inspuiting, geen bacillen meer aanwezig waren, stierven ongeveer tegen het 30^{ste} of 36^{ste} uur. De ziekte heeft dus haar verloop, ondanks de verdwijning van den bacil, die haar veroorzaakt.

Mijne waarnemingen bevestigen hun resultaten. Meermalen entte ik stukjes van organen van aan diphtherie gestorven dieren, zonder ooit een cultuur te verkrijgen, terwijl het plaatselijk oedeem, dat na onderhuidsche inspuitingen steeds werd waargenomen, altijd cultures opleverde.

Zooals reeds boven gezegd is, woekert de diphtherie-bacil alleen aan de oppervlakte van het lichaam; daar ter plaatse vermeerderen zich de bacillen en produceren het specifieke gift, dat door bloed en lymfaten in het lichaam opgenomen wordt.

De diphtherie is dus op te vatten als een intoxicatie met een sterk werkend vergift, dat door de KLEBS-LÖFFLER'schen bacillen gevormd wordt ter plaatse, waar deze bacil zich ontwikkelt, van daaruit door diffusie zich langzamerhand in het geheele organisme verspreidt en zodoende tot een algemeene vergiftiging aanleiding geeft; trouwens de experimenten, die ik bij duiven genomen heb en in de volgende paragraaf beschreven zijn, toonen dat op nog meer overtuigende wijze aan.

Aan het einde van zijn verhandeling schreef LÖFFLER, dat het van bijzonder groot belang ware na te gaan of hetzelfde chemische lichaam, dat de diphtherie-bacil produceert, ook in de organen van diphtherie-lijdens konde worden aangetoond. In hun laatste verhandeling deelden Roux en YERSIN de resultaten mede van een dergelijk onderzoek.

Van een kind van 5 jaar, dat tengevolge van diphtherie overleden was, lieten zij de milt gedurende twee uur in gesteriliseerd water bij lage temperatuur macereeren.

Het maceratie-vocht werd door porcelein gefiltreerd en hiervan bij een cavia 8 CC subcutaan en bij een konijn 35 CC intraveneus ingespoten. De cavia stierf vijf dagen na de injectie; de veranderingen, die bij de autopsie gevonden werden, geleken op die, welke optreden na injectie van bouilloncultures, waarvan de toxiciteit gering is. Het konijn bleef twee maanden in het leven, doch stierf daarna met verlamming van de achterpooten.

Ofschoon deze uitkomst stellig niet de aan te toonen overeenkomst bewijst, daar, zooals van zelf spreekt, te wijzen valt op een aantal omstandigheden, waaronder in het lijk vergiftige stoffen geproduceerd worden, die misschien een analoge intoxicatie teweegbrengen, zoo is de uitkomst toch zeer interessant en zou het de moeite waard wezen dergelijke proeven onder nauwkeurige cautelen te herhalen.

Hiermede ben ik aan het einde gekomen van de proeven, die ik met het diphtherische gift bij konijnen genomen heb. Ik acht het evenwel mijn plicht om ten slotte nog nader in te gaan op de werking, die de bacillen zelve bij konijnen te voorschijn brachten. Op die wijze wensch ik het afdoende bewijs te leveren, dat de bacillen, die het door mij gebruikte vergift produceerden, werkelijk beantwoorden aan al de criteria, waaraan de virulente diphtherie-bacil moet voldoen.

Laat ons in de eerste plaats nagaan, wat de enting met de cultures, op het slijmvlies van konijnen oplevert.

Het tweetal konijnen (zie proef XL en XLI), waarbij ik op het slijmvlies van de trachea, na dit oppervlakkig gelae-deerd te hebben, een cultuur van den KLEBS-LÖFFLER'SCHEN bacil entte, boden hierna het volgende aan: Het eerste verschijnsel, dat spoedig na de enting de aandacht trekt, is de bemoeilijkte ademhaling. De dieren maken bij de

inspiratie een eigenaardig snorrend, zingend of piepend geluid, wat de Fransche schrijvers zeer eigenaardig en juist vergelijken met «un bruit de drapeau» en volkomen herinnert aan hetgeen men als «croupstridor» bij kinderen pleegt waar te nemen. Na korter of langer tijd succombeeren de dieren, na al of niet verlamningsverschijnselen vertoond te hebben. Bij de autopsie vertoont het sterk hyperaemische slijmvlies van de trachea, kleine ecchymosen, terwijl niet alleen op de plaats van enting, maar ook naar boven en beneden over min of meerdere uitgestrektheid, grijs-witte pseudomembranen gevonden worden. Pseudomembranen, waarin bij mikroskopisch onderzoek een zeer groot aantal bacillen werden agetrouffen, een bevinding, niet in overeenstemming met die van LÖFFLER.

Zooals men weet, zag LÖFFLER juist in het geringe aantal bacillen, dat hij in de experimenteele pseudomembranen bij konijnen aantrof en voorts ook daarin, dat die bacillen in de pseudomembranen der proefdieren niet dezelfde ligging en rangschikking vertoonden als in de diphtherische pseudomembranen van den mensch, een argument tegen de opvatting, dat de bacil van KLEBS de eigenlijke oorzaak der diphtherie was. Andere onderzoekers hebben tot dusver dit onderzoek van LÖFFLER niet gecontrôleerd. Het was dan ook zeer verrassend, onmiddellijk een van LÖFFLER's resultaat geheel afwijkende uitkomst te verkrijgen. De bacillaire woekering was zeer aanzienlijk en daarenboven was de rangschikking der bacillen volkomen dezelfde als in de diphtherie-membranen bij den mensch. Het mikroskopisch onderzoek, waarmede ik zelf mij niet heb bezig gehouden, werd door Prof. SPRONCK verricht, die mij veroorlooft het bovenstaande mede te deelen, terwijl een zijner leerlingen, de heer J. M.

CROOCKEWIT Med. Cand. een uitvoerig onderzoek van deze quacstie op zich heeft genomen.

Van de proeven met bouilloncultures, waarmede ik zoowel intraveneuse, als subcutane inspuitingen bij konijnen deed, zal ik weder een tabellarisch overzicht hier laten volgen:

Overzicht van eenige proeven met bouilloncultures.

a. Intraveneuse inspuitingen.

Nummer der proeven.	Datum van inspuiting.	Hoeveelheid der ingespoten cultuur.	Ouderdom der cultuur.	Nummer van het ziektegeval.	Datum van exitus.	Tijd, dien het proefdier geleefd heeft.
XXIV.	8 Maart	3 cc	3 dagen	Geval IV	13 Maart	5 dagen
XXV.	8 "	2 cc	3 "	"	19 "	11 "
XXVI.	8 "	1 cc	3 "	"	14 "	6 "
XXVII.	18 "	1 cc	7 "	"	23 "	5 "
XXVIII.	18 "	$\frac{1}{2}$ cc	7 "	"	21 "	3 "
XXIX.	26 "	1 cc	7 "	Geval V	1 April	6 "

b. Subcutane inspuitingen.

XVIII.	8 Maart	1 cc	3 dagen	Geval IV	14 Maart	6 dagen
XIX.	18 "	1 cc	7 "	"	19 "	28 uur
XX.	18 "	$\frac{1}{2}$ cc	7 "	"	23 "	5 dagen
XXI.	26 "	1 cc	7 "	Geval V	31 "	5 "
XXII.	4 April	1 cc	8 "	Geval VII	11 April	7 "
XXIII.	12 "	1 cc	7 "	Geval II	15 "	3 "

De verschijnselen, die de dieren na subcutane of intraveneuse inspuiting met *ongefiltreerde* bouilloncultures vertoonen, gelijken volkomen op die, welke na de inspuiting met *gefiltreerde* bouilloncultures plegen op te treden; ook de veranderingen, die na hun dood in de organen worden

gevonden, stemmen zoo volmaakt overeen met die, welke reeds uitvoerig zijn beschreven op bladz. 21 en vgl., dat ik, om niet in herhalingen te vervallen, verwijs naar hetgeen de lezer daar ter plaatse vindt medegedeeld. De aantekeningen omtrent bovenstaande proeven zijn onder Bijlage B, bladz. 38, uitvoerig medegedeeld.

BILLAGE A.

A. Intraveneuse injecties bij konijnen met gefiltreerde bouilloncultures.

Proef I.

6 Mei. 11 uur voormiddag.

Een bouilloncultuur, 11^{de} generatie van geval IV, oud 9 dagen, wordt gefiltreerd door het filter van CHAMBERLAND. Van het filtraat, waarvan de reactie zwak alkalisch is, wordt 35 CC geïnjecteerd in de linker oor-vena van een wit konijn van 2350 gram.

Van het filtraat wordt geënt op LÖFFLER's serum, het blijkt volkomen steriel te zijn.

Kort na de operatie eet het dier en schijnt normaal.

Ten 4 ure wordt het dood in het hok gevonden.

Bij de obductie bleken de darmen met gas en vloeibare faeces gevuld te zijn; de darmvaten sterk uitgezet. De lever was broos en op sommige plekken bleek, de milt donker gekleurd; aan de nieren waren makroskopisch geen afwijkingen te constateeren.

Proef II.

7 Mei. 2 uur namiddag.

Een bouilloncultuur, 11^{de} generatie van geval IV, oud 9 dagen, wordt gefiltreerd. Van het filtraat, dat zwak alkalisch

reageert, worden 10 CC ingespoten in de linker oor-vena van een bont konijn.

Ten 4 ure schijnt het dier nog niet ziek.

8 Mei. Het dier wordt des morgens dood in het hok gevonden.

Bij de obductie bleek er eenig sereus vocht in de buikholte te zijn. De milt was donker van kleur en gezwollen, eveneens de oksel- en liesklieren. In de longen waren multiële bloeduitstortingen, eveneens in het pericardium. Aan de nieren waren makroskopisch geen veranderingen te zien. De lever bleek cirrhotisch te zijn. In de darmen bevonden zich vloeibare faeces.

Ter controle wordt een gelijke hoeveelheid (10 CC) zuivere bouillon, die 12 dagen in de broedstoom bij 33° C gestaan had en waarvan de reactie eveneens zwak alkalisch was, in de linker oor-vena van een grijs konijn gespoten. Het dier vertoonde hierna niet de geringste verschijnselen en bleef ook later gezond.

Proef III.

27 Mei. 12 uur voormiddag.

Men filtreert een bouillonecultuur van geval IV, 12^{de} gen., oud 28 dagen. Van het filtraat, dat zwak alkalisch reageert, wordt 5 CC ingespoten in de linker oor-vena van een grijs konijn van 2160 gram.

28 Mei. Des morgens sterft het dier.

Bij de obductie bleken de lymph-klieren gezwollen, terwijl het darmkanaal hyperaemisch en met weeke faeces gevuld was. De lever was broos, de overige organen boden geen duidelijke afwijkingen aan.

Proef IV.

- 27 Mei. Van hetzelfde filtraat worden 4 CC geïnjecteerd in de linker oor-vena van een grijs konijn van 1760 gram.
- 28 Mei. Des morgens ten 9 ure vond ik het dier op zijn zijde liggen, de kop is sterk naar achteren getrokken, terwijl de extremiteiten verlamd schijnen. Nu en dan maakt het dier heftige bewegingen, de ademhaling is zeer onregelmatig en wordt langzamerhand oppervlakkiger.

Ten 10.30 sterft het dier.

Bij de obductie, die onmiddellijk daarop verricht werd, vond ik zekere quantiteit sereus vocht in de beide pleura-holten, de longen waren samengevallen. Langs de vaten van het omentum waren talrijke ecchymosen, evenzoo onder de dura mater en in het ruggemerg.

De urine bevatte een zeer groote hoeveelheid cylinders en epitheel- en bloedcellen.

Proef V.

- 27 Mei. Van hetzelfde filtraat worden 2 CC ingespoten in de linker oor-vena van een grijs konijn van 1180 gram.
- 28 Mei. Het dier vertoont des morgens dezelfde verschijnselen als het voorgaande proefdier en sterft ten 12 ure.

Ook hier vond ik zwelling en hyperaemie der klieren en weinige bloeditstoringen in het omentum; in het ruggemerg en de hersenen werden deze niet aangetroffen. De blaas was sterk uitgezet en bevatte een zeer eiwithoudende urine.

Proef VI.

- 27 Mei. Van hetzelfde filtraat wordt 1½ CC ingespoten in de oor-vena van een grijs konijn van 1560 gram.

- 28 Mei. Het dier zit ineengedoken met ruige haren.
 29 Mei. Het dier eet niet meer en beweegt zich weinig. Des namiddags ten 3 ure heeft het blijkbaar geen kracht meer om te blijven zitten, het valt op zijde en sterft omstreeks 4 uur onder dezelfde verschijnselen als de beide voorgaande proefdieren.

Bij de obductie bleek de lever vettig gedegeneerd; in het omentum waren talrijke bloeduitstortingen, in de hersenen en het ruggemerg werden deze niet aangetroffen. De lymph-klieren waren hyperaemisch en gezwollen; in de bastlaag der nieren waren tal van puntvormige bloeduitstortingen.

Proef VII.

- 31 Mei. Bij een grijs-wit konijn van 1050 gram wordt van hetzelfde filtraat, dat gedurende 4 dagen bij gewone kamertemperatuur gestaan had, maar volkomen steriel gebleven was, 1 CC geïnjecteerd in de linker oor-vena.

- 1 Juni. Des avonds sterft het dier.

Bij de autopsie worden talrijke bloedingen langs de vaten in het mesenterium waargenomen, in de buikholte is een kleine hoeveelheid bloederig gekleurd vocht. De nieren zijn donker blauwrood van kleur, op doorsnede is de bastlaag donkerder van kleur dan het merg; er zijn lichte verschijnselen van imbibitie met bloedkleurstof.

Proef VIII.

- 31 Mei. Bij een grijs konijn van 1600 gram wordt van hetzelfde filtraat $\frac{1}{2}$ CC geïnjecteerd in de rechter oor-vena.

- 1—2 Juni. Het dier sterft des nachts.

Ik vond de venae van het mesenterium sterk geïnjecteerd, in het omentum waren talrijke haemorrhagieën. De nieren waren iets donkerder van kleur dan normaal, op doorsnede

bleken zij bloedrijk; makroskopisch waren verder geen veranderingen te constateeren. In de beide pleurae pulmonales waren talrijke kleine bloedingen.

B. Subcutane inspuitingen bij konijnen.

Proef IX

8 Mei. Onder de huid van den rug van drie konijnen, spuit men in van het filtraat van een bouilloncultuur van geval IV, 11^{de} gen. oud 13 dagen.

Een konijn ontvangt 1 CC,

Een ander „ 2 „

Een derde „ 3 „

Alleen dit laatste konijn vertoonde ziekelijke verschijnselen, doch bleef, evenals de overige twee, in het leven.

Proef X.

28 Mei. Men filtreert een bouilloncultuur van geval IV, 12^{de} gen., oud 28 dagen. Van dit filtraat worden 2 CC ingespoten aan de linkerkzijde onder de huid van den rug van een grijs konijn van 1750 gram.

1—2 Juni. Het dier sterft des nachts.

Op de plaats van injectie bevindt zich een roode plek ter grootte van een handpalm, veroorzaakt door injectie van kleine vaten en bloedingstoringen in het onderhuidsche weefsel. In de inwendige organen worden bloedingen aangetroffen. De nieren zijn donker, overigens zijn er met het ongewapende oog, geen bijzonderheden aan te bespeuren.

Proef XI.

11 Juni. Men filtreert een bouillonecultuur van geval IV, 12^{de} gen., die gedurende 28 dagen in de broedstoom bij 33° C gestaan heeft en gedurende 15 dagen bij gewone kamertemperatuur. Van het filtraat, dat zwak alkalisch reageert, worden des middags 2 CC ingespoten in de oor-vena van een grijsbont konijn A van 1395 gram; bij een ander konijn B van 1325 gram een gelijke hoeveelheid subcutaan.

13 Juni. In den ochtend sterft het konijn A.

Bij de obductie werden bloedingen in het omentum aangetroffen, de lever was eenigszins geel gekleurd. De nieren waren donker.

18 Juni. Des middags sterft het konijn B.

Het dier is vermagerd en blijkt 215 gram in gewicht te zijn afgenomen.

In de omgeving van de plaats van inspuiting waren de huidvaten sterk geïnjecteerd. Aan de inwendige organen was makroskopisch niets abnormaals te zien. De blaas bevatte een sterk eiwithoudende urine, waarin talrijke hyaline-, epithelium- en gegranuleerde cylinders werden aangetroffen.

Proef XII.

11 Juni. Van hetzelfde filtraat als in de vorige proef wordt gelijktijdig in de oor-vena van een bont konijn A van 1220 gram 1 CC ingespoten, en bij een ander konijn B van 1320 gram eveneens 1 CC subcutaan.

20 Juni. Het konijn A vertoont verlamingsverschijnselen in den linker achterpoot. Het dier is 407 gram in gewicht afgenomen. Den volgenden morgen werd het dood in het hok gevonden. Daar reeds rottingsverschijnselen ingetreden waren, konden veranderingen in de organen moeilijk met zekerheid geconstateerd worden. De urine bevatte weder talrijke cylinders. Het konijn B vermagerde eveneens zeer, doch bleef in het leven; albuminurie trad niet op.

BIJLAGE B.

A. Subcutane inspuitingen van bouilloncultures bij konijnen.

Proef XVIII.

- 8 Maart. Onder de huid van den rug van een bont konijn van 1425 gram wordt 1 CC ingespoten van een bouilloncultuur, 4^{de} gen. van geval IV. De cultuur is 3 dagen oud.
- 14 Maart. Het dier wordt des morgens dood in het hok gevonden.

Bij de autopsie vond men het volgende:

Op de plaats, waar geïnjecteerd was, een belangrijk gelatineus oedeem, dat zich ter zijde tot den buikwand uitstrekte; uitzetting van de huidvaten met kleine haemorrhagiën; zwelling der oksel- en liesklieren, die tevens hyperaemisch waren; sterke vette degeneratie van de lever; aan de overige inwendige organen werden met het bloote oog geen veranderingen waargenomen.

Van het oedeem wordt geënt op LÖFFLER's serum; reeds na 24 uur was een schoone cultuur opgekomen van bacillen, gelijk aan die, welke waren ingespoten.

Proef XIX.

- 18 Maart. Onder de huid van den rug van een grijs-wit konijn spuit men 1 CC in van een bouilloncultuur, 5^{de} gen. van geval IV; deze cultuur is 7 dagen oud.
- 19 Maart. Het dier sterft des middags. Bij de obductie vond men onder de huid van den rug op de plaats van inspuiting, een uitgebreid gelatineus oedeem en talrijke haemorrhagiën. De lever was broos en op sommige plekken geel van tint. De inwendige organen, inzonderheid de nieren, waren zeer hyperaemisch; het rechterhart was gevuld met zwart, deels gecoaguleerd bloed.

Proef XX.

- 18 Maart. Men spuit onder de huid van den rug van een grijs konijn $\frac{1}{2}$ CC in van een bouilloncultuur, 5^{de} gen. van geval IV, oud 7 dagen.
- 22 Maart. Het dier eet niet meer en is blijkbaar zeer ziek.
- 23 Maart. Het dier wordt dood in het hok gevonden in zittende houding. Bij de autopsie werd alleen een vette degeneratie van de lever gevonden.

Proef XXI.

- 26 Maart. Onder de huid van den rug van een grijs konijn wordt 1 CC ingespoten van een bouilloncultuur, 4^{de} gen. van geval V, oud 7 dagen.
- 30 Maart. Het dier zit stil met ruigen pels en eet weinig; er is een begin van verlamming in de achterpooten.
- 31 Maart. Des morgens sterft het dier.
Bij de obductie werd onder de huid van den rug een gelatineus oedeem gevonden met talrijke haemorrhagieën, terwijl de huidvaten alle sterk geïnjecteerd waren. Lies- en okselklieren waren gezwollen en hyperaemisch, de lever was vettig gedegeneerd. In het rectum waren weeke faeces.

Proef XXII.

- 4 April. Onder de huid van den rug van een grijs konijn wordt 1 CC ingespoten van een bouilloncultuur, 4^{de} gen. van geval VII, oud 8 dagen.
Het dier vertoont niets abnormaals tot den 11^{den} April.
- 11 April. 10 uur voormiddag. Het dier zit stil en heeft nu en dan rillingen, de ademhaling is versneld. Het beweegt zich met moeite, de gang is onzeker.
2 uur des middags. Het dier ligt op zijn zijde en kan zijn

extremiteten niet meer gebruiken, ook de halsspieren schijnen verland.

4 uur des namiddags. Het dier is dood.

Bij de obductie vond ik een belangrijk gelatineus oedeem onder de huid, ter plaatse van de inspuiting, over een uitgebreidheid van ongeveer 10 Cm²; sterke vulling van de onderhuidsche vaten, zwelling van oksel- en liesklieren; een geele, weeke lever en uitzetting van de blaas.

Van het oedeem wordt geënt op LÖFFLER's serum; den volgenden dag was een cultuur opgekomen van bacillen gelijk aan die, welke waren ingespoten.

Entingen met stukjes lever en lymph-klieren leverden geen cultures.

Proef XXIII.

12 April. Onder de huid van den rug van een zwart konijn wordt 1 CC ingespoten van een bouilloncultuur van geval II, 13^{de} gen. oud 7 dagen.

15 April. Het dier wordt dood in het hok gevonden.

Men vindt bij de obductie een gelatineus oedeem op de plek van inspuiting, sterk geïnjecteerde huidvaten, gezwollen okselklieren, terwijl de lever geel gekleurd is en de nieren en intestina zeer hyperaemisch zijn.

B. Intraveneuse inspuitingen bij konijnen.

Proef XXIV.

8 Maart. In de vena van het rechter oor van een grijswit konijn van 1575 gram worden 3 CC geïnjecteerd van een bouilloncultuur, 4^{de} gen. van geval IV. De cultuur is drie dagen oud.

13 Maart. Het dier sterft des morgens plotseling.

Men vond bij de obductie het volgende: sterk gevulde huid-

vaten, zwelling van oksel- en liesklieren; vette degeneratie van de lever; de milt is niet vergroot. De rechter- en linkerhartkamer zijn overvuld met grootendeels vloeibaar bloed. De trachea is sterk hyperaemisch.

Proef XXV.

- 8 Maart. In de vena van het linker oor van een witbruin konijn van 1423 gram worden 2 CC geïnjecteerd van een bouilloncultuur, 4^{de} gen. van geval IV, oud 3 dagen.
- 18 Maart. Het dier is vermagerd en blijkbaar zeer ziek.
- 19 Maart. 9 uur voormiddag. Het dier beweegt zich nauwelijks en ligt met den buik op den grond; zoowel van de voor- als van de achterpooten schijnen de adductoren verlamd. Tracht men het te doen loopen dan valt het omver, zonder de kracht te bezitten zich weder op te richten. Het dier heeft herhaaldelijk rillingen en loost weeke faeces; de ademhaling is onregelmatig en versneld.

3 uur namiddag. Het dier sterft.

Bij de autopsie vond men de lever vettig gedegeneerd, de blaas uitgezet, en de darmen gevuld met zeer weeke faeces en gas.

Proef XXVI.

- 8 Maart. In de vena van het linker oor van een grijs konijn van 1625 gram wordt 1 CC van dezelfde bouilloncultuur ingespoten.
- 14 Maart. Het dier sterft plotseling.

Bij de autopsie werd het volgende gevonden: sterk gezwollen en hyperaemische oksel- en liesklieren; zeer weeke en vettig gedegeneerde lever, overigens geen afwijkingen aan andere inwendige organen.

Zoowel van de gezwollen inguinaalklieren als van de lever

wordt geënt op LÖFFLER's serum; zij geven echter geen cultures van den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil.

Proef XXVII.

18 Maart. In de vena van het rechter oor van een vaalgrijs konijn wordt 1 CC geïnjecteerd van een bouilloncultuur, 5^{de} gen. van geval IV, oud 7 dagen.

21 Maart. Het dier is minder levendig en eet zeer weinig.

22 Maart. 11 uur voormiddag. Het dier zit stil met ruigen pels, eet niet meer en wankelt bij het lopen.

4 uur namiddag. Het dier ligt op zijde, de achter- en voorpooten zijn geheel verlamd en de kop wordt met moeite bewogen. De ademhaling is versneld en onregelmatig.

22—23 Maart. Het dier sterft des nachts.

Bij de autopsie wordt het volgende gevonden: sterk fettig gedegenerende lever; hyperaemische, gezwollen klieren; kleine haemorrhagieën in het weivlies der darmen; het rectum met weeke faeces gevuld.

Proef XXVIII.

18 Maart. Men injecteert in de vena van het linker oor van een grijs konijn $\frac{1}{2}$ CC van dezelfde cultuur als bij proef XX.

21 Maart. Het dier is ziek, eet niet meer en sterft reeds des middags.

Men vindt bij de autopsie, weder fettige degeneratie van de lever, zwelling en hyperaemie van klieren, hyperaemische nieren, overigens geen makroskopische afwijkingen aan de andere organen.

Proef XXIX.

26 Maart. In de vena van het linker oor van een bruin konijn wordt 1 CC ingespoten van een bouilloncultuur, 4^{de} gen. van geval V, oud 7 dagen.

31 Maart. Het dier zit in elkander gedoken en beweegt zich met moeite.

1 April. 10 uur voormiddag. Het dier kan niet meer loopen, de achterpooten zijn verlamd, abduceert men deze, dan kunnen zij niet meer geadduceerd worden. Het dier valt dikwijls om en is dan niet meer in staat zich op te richten.

De adembaling is zeer onregelmatig.

Ten 4 ure namiddag sterft het dier.

Bij de obductie bleken de lymph-klieren weder sterk gezwollen en hyperaemisch; de lever was op sommige plekken vettig gedegeneerd, terwijl de blaas sterk uitgezet en de darmen met weke faeces overvuld waren.

C. Entingen met cultures in de trachea bij konijnen.

Proef XL.

4 April. Men doet tracheotomie bij een grijs konijn en brengt, na het slijmvlies der trachea oppervlakkig gelaedeerd te hebben, daarop een platinalis van een cultuur van geval IV, 10de gen. oud 8 dagen.

De huidwond wordt door suturen gehecht.

5 April. Het dier heeft inspiratorische dyspnoe, bij de inspiratie hoort men een eigenaardig snorrend, zingend of piepend geluid.

6 April. Het dier wordt dood in het hok gevonden.

Bij de obductie werd langs de geheele halsstreek onder de huid een belangrijk gelatineus oedeem gevonden, terwijl in de omgeving van de trachea-wond dit oedeem meer haemorrhagisch was. De geheele wondvlakte was bedekt met een diphtherisch exsudaat; de trachea was sterk hyperaemisch met kleine ecchymosen; op de plaats van enting zag men grijs-witte pseudomembranen, die zich pleksgewijze tot in den larynx voortzetten. Op den pharynx-wand zijn geen pseudomembranen te zien. De halsklieren zijn hyperaemisch en gezwollen; de lever is op sommige plekken geel, de darmvaten

zijn sterk geïnjecteerd, terwijl het rectum met week faeces gevuld is.

Proef XII.

- 4 April. Men herhaalt hetzelfde experiment bij een grijs konijn.
- 5 April. Het dier vertoont denzelfden croupstridor als het vorige proefdier.
- 6 April. Het dier sterft.

Bij de obductie word evenals bij het vorige konijn een uitgebreid oedeem langs de voorste halsstreek gevonden; de trachea-wond is diphtheritisch ontstoken, in de trachea vindt men grijswitte pseudomembranen, de ontsteking heeft zich voortgeplant naar boven tot in den larynx en een eindweegs naar beneden tot even boven de bifurcatie van de bronchiën. De halsklieren zijn sterk gezwollen en hyperaemisch, de lever is eenigszins geel gekleurd, de nieren zijn bloedrijk.

B. Proeven bij duiven.

Een tweede reeks van proeven, die ik bij *duiven* verrichtte, leverde zeer belangrijke resultaten.

Meestal zijn slechts geringe hoeveelheden van gefiltreerde cultures voldoende, om bij duiven ziekelijke verschijnselen te doen optreden. Steeds injecteerde ik hen in den m. pectoralis, omdat de intramusculaire injectie de voorkeur verdient boven de subcutane, daar de dunne huid in het laatste geval spoedig rondom de injectie-plaats nekrotisch pleegt te worden.

Na de intramusculaire injectie van $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ CC bacillen-vrij filtraat, worden de duiven reeds spoedig ziek. Zij zitten stil ineengedoken met ruige veeren, hebben rillingen

en eten weinig; een sterke vermagering en verzwakking laten niet lang op zich wachten.

Bedraagt de hoeveelheid der ingespoten vloeistof ongeveer 1 CC, dan volgt de dood meestal vrij spoedig. Makroskopisch levert de autopsie weinig bijzonders op. De plaats van injectie in den m. pectoralis was steeds met een geel gekleurd, geleiachtig, opaak oedeem bedekt, terwijl de spiervezelen sterk gezwollen waren en een gele tint vertoonden, afhankelijk van korrelige en vette degeneratie. De huidvaten waren daar ter plaatse min of meer gedilateerd. De vaten van het mesenterium waren eveneens sterk geïnjectieerd, terwijl kleine haemorrhagiën werden waargenomen.

Injectieert men in den m. pectoralis kleinere hoeveelheden, dan ziet men aan de duif in de eerstvolgende dagen lichte of in het geheel geen ziekteverschijnselen en blijft het dier ook later meestal volkomen gezond. Evenwel zag ik in één geval, waar ik $\frac{1}{2}$ CC van een bouillonfiltraat had ingespoten en de duif alleen in de eerste dagen ziekteverschijnselen vertoond had, na verloop van vier weken verlamningsverschijnselen optreden, die na eenigen tijd weder verdwenen (zie proef XLIII). Op dit interessante feit zal ik later nader terugkomen.

Wat de injecties van ongefiltreerde bouilloncultures betreft, zoo geldt van deze waarschijnlijk hetzelfde, wat hierboven van die van gefiltreerde is gezegd. Ik heb intusschen hieromtrent slechts een tweetal proeven verricht. In beide gevallen (zie proef XXX en XXXI) spoot ik $\frac{1}{2}$ CC van een bouilloncultuur, die 7 dagen oud was, in den m. pectoralis. De eene duif stierf reeds den tweeden dag na de injectie, terwijl de andere eerst na vijf dagen overleed. Bijzondere verschijnselen, die hier vermelding mochten verdienen, vertoonden deze proef-

dieren niet. Dat intusschen door injectie van bouillon-cultures ook feitelijk paralytische verschijnselen bij duiven optreden, werd door proeven, die gelijktijdig met de mijne in het pathol. laboratorium verricht werden, zoo duidelijk aangetoond, dat het overbodig scheen deze proeven nogmaals zelf te herhalen. Voor mijn doel was het daarentegen belangrijker, om nog eens nader na te gaan, welke verschijnselen bij duiven optraden, wanneer ik de bacillen op het gelaedcerde slijmvlies van den pharynx inoculeerde. Ik heb hieromtrent een betrekkelijk groot aantal proeven moeten verrichten, omdat in de meeste gevallen de enting of in het geheel geen gevolgen had, wellicht omdat de bacillen door slikbewegingen werden weggespoeld, of in andere gevallen, slechts de ontwikkeling van enkele kleine, geelwitte, boven het oppervlak van het overigens niet hyperaemische slijmvlies promineerende diphtherische haardjes, ten gevolge had, die in de meeste gevallen weinig neiging vertoonden om zich verder over den pharynx uit te breiden, ja meestal na enkele dagen kleiner werden en vervolgens spoorloos verdwenen, zonder dat de dieren eenig ander verschijnsel aanboden dan eenige lusteloosheid en wat verminderde appetijt, gedurende het bestaan der diphtherische pharyngitis. Daarentegen bleek toch ook in enkele gevallen, dat het proces binnen korten tijd zich uitbreidde. Soms zag ik reeds na 18 uur dat geelachtig witte pseudomembranen zich over groote uitgestrektheid in den pharynx gevormd hadden. Het dier zit dan ineengedoken met ruige veeren en maakt een eigenaardig zingend of piepend geluid bij de respiratie.

Zooals ik reeds boven mededeelde duren deze ziekelijke symptomen slechts enkele dagen, waarna de duif schijnbaar weder geheel normaal is, ik zeg *schijnbaar*, want

na verloop van ongeveer 3—4 weken nam ik bij mijne duiven een zeer interessant verschijnsel waar, namelijk het optreden van zeer karakteristieke verlammingen, die als het ware de proef op de som leveren en als een der zekerste bewijzen voor de specifieke beteekenis van den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil zijn op te vatten.

Het zij mij vergund bij deze verlammingen eenigszins uitvoeriger stil te staan.

De eerste, die verlamningsverschijnselen bij de proefdieren waarnam was LÖFFLER. Deze zag bij een viertal zijner proefdieren eigenaardige bewegingsstoornissen optreden, die hij echter niet als diphtherische verlammingen meende te mogen opvatten, hoezeer hij hiertoe in den beginne geneigd was.

Het eerste geval betrof een duif, die vier weken na de enting in de snavelholte, zwakheid in de pooten en de vleugels vertoonde; binnen weinige dagen namen deze verschijnselen zoodanig toe, dat zij noch staan, noch vliegen kon. Nadat deze verlamming ongeveer 14 dagen geduurd had, verbeterde de toestand en werd het dier weder gezond.

Het optreden van deze verlamming, vier weken nadat het dier aan diphtherie geleden had en haar volkomen verdwijnen weder na drie weken, alles pleitte er voor dat hier van een diphtherische verlamming sprake was.

Een tweede enting bij dezelfde duif bracht LÖFFLER tot een ander gevoelen. Wederom vertoonde de duif ongeveer twee weken na de enting, motorische stoornissen en stierf den 23^{sten} dag. Bij de autopsie vond LÖFFLER afzetsels van acidum uricum in de gewrichten en peesscheeden, als ook in het pericardium en de nieren. Hij besloot hieruit dat de duif na de eerste enting aan een heftige arthritis urica geleden had, die na eenigen tijd weder verdwenen en na

de tweede enting gerecidiveerd was. Wellicht was ook deze tweede aanval weder verdwenen, als niet een intercurrente dubbelzijdige pneumonie den dood van het dier veroorzaakt had.

Een tweede proefdier, een haan, vertoonde eveneens vier weken na de enting stoornissen in de beweging; hij kon zijn evenwicht niet houden dan met uitgespreide pooten en was niet in staat om te vliegen.

Deze haan werd gedood en bij de autopsie bleken de rompspieren atrophisch, het sternum en de ribben verbogen, terwijl de wervelkolom zoo week was, dat men haar met het mes snijden kon; het dier leed dus volgens LÖFFLER aan rachitis van het beenstelsel van den romp, terwijl de beenderen van de extremiteiten nog geheel intact waren, een bevinding die de waargenomen afwijkingen, volgens LÖFFLER, voldoende verklaarde.

Korten tijd hierna begon een tweede duif dezelfde verschijnselen te vertoonen als de eerst beschrevene. Na 14 dagen werd de duif gedood. Van arthritis urica werd geen spoor gevonden, doch bij de opening van de wervelkolom werd in de streek van den laatsten rugwervel een myxoom gevonden, ter grootte van een erwt, dat het ruggemerg drukte, waardoor de verlamningsverschijnselen voldoende konden verklaard worden.

Bij een vierde proefdier, een konijn, zag LÖFFLER verlamningsverschijnselen optreden in de achterpooten, zonder dat hij anatomisch de oorzaak wist op te sporen.

ROUX en YERSIN namen daarentegen bij hun proefdieren zeer dikwijls verschijnselen van verlamming waar, zoowel na enting in den pharynx en de trachea en na subcutane en intraveneuse injecties van bouilloncultures als na inspuitingen met gefiltreerde cultures, terwijl geen anatomische oorzaak kon worden opgespoord. Zij aarzelen dan

ook niet deze verlamningsverschijnselen met de post-diphtherische van den mensch te identificeren.

Vergelijk ik mijne eigene waarnemingen omtrent dit punt met de hunne, zoo kan ik weder hun mededeelingen volkomen bevestigen. Wanneer men toch de verschijnselen nagaat, die o. a. de duif vermeld in proef XXXVI bladz. 56, ongeveer vier weken na de enting vertoond heeft, dan komen deze volkomen overeen met die, welke LÖFFLER en de Fransche onderzoekers bij hun duiven hebben waargenomen, alleen met dit kleine verschil, dat mijn duif in het leven bleef en geheel herstelde. Ook mijn duif kreeg een waggelendē gang, de pooten plaatste zij bij het loopen wijd uit elkander en steunde hierbij op haar vleugels om het evenwicht te bewaren, wat niet voorkwam, dat zij herhaaldelijk voorover viel. De bewegingen, die de duif bij het loopen maakte, herinnerden sprekend aan den ataktischen gang van een tabetiker. De kracht in de pooten was gedurende eenige dagen zoo sterk afgenomen, dat het loopen nagenoeg geheel onmogelijk werd en de duif voortdurend met den thorax op den grond rustte.

Het vreemde geluid bij het koeren en de moeilijkheid bij het slikken wezen er tevens op, dat er stoornissen bestonden in de beweging der larynx- en pharynx-spiereu.

Van nog een tweede zeer interessant verschijnsel moet ik hier melding maken. Toen dezelfde duif na eenige weken weder volkomen normaal en geen spoor van verlamming of spierzwakte meer te bemerken was, injecteerde ik haar den 11^{den} Juni in den m. pectoralis $\frac{1}{2}$ CC van een *gefiltreerde* bouilloncultuur, (zie proef XLIII, bladz. 54). In het verloop van de volgende dagen vertoonde zij slechts geringe ziekelijke verschijnselen, die weldra weder geheel verdwenen. Den 9^{den} Juli echter, dus weder ongeveer vier weken na de injectie, begon zij opnieuw stoor-

nissen in de beweging te vertoonen, die volkomen overeenkwamen met de hierboven beschrevene en nader vermeld staan in Bijlage C onder proef XLIII, bladz. 54.

Uit het feit, dat bij dieren ook na inspuitingen met gefiltreerde bouilloncultures verlammingen optreden, blijkt dus ontegenzeggelijk, dat de veranderingen in het zenuwstelsel, die de verlammingen teweegbrengen, uitsluitend op rekening moeten gesteld worden van de werking van het diphtherische gift en geenszins kunnen worden toegeschreven aan een onmiddellijke werking van de bacillen.

Zeer veel pleit er voor om het pathologische proces, dat de postdiphtherische verlammingen veroorzaakt, voornamelijk als een *multipele neuritis toxica* op te vatten, wat evenwel niet uitsluit, dat ook in sommige gevallen in de centraalorganen en voornamelijk in de grijze voorste zuilen van het ruggemerg en in de zenuwkeren van de medulla oblongata, het diphtherische gift zijn schadelijke werking kan uitoefenen. Het feit, dat deze diphtherische neuritis afhankelijk is van de werking van giftige stoffen, door mikroörganismen geleverd, is in overeenstemming met hetgeen bij andere infectie-ziekten wordt waargenomen, zooals o. a. bij de Beri-Beri, waar geen mikroben in de zieke zenuwen gevonden zijn.

Dat de postdiphtherische verlammingen eerst na verloop van eenige weken optreden, behoeft geen verwondering meer te baren, wanneer wij dit verschijnsel vergelijken met wat men bij andere toxische neuritides aantreft, o. a. bij de alcoholneuritis, waar het schijnbaar acuut optreden van de verlammingen als het eind-stadium is te beschouwen van een lijden, dat dikwijls reeds jaren lang bestaan heeft (WITKOWSKI).

Dat niet bij alle proefdieren na de enting verlamming-verschijnselen worden waargenomen, behoeft ons niet te

verwonderen, want in de eerste plaats sterven een groot aantal binnen een te kort tijdsverloop en ten andere is het voorkomen van paralyzen na diphtherie relatief zeer gering. Zoo zag SANNÉ bij 1382 diphtherie-lijdens slechts 155 maal verlammingen optreden, alzoo in ca. 11 %; terwijl SERTZ deze bij 600 gevallen slechts 30 maal waarnam, dus in slechts 5 % der gevallen.

Ten slotte moet ik nog wijzen op het verrassende resultaat, dat een mijner proeven bij duiven opleverde. Tot het nemen van deze proef gaven de volgende redenen aanleiding. Het was namelijk bij mijne proeven gebleken, dat wanneer de hoeveelheid van het ingespoten filtraat een zekere grootte overschreden had, de duif binnen korten tijd stierf; dat zij daarentegen, wanneer de dosis beneden een bepaalde grootte bleef, geene of slechts lichte ziekteverschijnselen vertoonde en dat, in een derde geval, als namelijk de dosis de gewenschte grootte had, die vooraf natuurlijk moeilijk te bepalen was, verlammingverschijnselen optraden, die juist voor mijn doel van de grootste betekenis waren. Daar het kiezen van de juiste dosis groote moeilijkheid opleverde, trachtte ik die klip door middel van een kunstgreep te omzeilen. Ik spoot daarom bij mijne proefdieren een kleine dosis in den m. pectoralis en herhaalde deze kleine injectie dagelijks, totdat een dosis was toegediend die, wanneer ik ze in eens in den m. pectoralis had gespoten, het dier ongetwijfeld binnen weinige dagen zou gedood hebben. Op die wijze immers moest het gelukken in het lichaam van het dier een dosis van het diphtherisch gift te brengen, die zoo groot was, dat ze ongetwijfeld in staat moest zijn paralyzen te verwekken, zonder dat acute intoxicatieverschijnselen het leven te spoedig in gevaar brachten. Daarenboven mag men immers aannemen, dat ook bij

den mensch het toxische gift, dat de diphtherische verlammingen teweegbrengt, niet plotseling maar gaandeweg in het bloed wordt opgenomen. En inderdaad de uitkomsten van deze proeven leverden zeer sprekende resultaten.

De proeven richtte ik aldus in: Van een gefiltreerde bouilloncultuur injecteerde ik den 11^{den} Juni, in den m. pectoralis bij vier duiven $\frac{1}{10}$ CC en herhaalde zulks gedurende *acht* opeenvolgende dagen, zoodat elke duif in het geheel $\frac{4}{5}$ CC werd ingespoten. Geen enkele duif vertoonde hierna ziekelijke verschijnselen. Ik hield hen echter voortdurend in observatie. Eerst vier weken later, tegen den 17^{den} Juli begon bijna gelijktijdig bij een drietal dezer duiven de toestand te veranderen. Terwijl de eetlust der dieren onveranderd was, vertoonden zij lichte verlamningsverschijnselen, die zich het eerst openbaarden door motorische zwakte in de extremiteiten. Deze verlamningsverschijnselen namen in de eerstvolgende dagen gaandeweg toe en weldra boden mijn drie proefdieren een ziektebeeld aan, dat de grootste overeenkomst vertoonde met de verlamningsverschijnselen, waargenomen na inoculatie van diphtherie-bacillen in den pharynx. Om niet in herhalingen te vervallen, kan ik verwijzen naar hetgeen op bladz. 49 is medegedeeld.

Nadat deze verlamningsverschijnselen ongeveer twintig dagen bestaan hadden en de duiven middelerwijl wat vermagerd waren, gingen de verschijnselen weldra weer terug, om ten slotte geheel te verdwijnen. Ik hield deze duiven later geruimen tijd in observatie, zij bleven echter volkomen gezond. Bij het vierde proefdier, dat gelijktijdig met de overige dezelfde quantiteit van het gift in den m. pectoralis ontvangen had, werden geen verschijnselen van paralyse waargenomen; ook later bleef dit dier volkomen gezond. Waarom dit eene dier, in tegenstelling

met de drie andere gezond bleef, durf ik niet beslissen. Het spreekt van zelf, dat verschillende omstandigheden, wier beteekenis moeilijk te beoordeelen is, de oorzaak daarvan kunnen geweest zijn.

De uitkomst dezer proeven acht ik daarom zoo belangrijk, omdat zij in de eerste plaats duidelijk aantonen, dat het diphtherisch vergift, wanneer het slechts in voldoende quantiteit in het organisme wordt opgenomen, vrij regelmatig verlamningsverschijnselen teweegbrengt; terwijl verder de aangewende methode een zeer eenvoudig middel aan de hand geeft dat doel te bereiken. Eindelijk moge de opmerking niet onvermeld blijven, dat in de bedoelde proef als het ware nagebootst werd, wat in de natuur bij de diphtherische angina plaats heeft. Tevens leerde deze proef, dat het snelle intreden van den dood bij de meeste mijner proefdieren te verklaren is uit de snelheid, waarmede de opneming van het gift in het bloed heeft plaats gehad.

BIBLAGE C.

A. Intramusculaire injectie bij duiven met gefiltreerde bouilloncultures.

Proef XIII.

- 6 Mei. Een bouilloncultuur van geval IV, 7^{de} gen. oud 45 dagen, wordt gefiltreerd. Van het filtraat wordt $\frac{1}{2}$ CC ingespoten in den linker m. pectoralis van een bonte duif.
- 7—11 Mei. Het dier vertoont geringe ziekelijke verschijnselen.
- 12 Mei. Des morgens wordt het dood in het hok gevonden.
Bij de obductie vond ik rondom de plaats van inspuiting

een gelatineus oedeem onder de huid, de linker m. pectoralis was geel van tint; de nieren waren gezwollen en hyperaemisch, overigens kon men makroskopisch geen veranderingen waarnemen.

Proef XLII.

- 11 Juni. Men filtreert een bouilloncultuur van geval IV, die gedurende 28 dagen in de broedstof bij 33°C gestaan heeft en gedurende 15 dagen bij gewone kamertemperatuur. De reactie van het filtraat is zwak alkalisch. Hiervan injecteert men bij 4 duiven $\frac{1}{4}$ CC in den m. pectoralis.
- 11—19 Juni. De injectie van $\frac{1}{4}$, CC wordt dagelijks herhaald.
- 20 Juni—17 Juli. De duiven vertoonen geen ziekelijke verschijnselen.
- 17 Juli. Er beginnen verlamingsverschijnselen op te treden bij een drietal der proef dieren.
- 22 Juli. De duiven kunnen slechts met groote moeite zich bewegen, zij rusten met den thorax op den grond. (cf. Proef XXXVI, bladz. 56).
- 26 Juli. De verschijnselen van paralyse beginnen te wijken.
- 4 Aug. De duiven zijn nagenoeg geheel hersteld.

Proef XLIII.

- 11 Juni. Van hetzelfde filtraat wordt $\frac{1}{2}$ CC gespoten in den m. pectoralis van de duif (vermeld in proef XXXVI, bladz. 56) welke postdiphtherische verlamingsverschijnselen vertoond had.
- Het dier vertoont na de injectie, gedurende de eerstvolgende dagen slechts geringe ziekelijke verschijnselen, die weldra weder wijken.
- 9 Juli. De duif begint weder motorische stoornissen te vertoonen bij het loopen. Den meesten tijd ligt het dier met den thorax op den grond, dwingt men het te loopen dan is de gang onzeker en valt het meermalen voorover; alle verschijnselen

komen volkomen overeen met die, welke dezelfde duif in April vertoond had. (Zie proef XXXVI, bladz. 56).

Op het laatst van Juli was zij geheel hersteld.

Een duif, die nimmer als proefdier gediend had en waarbij eveneens $\frac{1}{2}$ CC in den m. pectoralis geïnjectieerd was, vertoonde geen spoor van verlamingsverschijnselen.

B. Intramuseculaire injectie bij duiven met bouilloncultures.

Proef XXX.

18 Maart. In den linker m. pectoralis vlak naast het sternum van een roode duif, wordt $\frac{1}{2}$ CC ingespoten van een bouilloncultuur, 5^{te} gen. van geval IV, oud 7 dagen.

19 Maart. Het dier zit stil met ruige veeren.

20 Maart. Men vindt het des morgens dood in het hok liggen.

Bij de obductie vond men onder de huid aan de linkerzijde van het sternum over een uitgebreidheid van eenige centimeters een geel, gelatineus oedeem met haemorrhagieën in den omtrek, de huidvaten waren sterk gevuld; de linker m. pectoralis was geel getint en gezwollen; de vaten van het mesenterium waren overvuld met zwart, gedeeltelijk gecoaguleerd bloed; de overige organen waren sterk hyperaemisch.

Proef XXXI.

18 Maart. Men herhaalt dezelfde proef bij een roodwitte duif.

23 Maart. Het dier sterft.

Bij de obductie vond men op de plaats van injectie nekrose van de huid over een uitgestrektheid van ongeveer 4 ctm., de daaronder gelegen m. pectoralis was geel van tint en gezwollen. Aan de inwendige organen werden geen makroskopische veranderingen waargenomen.

C. Entingen op het slijmvlies van den pharynx bij duiven.

Proef XXXVI.

- 11 Maart. Bij een witte duif wordt op den achterwand van den pharynx, na dezen oppervlakkig verwond te hebben, met een platina-draad een cultuur gebracht van de 5^{de} gen. van geval IV; deze cultuur is 3 dagen oud.
- 15 Maart. De duif zit stil ineengedoken, heeft een weinig dyspnoe en vertoont duidelijk grijswitte pseudomembranen op den achterwand van den pharynx. Bij het ademen maakt zij een eigenaardig zingend geluid. Het dier drinkt veel. Na eenige dagen is de duif blijkbaar volkomen hersteld en vertoont niet de minste afwijkingen meer.
- 8 April. Deze toestand blijft zoo tot den 8^{sten} April, toen bij de duif de volgende verschijnselen optraden. Bij het loopen maakt het dier ondoelmatige bewegingen met zijn pooten, het plaatst deze wijd uit elkander en heeft een waggelenden gang; soms is het niet in staat het evenwicht te bewaren en duikelt over den kop; staat het even stil, dan zakt het in elkander en legt het zich op den buik. De bewegingen, die de duif bij het loopen maakt, herinneren sprekend aan den atactischen gang van een tabetiker. Het eet en koert nog goed.
- 12 April. De verlamming in de pooten is toegenomen; wanneer het dier zich tracht voort te bewegen maakt het daarbij gebruik van de vleugels om hierop te steunen.
- 17 April. Ook de vleugels beginnen een weinig te hangen en worden moeilijk opgeheven. Het koeren geschiedt zeer zwak, het slikken van maïskorrels schijnt het dier zeer moeilijk te vallen. Het is zeer vermagerd en zwak, legt men het op den rug dan kan het zich niet meer ophelpen.
- 20 April. De toestand blijft ongeveer hetzelfde, doch is niet erger.
- 23 April. Het dier schijnt een weinig krachtiger en begint de vleugels en pooten weer meer te bewegen.

- 27 April. Het dier kan weder op zijn pooten staan en loopt, hoewel waggelend.
- 30 April. De duif is zoo goed als geheel hersteld. (cf. proef XLIII.)

Proef XXXVII.

- 6 Mei. Men ent een witte duif op den achterwand van den pharynx, na dezen oppervlakkig wond gemaakt te hebben, met een cultuur van geval IV, 13^{de} gen., oud 4 dagen.
- 7 Mei. Aan de rechterzijde van den pharynx ziet men een zeer klein plekje, bedekt met een pseudomembraan.

Na eenige dagen schijnt het dier weder volkomen normaal; verlamningsverschijnselen, zooals bij de voorgaande proef, treden niet op.

Proef XXXVIII.

- 6 Mei. Men herhaalt de vorige proef bij drie blauwe duiven.
- 7 Mei. In den pharynx en aan het palatum bevinden zich eenige zeer kleine plekjes, bedekt met pseudomembraantjes.

De dieren herstellen volkomen; verlamningsverschijnselen treden niet op.

Proef XXXIX.

- 2 Juli. Een zevental duiven worden geënt in den pharynx met een cultuur van geval IV.
- 4 Juli. Vijf van deze duiven vertoonen kleinere of grootere pseudomembraantjes in den pharynx-holte.

Alle blijven in het leven; verlamningsverschijnselen zijn niet opgetreden.

C. Proeven bij eenige andere dieren.

In deze derde paragraaf wensch ik nog de resultaten mede te deelen van een aantal intoxicatie-proeven, die ik verricht heb bij enkele andere dieren, als daar zijn: cavia, hond, kat, muis en kikvorsch. Achtereenvolgens zal ik daaromtrent de bijzonderheden mededeelen, die mij toeschijnen vermeldingswaardig te zijn.

a. *Proeven bij cavia cobaya.*

Daar uit de onderzoekingen van Roux en YERSIN gebleken is, dat cavia's bijzonder gevoelig zijn voor het diphtherie-vergift en wel in dezelfde mate als voor den diphtherie-bacil zelf, zoo heb ik slechts bij een tweetal dieren proeven verricht.

Na onderhuidsche inspuitingen met bouillonfiltraten treden zeer spoedig ziekteverschijnselen bij hen op. De dieren zitten rillende in een hoek van het hok met over-eind staande haren. De ademhaling is versneld en binnen korten tijd succombeeren zij. Roux en YERSIN zagen meermalen een bloederige urine ontlasten.

Bij de obductie vindt men een gelatineus haemorrhagisch oedeem op de plaats van enting, hyperaemie van de inwendige organen, inzonderheid van de nieren en zwelling der lymph-klieren. Een eigenaardig verschijnsel dat bijna uitsluitend bij cavia's wordt waargenomen, is het voorkomen van een sereuse bloederig gekleurde vloeistof in de pleura-holten waarvan de hoeveelheid zeer aanzienlijk kan zijn; bij konijnen heb ik dit slechts één enkele maal gezien, terwijl daarentegen de lever-degeneratie, die bij konijnen bijna regel is, bij cavia's niet wordt waargenomen.

Zoo een bacillencultuur bij cavia's direct onder de huid

gebracht wordt, sterven de dieren in den regel binnen een kort tijdsverloop. De veranderingen, die na den dood gevonden worden, zijn dezelfde als die, welke na injectie van gefiltreerde bouilloncultures optreden; bij beide vindt men oedeem op de plaats van injectie en hyperaemie van de inwendige organen, zwelling van lymph-klieren en uitstorting van een bloederig vocht in de pleura-holten (zie proef XXXII). Ter plaatse van de injectie namen ROUX en YERSIN dikwijls een nekrotische plek in de huid waar.

Entingen van den bacil in de peritoneaalholte doodden de dieren volgens de onderzoekingen van ROUX en YERSIN, minder snel dan de onderhuidsche. Zoo stierven cavia's, die één en twee CC van een cultuur in de buikholte ontvingen, resp. den 3^{den} en 4^{den} dag, terwijl de dieren, die gelijktijdig dezelfde doses onder de huid ingespoten waren, binnen 24 uur succombeerden.

Ik heb deze proeven niet herhaald en verrichtte in het algemeen daarom bij cavia's slechts weinig proeven, omdat bijna gelijktijdig met mijn onderzoek in het pathol. laboratorium door Prof. Spronck een aantal proeven op cavia's werden verricht, waarbij in hoofdzaak bleek, dat deze dieren zeer gevoelig zijn voor diphtherie-bacillen en spoedig sterven.

b. *Proeven bij honden.*

Slechts een tweetal proeven heb ik bij honden genomen; daarvan stemmen de resultaten overeen met die der Fransche onderzoekers.

De intensiteit van de ziekteverschijnselen en de snelheid waarmede de dood intreedt, hangen weder grootendeels af van de hoeveelheid der ingespoten filtraten. ROUX en YERSIN injecteerden bij drie honden van een lichaams-gewicht van 8, 7 en 9.5 KG., intraveneus resp. 20, 10

en 4 CC. «Alle stierven, de eerste binnen 14 uur, de tweede binnen 15 en de derde binnen 26 uur. Eenige uren na de injectie werden de honden lusteloos, hadden rillingen, braken en diarrhee, waren daarna niet meer in staat zich te bewegen en stierven bijna plotseling. Bij de autopsie vond men een algemeene verwijding van de onderhuidse vaten, een hyperaemie van de maag, de intestina en de nieren. De maag bevatte een galachtige en bloedige vloeistof, de darmen waren gevuld met een wijrooden mucus, die in groote hoeveelheid gedesquammeerde epithelium-cellen bevatte. De urine was eiwit-houdend en het bloed zwart en vloeibaar» ¹⁾.

Wanneer zij geringe doses, bijv. 2 CC, inspooten, duurde de ziekte van 4—6 dagen; het dier vermagerde sterk, gebruikte geen voedsel en vertoonde een intensieven icterus, ten slotte succombeerde het dier.

Honden van 7 à 10 K.G. stierven in den regel niet, zoo men hen minder dan 1 CC van een filtraat injecteerde. Wel bleven zij langen tijd lusteloos en zwak en vertoonden partieele verlamingsverschijnselen, doch langzamerhand herstelden zij weder.

In de hoop bij mijn proefdieren deze verlammingen zelf te kunnen nagaan, injecteerde ik in de dij-vena van een hond van 7.55 K.G. (zie proef XLIV) slechts 1 CC, van een gefiltreerde bouilloncultuur van 30 dagen. Daar de hond na vijf dagen nog steeds vroolijk en wel bleef, spoot ik hem opnieuw 1 CC in, waarna zich weldra heftige ziekteverschijnselen openbaarden. Het dier weigerde weldra voedsel, had rillingen en kreeg diarroe. Eenige dagen vóór den dood deden zich verlamingsverschijnselen voor aan de voorste entremiteiten; bij het loopen

¹⁾ Annales de l'Institut Pasteur. Tome III Juin 1889 pag. 275.

werden deze wijd uit elkander geplaatst en ondoelmatig nedergezet en herinnerde de gang weder aan dien van een tabetiker. Na elf dagen stierf het dier.

Bij de obductie werd een algemeene vaatuitzetting met multiële haemorrhagiën aangetroffen. De nieren vertoonden op sommigen plaatsen bleeke gedeelten. Het was mij niet gelukt tijdens het leven urine op te vangen en bij de obductie bevatte de blaas slechts enkele druppels, zoodat ik de aanwezigheid van eiwit niet kon constateeren.

Bij mijn tweede proefdier van 5.67 KG., waar ik 2 CC subcutaan injecteerde van een gefiltreerde cultuur van 102 dagen (zie proef L), traden ook weldra pathologische verschijnselen op. Vier dagen na de injectie kreeg het dier een intensieven icterus en namen de verschijnselen zóó in hevigheid toe, dat het dier op geen enkelen prikkel meer reageerde en weldra stierf. Van een algemeene hyperaesthesie, die ROUX en YERSIN bij hun honden waarnamen, kon ik bij mijn dieren niets bespeuren. De obductie, waarvan de bijzonderheden in Bijlage D uitvoeriger beschreven zijn, leverde in hoofdzaak hetzelfde resultaat op als die van het vorige proefdier, de blaas bevatte een zure, sterk eiwithoudende urine.

c. Proeven bij kat en schaap.

Ik was nog in de gelegenheid de werking van het diphtherie-ferment na te gaan bij een volwassen kat (zie proef XLVI). Deze injecteerde ik subcutaan 6 CC van het filtraat eener bouilloncultuur, oud 30 dagen. Weldra werd het dier ziek en stierf na drie dagen, zonder typische verlamningsverschijnselen vertoond te hebben. De obductie leverde de gewone afwijkingen. Ook katten zijn dus niet resistent tegen de werking van het diphtherische gift.

Hetzelfde geldt van schapen. NOCARD ¹⁾ heeft namelijk onder de huid van een schaap 5 CC van een gefiltreerde bouilloncultuur geïnjecteerd, waarna het dier binnen drie dagen stierf. Ook hier bood de autopsie de bekende pathologische veranderingen.

d. *Proeven bij muizen en ratten.*

Na al hetgeen hier boven is medegedeeld, zou men geneigd zijn te veronderstellen, dat geen dier-species aan de zoo heftige werking van het diphtherische gift weerstand zou kunnen bieden en toch is het gebleken, dat dit wel het geval is. Ratten, muizen en kikvorschen zijn het namelijk die hierop uitzondering maken, terwijl de mogelijkheid, dat er nog meerdere refractaire diersoorten gevonden worden, niet buiten gesloten is.

Ratten en muizen blijven in het leven, zoowel na directe enting van diphtherie-bacillen onder de huid, als na injectie van gefiltreerde bouilloncultures; zelfs aan betrekkelijk groote doses bieden zij weerstand (zie proef XIV en XXXIII). Een dosis bijv. van 2 CC, die een konijn van 3 K.G. in 60 uur doet sterven, is zonder effect bij een muis van 10 gram! Zelfs geen spoor van nekrose van de huid op de plaats van injectie is waar te nemen, wat wel verwondering moet wekken als men nagaat, dat reeds de injectie van $\frac{1}{15}$ CC bij een cavia, volgens ROUX en YERSIN, in staat is een uitgebreide huidnekrose teweeg te brengen.

Aan ROUX en YERSIN gelukte het echter muizen, tengevolge van injectie met het virus te doen sterven, als zij het filtraat in het luchtledige indampden, waardoor zij een sterke dosis onder een klein volume konden inspuiten;

¹⁾ Annales de l'Institut Pasteur. Tome III Juin 1889 pag. 276.

wanneer zij van deze geconcentreerde vloeistof 4 CC bij muizen inspotten, een hoeveelheid, die overeenkomt met 17 CC niet ingedampt vocht, dan stierven de dieren, wat niet te verwonderen valt, als men nagaat dat de ingespoten hoeveelheid voldoende is, om meer dan 80 cavia's te dooden.

e. *Proeven bij Rana's.*

Ook insputtingen met filtraten, die ik bij Rana's verrichtte, gaven een negatief resultaat. (zie proef XV en XVII), zelfs na injecties van 2 en 3 CC in den lymph-zak bleven de dieren in het leven, zonder abnormale verschijnselen aan te bieden. Ook van het inbrengen van een aanzienlijke hoeveelheid bacillen in den lymph-zak, ondervonden zij geen nadeel, al plaatste ik het dier na de insputting eenige dagen in de broedstoom bij 33° C (zie proef XXXIV en XXXV).

BIDLAGE D.

PROEVEN BIJ ENKELE ANDERE DIEREN.

A. Subcutane injectie eener gefiltreerde bouillonecultuur bij een cavia.

Proef XXXII.

- 8 Mei. Onder de huid van den rug van een cavia cobaya wordt $\frac{1}{2}$ CC ingespoten van het filtraat eener bouillonecultuur, 11^{de} gen. van geval IV; deze cultuur is 13 dagen oud.
- 9 Mei. Reeds in den namiddag sterft het dier.
- Men vond bij de autopsie op de plaats van uitsputting op

den rug een gering oedeem en een omschreven haemorrhagie. De klieren waren hyperaemisch en gezwollen. In de beide pleura-holten vond men een bloederig sereus vocht; de lever was broos, sterke hyperaemie van de inwendige organen, vooral van de nieren.

B. Intraveneuse injectie eener gefiltreerde bouilloncultuur bij een hond.

Proef XLIV.

- 22 Juli. Men filtreert een bouilloncultuur van geval IV, oud 30 dagen. De reactie is zwak alkalisch. Hiervan injecteert men 1 CC in de dij-vena van een hond van 7.55 K.G.
- 22—27 Juli. De hond vertoont niet de minste ziekelijke verschijnselen.
- 27 Juli. Van hetzelfde filtraat wordt opnieuw 1 CC geïnjecteerd.
- 1 Aug. Het dier is blijkbaar ziek, het eet zeer weinig, heeft nu en dan rillingen en ligt den ganschen dag in zijn hok; dwingt men het dier te loopen, dan vallen verschijnselen van beginnende verlamming op; de voorpooten worden wijd uit elkander geplaatst en het dier heeft blijkbaar moeite zich staande te houden.
- 5 Aug. Het dier kan zich niet meer bewegen, het ligt met den kop plat op den grond.
- 6 Aug. De ademhaling is zeer moeilijk, de pauzen zijn zeer lang. Het heeft een profuse diarrhee.
- 6—7 Aug. Des nachts sterft het dier.
- Bij de obductie werden uitzetting van de vaten met multiële haemorrhagieën waargenomen en talrijke en groote bloedingen in de longen. Aan de lever was vette degeneratie waar te nemen. De nieren waren hyperaemisch, de corticalis vertoonde op sommige plekken bleke gedeelten. De darmen waren gevuld met een slijmige vloeistof. De hartspier was bleek, het bloed zwart en gedeeltelijk gecoaguleerd.

Proef XLV (contrôle-proef).

- 22 Juli. Van hetzelfde filtraat als in de voorgaande proef, injectieert men 2 CC in de oor-vena van een grijs konijn.
- 24 Juli. Het dier wordt des morgens dood in het hok gevonden. Bij de obductie werd een algemeene, sterke vaat-injectie gevonden; de lever was vettig gedegenerceerd. De nieren waren gezwollen en bloedrijk, de ureteren waren gevuld met bloed, ook de urine was bloederig gekleurd.

C. Subcutane injectie eener gefiltreerde bouilloncultuur bij één hond.

Proef L.

- 14 Oct. Een bouilloncultuur, oud 102 dagen, wordt gefiltreerd. De reactie is alkalisch. Van het filtraat worden 2 CC onder de huid van den rug van een jongen hond gespoten. Lichaamsgewicht 5.67 K.G. Het dier wordt weldra ziek, blijft voortdurend in zijn hok liggen en weigert voedsel.
- 18 Oct. Het dier vertoont icterus, zoowel conjunctivae als buikwand zijn intensief geel gekleurd. Het dier reageert zeer weinig, de respiratie is zeer bemoeilijkt.
- 19 Oct. Het dier reageert in het geheel niet meer en sterft ten 3 uren onder luid geschreeuw.

Bij de obductie werden enorme bloedingen aangetroffen in de lies- en okselholten en op de plaats van injectie. De lymf-klieren waren belangrijk gezwollen en hyperaemisch. De lever was op sommige plekken eenigzins bleek, de galblaas was slechts in geringe mate uitgezet. De nieren waren donker blauw van kleur en gezwollen, uitgebreide bloedingen onder den kapsel, de corticaalsubstantie donkerrood. De blaas bevatte een zure, sterk eiwithoudende urine.

**D. Subcutane injectie eener gefiltreerde bouilloncultuur
bij een kat.**

Proef XLVI.

- 3 Aug. Een volwassen kat worden 6 CC van hetzelfde filtraat als bij proef XLIV onder de huid van den rug gespoten.
4—5 Aug. Het dier beweegt zich weinig en eet niet meer.
6 Aug. Des morgens wordt het dier dood in het hok gevonden.

Autopsie: In den omtrek van de plaats van uitspuiting bevindt zich een zeer uitgebreide en sterke vaat-injectie met talrijke haemorrhagieën en een gelatineus oedeem. De lever is geel gekleurd. Onder den nierkapsel zijn kleine bloedingen, de nieren zijn op doorsnede donkerrood.

**E. Subcutane injectie van een gefiltreerde bouilloncultuur
bij een muis.**

Proef XIV.

- 27 Mei. Van hetzelfde filtraat als bij proef III wordt $\frac{3}{10}$ CC gespoten onder de huid van een grijze muis. Het dier vertoonde in de volgende dagen niets abnormaals en bleef in het leven.

**F. Subcutane injectie van een bouilloncultuur
bij een muis.**

Proef XXXIII.

- 27 Mei. Van een bouilloncultuur van geval IV, 12^{de} gen. oud 28 dagen, wordt $\frac{1}{10}$ CC ingespoten onder de huid van een grijze muis.
Ook dit dier vertoonde in de volgende dagen niets abnormaals en bleef in het leven.

G. Subcutane injectie van gefiltreerde bouilloncultures bij kikvorschen.

Proef XV.

- 8 Mei. Een bouilloncultuur van geval IV, 11^{de} gen. oud 13 dagen, wordt gefiltreerd. Van het filtraat wordt onder de huid van den rug in den lymph-zak van drie *Rana esculenta*, ingespoten.

A ontvangt $\frac{1}{4}$ CC,

B " $\frac{1}{2}$ CC, en

C " 1 CC van het filtraat.

Geen enkele vertoonde hierna iets abnormaals, alle bleven in het leven.

Proef XVII.

- 31 Mei. Van hetzelfde filtraat als van proef IV wordt bij drie *Rana's* onder de huid van den rug, bij elk 1 CC ingespoten.

De dieren blijven alle in het leven.

H. Subcutane injectie van bouilloncultures bij kikvorschen.

Proef XXXIV.

- 8 Mei. Bij drie *Rana esculenta* A, B en C wordt onder de huid van den rug, een bouilloncultuur gespoten van geval IV, 11^{de} gen. oud 13 dagen.

Bij A wordt $\frac{1}{4}$ CC ingespoten.

Bij B $\frac{1}{2}$ CC en

Bij C 1 CC.

Geen enkele vertoonde hierna eenig abnormaal verschijnsel.

Proef XXXV.

- 8 Mei. Een *Rana* wordt onder de huid van den rug $\frac{1}{2}$ CC ingespoten van een bouilloncultuur, 11^{de} gen. van geval IV, oud 13 dagen en in de broedstoom geplaatst bij 33°C. Een niet ingespoten *Rana* wordt ter contrôle eveneens in de broedstoom geplaatst.

Ook bij deze proef bleven de dieren normaal.

HOOFDSTUK III.

Nadere eigenschappen van het diphtherische virus.

In een tweede verhandeling, in Juni 1889 verschenen, deelen Roux en YERSIN nadere bijzonderheden mede over de natuur en de eigenschappen van het diphtherische virus. Zij zijn te belangrijk om ze onvermeld te laten; een kort résumé zal ik hier laten volgen.

In de eerste plaats hebben zij getracht uit te maken of het virus als een alkaloïde of als een ferment moest beschouwd worden. Verschillende eigenschappen hebben het waarschijnlijk gemaakt, dat het virus nadert tot de fermenten.

Een dezer eigenschappen bestaat hierin, dat de intensiteit van het virus afneemt door verhitting, terwijl deze afneming in giftigheid grooter is, naarmate de temperatuur hooger is en langeren tijd ingewerkt heeft. Verschillende proeven hebben dit duidelijk aan het licht gebracht. Een gefiltreerde cultuur o. a. waarvan een dosis van $\frac{1}{8}$ CC bij subcutane injectie, in staat was Cavia's te dooden, was dit niet meer, zelfs niet in een dosis van 1 CC, als de vloeistof gedurende 2 uur tot 58° C verhit was geworden. Evenzoo bracht een vloeistof, waarvan 2 CC onder

de huid gespoten, in staat waren een konijn te dooden, niet de minste ziekelijke verschijnselen teweeg, zelfs wanneer zij in een dosis van 35 CC intraveneus geïnjecteerd werd, wanneer deze vooraf verhit was geworden gedurende 10 minuten tot 100° C.

De dieren echter waarbij, hetzij subcutaan, hetzij intraveneus, groote hoeveelheden van de verhitte vloeistof ingespoten werden, stierven ten slotte na verloop van langeren of korteren tijd. Zij vermagerden langzamerhand, hoewel zij voedsel bleven gebruiken en plachten eenige dagen vóór hun dood, verlamningsverschijnselen te vertoonen. Hoewel dus door de verbitting een groot gedeelte van het gif is vernietigd, zoo is de verhitte vloeistof toch nog steeds in staat den dood teweeg te brengen, indien men slechts daarvan zekere doses injecteert (cf. proef XLVII).

Ook bij vrije toetreding van de lucht vermindert langzamerhand de toxische werking van het gif, wat nog bespoedigd wordt, zoo men de vloeistof tevens aan het zonlicht blootstelt; wat als een tweede bewijs kan gelden, dat het diphtherische virus als een ferment beschouwd moet worden (cf. proef XLVIII).

Bewaart men een gefiltreerde bouilloncultuur in een toegesmolten buis in het duister, zoo is het gebleken, dat zij na verloop van vijf maanden nog even werkzaam was als op den dag, waarop zij in de buis gebracht werd.

Zooals reeds vroeger medegedeeld is, hebben filtraten der cultures van den diphtherie-bacil slechts dan energieke, giftige eigenschappen, als zij alkalisch zijn geworden. Zoolang de reactie zuur is, moct men zeer groote hoeveelheden inspuiten, om eenig effect bij dieren te verkrijgen. Dit heeft de Fransche onderzoekers er toe gebracht om na te gaan of de toevoeging van een zuur aan een alkalisch

cultuur-filtraat haar schadelijke werking ook verminderde, wat inderdaad het geval bleek te zijn. Wanneer namelijk aan een zeer werkzame gefiltreerde cultuur, zooveel acidum lacticum of acidum tartaricum werd toegevoegd, dat de reactie vrij duidelijk zuur was en van deze vloeistof vervolgens onder de huid van cavia's één CC werd ingespoten, dan bleek het, dat slechts een gering oedeem ontstond en de dieren geheel herstelden, terwijl een proefdier dat ter contrôle $\frac{1}{2}$ CC van de *alkalische* vloeistof was ingespoten, binnen korten tijd succombeerde en de gewone veranderingen bij de obductie vertoonde.

Zoo men de zuur gemaakte vloeistof weder neutraliseert, herkrijgt zij een groot gedeelte van haar vroegere werkzaamheid. Zelfs de toevoeging van een geringe hoeveelheid zuur heeft een merkbaren invloed op de toxische werkzaamheid van het gif.

Voor de therapie kan dit feit van zeer veel beteekenis worden en zou het belangrijk zijn, om na te gaan op welke wijze het gift door verschillende chemische stoffen wordt gemodificeerd.

Het diphtherische gift heeft verder, evenals de fermenten, de eigenschap van zich aan zekere praecipitaten te binden, die gevormd zijn in de vloeistof waarin het gift is opgelost. De stof, waarmede het virus van de diphtherie het gemakkelijkst zich verbindt, is kalkphosphaat.

Wanneer men aan een gefiltreerde cultuur, droppels-gewijs een oplossing van chloorcalcium toevoegt, vormt er zich een praecipitaat, dat zich op den bodem verzamelt. Zoo men zorg draagt niet een te groote hoeveelheid chloorcalcium op eens toe te voegen, is men in staat in de helder afgeschonken vloeistof een tweede praecipitaat te verkrijgen en vervolgens nog een derde. Het is beter om gefractioneerd te praecipiteeren, omdat

het eerst verkregen praecipitaat, behalve het diphtherische gift, ook nog eenige andere stoffen medevoert uit den bouillon. De giftige werking van de vloeistof vermindert na iedere praecipitatie. Bij het begin van het experiment doet $\frac{1}{5}$ CC onder de huid van een cavia gespoten, het dier sterven; na de derde praecipitatie echter zijn zelfs 2 CC onwerkzaam. De toevoeging van chloorcalcium heeft dus de vloeistof van een groot gedeelte van het gift beroofd, dat zich nu in het praecipitaat bevindt. Wanneer men dit laatste affiltreert, zorgvuldig met gedistilleerd water uitwascht en een gedeelte hiervan, ter grootte van een kleine erwten, onder de huid van cavia's en konijnen brengt, zoo krijgen deze dieren reeds den volgenden dag een oedeem, dat langzamerhand grooter wordt; zij worden stil en sterven den 3^{den} of den 4^{den} dag.

Bij de obductie vindt men de reeds vroeger beschreven veranderingen, welke echter sterker sprekend zijn dan die, welke volgen op de injectie van de gefiltreerde vloeistof; het oedeem is meer haemorrhagisch en de vaten sterker uitgezet; het schijnt dus dat het gift, wanneer het langzamer diffundeert, een sterkere lokale werking uitoefent.

Het korrelige praecipitaat van het kalkphosphaat is besloten in een fibrine-net, vermengd met witte bloedcellen, waardoor een pseudomembraan gevormd wordt, die herinnert aan die, welke de injectie van den bacil zelve veroorzaakt. Inderdaad is de wijze van werking van het praecipitaat niet zonder analogie met die van den bacil. Want evenals de bacil op de plaats van enting het gift produceert, dat langzamerhand diffundeert, evenzoo laat het kalkphosphaat slechts langzaam de giftige stof die het opgenomen heeft, zich in de weefsels verspreiden.

Wanneer men het neerslag in het luchtledige uitdroogt, werkt het minder snel dan het vochtige praecipitaat; het behoudt echter langer zijn werkdadigheid dan de gefiltreerde vloeistof of het vochtige kalkphosphaat. Men kan het langen tijd aan de lucht bewaren en tot 70° verhitten zonder dat zijn toxische werking verminderd is; op een waterbad gedurende 20 minuten tot 100° C verhit, is het nog in staat cavia's te dooden.

Het laat zich gemakkelijk begrijpen, dat het zeer moeilijk is om in getallen uit te drukken, hoe groot de dosis van het gift is, die in staat is een cavia of een konijn te dooden, want de bezwaren, die men heeft om het gift in zuiveren staat te isoleeren, zijn zeer belangrijk, daar het gift, evenals andere fermenten, steeds met vreemde stoffen vermengd is. De Fransche onderzoekers hebben echter getracht door middel van cijfers eenigszins een denkbeeld te geven van zijn werkzaamheid. Eén gram van de werkzame vloeistof geeft, als zij in het luchtledige ingedampt wordt, één centigram droog residu. Zoo men hiervan aftrekt het gewicht van de asch en het oplosbare gedeelte in alcohol, dat geen toxische werking heeft, zoo blijft aan organische stof een gewicht van $\frac{4}{10}$ milligram over; het grootste gedeelte hiervan wordt nog gevormd door andere stoffen dan het diplitherische gift. Deze hoogst geringe dosis is echter voldoende om minstens 8 cavia's van 400 gram of 2 konijnen, ieder van 3 K.G. te dooden; een hond van 9 K.G., die deze $\frac{4}{10}$ milligram in het bloed werd ingespoten, stierf niet, maar bleef toch gedurende langen tijd zeer ziek.

Wanneer men de gefiltreerde vloeistof in het luchtledige boven zwavelzuur bij een temperatuur van ongeveer 25° uitdampt, verkrijgt men een residu, dat in een weinig water opgelost, zeer giftig is, omdat het, in een klein

volume, het werkzame bestanddeel bevat van een groote hoeveelheid cultuur. Alcohol van 80° lost een gedeelte van het drooge extract op; dit alcoholische extract heeft echter geen werking bij dieren, waaruit blijkt, dat het diphtherische gift onoplosbaar is in alcohol. Zoo men het extract echter oplost in een weinig water en dialyseert, zoo blijkt dat het diphtherische gift slechts zeer langzaam dialyseert, wat tevens het feit verklaart, dat een subcutane inspuiting veel langzamer werkt dan een intraveneuse.

In de maag schijnt het virus door inwerking van het maagsap zijn toxische eigenschappen te verliezen. Wanneer men namelijk duiven en cavia's een gefiltreerde cultuur per os toedient, zoo ziet men bij deze dieren geen ziekelijke verschijnselen optreden. Zoo kon men zonder nadeelige gevolgen 10 CC van een gefiltreerde cultuur in de maag van een duif brengen, terwijl $\frac{2}{5}$ CC van dezelfde vloeistof onder de huid van een tweede duif gespoten, deze binnen 60 uur deed sterven (cf. proef XLIX).

Het is zeer moeilijk om dieren aan het diphtherische gift te gewennen en hen inmuun daarvoor te maken, want zelfs bij kleine doses, kunnen nog na een lang tijdsverloop bedenkelijke verschijnselen optreden.

Zoo men dus bij diphtherie-tijders aan den bacil den tijd gelaten heeft een voldoende dosis van het gift te vormen, zal het te vergeefs zijn dat men de croupmembranen verwijdt en de bacillen doodt; het geproduceerde gift, dat door diffusie door het lichaam verspreid is geworden, zal zijn schadelijken invloed kunnen doen gelden, al zijn de bacillen reeds lang uit het lichaam verdwenen.

BIJLAGE E.

OVERIGE PROEVEN.

Proef XLVII.

- 7 Mei. Het filtraat van een bouilloncultuur van 9 dagen, wordt gedurende 20 minuten verhit tot 100°C en hiervan 35 CC ingespoten in de linker oor-vena van een wit konijn van 1625 gram. Het dier vertoonde hierna geen abnormale verschijnselen en bleef in het leven.

Proef XLVIII (cf proef XLV, bladz. 65).

- 29 Juli. Van hetzelfde filtraat als bij proef XLIV worden 2 CC in de oor-vena van een grijs konijn gespoten, nadat het filtraat ongeveer 24 uur aan het daglicht blootgesteld is geweest.
- 2 Aug. Des avonds sterft het dier.
- Bij de sectie vond men geringe bloedingen in het omentum, de nieren waren donker van kleur, overigens weinig afwijkingen.

Proef XLIX.

- 14 Oct. Een bouilloncultuur, oud 102 dagen wordt gefiltreerd. De reactie is alkalisch. Van het filtraat wordt 1 CC geïnjecteerd in den m. pectoralis van een duif A.
- Aan een andere duif B worden van hetzelfde filtraat 5 CC per os toegediend.
- 15 Oct. Duif A wordt dood in het hok gevonden.
- Duif B zit in elkander gedoken met ruige veeren, doch is na enkele dagen weder volkomen normaal.

RÉSUMÉ.

Aan het eind van dit proefschrift wensch ik in korte trekken de uitkomsten van mijn onderzoek aan te stippen.

Op overtuigende wijze is gebleken, dat de KLEBS-LÖFFLER'sche bacil in voedingsbouillon een toxisch ferment produceert, dat bij verschillende dieren onder de huid of in het bloed gespoten, pathologische veranderingen teweegbrengt, die volkomen overeenkomstig zijn aan de algemeene verschijnselen, die bij de diphtherie van den mensch worden waargenomen. Onder deze veranderingen verdienen voornamelijk vermelding: 1° de algemeene laesie van het vaatstelsel, 2° de veranderingen der nieren, die eiwithoudende urine secerneeren, 3° de postdiphtherische verlammingen, terwijl voorts nog valt op te merken, dat de acute intoxicatie een algemeene acute zwelling der lymph-klieren en parenchymateuse en vettige degeneratie der klierachtige organen verwekt.

Nog bij geen enkele pathogene bacterie kon tot dusver met zulk een nauwkeurigheid de werking van de bacillen zelve en van die hunner stofwisselingsproducten onderscheiden worden. Van hoeveel belang deze onderscheiding juist bij een infectie-ziekte is, wier specifieke mikrogen alleen aan de oppervlakte van het geïnfecteerde organisme woekeren, behoeft nauwelijks gezegd te worden. Vormde de oppervlakkige woekering van den KLEBS-

LÖFFLER'schen bacil een in het oog vallend contrast met de intensiteit der algemeene verschijnselen, die zich bij den mensch openbaren, een feit waarin velen een argument meenden te vinden tegen de pathogene beteekenis van dien bacil, thans vindt dit paradoxale verschijnsel zijn volledige verklaring in de ontzettende giftigheid van het ferment, dat de bacillen in de diphtherische pseudomembranen produceeren. Dit ferment wordt niet langs maag en darmkanaal in het lichaam van den diphtherielijder opgenomen, maar diffundeert langzaam in lymphe en bloed.

Is daarmede de pathogene beteekenis van den diphtherie-bacil zoo goed als buiten twijfel gesteld, ook voor de therapie zijn belangrijke, nieuwe gezichtspunten verkregen. De infectie-haard zoo spoedig mogelijk uit te roeien en voorts naar middelen uit te zien, om het reeds geresorbeerde ferment onwerkzaam te maken, ziedaar de rationeele toekomst-therapie van deze zoo moorddadige ziekte.

Eindelijk valt er op te wijzen, dat, nu eenmaal de oorzaak der diphtherie buiten twijfel vastgesteld is, weldra pogingen zullen worden aangewend om de diphtherie-bacil te verzwakken en na te gaan of bij dier en mensch zekere immuniteit kan worden verkregen, die wellicht tot heil van de menschheid kan worden toegepast.

Laat ons van de toekomst de beste hoop koesteren.

BIJLAGE F.

Korte beschrijving der Ziektegevallen.

Geval I. BAREND VAN S. oud 5 jaar, te Utrecht.

Den 25sten Januari klaagt patient over hoofdpijn, heeft koude rillingen en hooge temperatuur. Den volgenden dag gevoelt patient zich veel beter, doch klaagt over pijn in de keel, die zeer gezwollen is.

27 Jan. Patient maakt een eigenaardig blaflend geluid bij de respiratie en heeft foetor ex ore.

28 Jan. Het kind is zeer benauwd, de geroepen medicus raadt onverwijld het doen van tracheotomie aan, welke nog denzelfden avond in het Stedelijk Ziekenhuis verricht wordt.

29 Jan. Exitus lethalis.

30 Jan. Autopsie: Aan het obductie-verslag ontleen ik het volgende: „Aan de hals is de wond, afkomstig van de tracheotomie, bedekt met een diphtherisch beslag. De pharynx is bedekt met dikke pseudomembranen, bij de gezwollen tonsillen is dit eveneens het geval. De longen zijn aan de achterzijde over een groot gedeelte hyperaemisch en voelen vast aan; op doorsnede zijn die plaatsen zeer bloedrijk en bevatten geen lucht. De trachea vertoont overal diphtherische membranen, eveneens worden deze in de bronchi gevonden, waardoor deze bijna geheel gevuld worden.”

Diagnose: Diphtheria faucium et laryngis, pneumonia lobularis duplex.

In de coupes van de met pseudomembranen bedekte tonsillen en van den pharynx, die met methyleenblauw gekleurd werden, kon ik de aanwezigheid van talrijke groepjes van KLEBS-LÖFFLER'sche bacillen constateeren.

Geval II. MARIA B. oud 12 jaar, kindermeisje te Horn. Patiente is den 12den Februari met verschijnselen van algemeene malaise, koorts en pijn bij het slikken onder geneeskundige behandeling gekomen. Zij vertoont witte plekken op de rechter tonsil, die zich twee dagen later

ook op de linker tonsil hebben voortgeplant. Den 21^{sten} Februari werden mij stukjes pseudomembranen toegezonden; onmiddellijk werden deze geënt op buisjes met LÖFFLER's serum en in de broedstoom geplaatst bij 33° C. Na korten tijd verkreeg ik zuivere culturen van den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil.

Paralytische verschijnselen zijn bij patiente niet opgetreden; zij is volkomen hersteld.

Geval III. HUBERTINA C. oud 7 jaar, te Horn. Patiente kwam den 6^{den} Februari onder geneeskundige behandeling. Patiente heeft hevige koorts, gezwollen tonsillen, bedekt met pseudomembranen, die zich op den pharynx-wand voortzetten. De submaxillair- en halsklieren zijn gezwollen. Den 27^{sten} Februari heeft patiente nog verhoogde temperatuur en is zeer vermagerd en zwak; sinds 25 Februari hebben zich verlamingsverschijnselen van het palatum voorgedaan. Op de rechter tonsil bevindt zich nog een klein plekje exsudaat, dat met den scherpen lepel verwijderd en mij ter onderzoek wordt toegezonden. Spoedig gelukte het mij hieruit reincultures van den diphtherie-bacil te kweeken. Patiente overleed 4 Maart aan collaps.

Geval IV. CATUARINA S. oud 13 jaar, te Horn. Patiente voelde zich den 18^{den} Februari onwel. Den 23^{sten} Februari constateerde de medicus koorts, pharynxcatarrh en membranen op de beide gezwollen tonsillen, alsmede op de randen der huid. Den 27^{sten} Februari waren nagenoeg alle membranen afgestooten. Den 28^{sten} Februari entte ik stukjes pseudomembraan; reeds bij de 3^{de} generatie verkreeg ik reincultures van den diphtherie-bacil. Paralytische verschijnselen zijn niet opgetreden. Patiente is hersteld.

Geval V. JAN H. oud 9 jaar, te Horn. Patient kwam 10 Maart onder behandeling. Den 12^{den} Maart zijn uvula en tonsillen gezwollen, de laatste zijn bedekt met dikke pseudomembranen. Den 18^{den} Maart is de koorts verminderd, doch nog aanwezig. Het neusslijmvlies is thans ook aangedaan; sedert drie dagen zijn er verschijnselen van pharynx-paralyse. De tonsillen zijn geheel bedekt met pseudomembranen, zoo ook de uvula. 28 Maart Exitus lethalis. Den 14^{den} Maart waren mij pseudomembranen toegezonden; ook in dit geval gelukte het mij zeer spoedig reincultures van den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil te verkrijgen.

Geval VI. MARIE S. oud 12 jaar, te Horn. Patiente werd den 14den Maart ziek. Zij kreeg vrij hevige koorts en delireerde. De tonsillen zijn rood, gezwollen en met dikke, weinig adhacrente pseudomembranen bedekt, er is foetor ex ore. Den 18den Maart is patiente koortsvrij, submaxillair-klieren en tonsillen zijn nog gezwollen, op de laatstgenoemde ziet men nog resten van membranen. Verlamningsverschijnselen traden niet op. Patiente is hersteld. Den 16den Maart entte ik de toegezonden membraanstukjes; de 3de generatie bleek louter uit diphtherie-bacillen te bestaan.

Geval VII. PIETER HUBERTUS W. oud 13 jaar, te Horn. Patient heeft zich sedert 14 Maart ongesteld gevoeld, doch de school nog bezocht. Den 16den Maart kwam patient onder behandeling. Temperatuur 40°, polsfrequentie 128. De submaxillair-klieren zijn gezwollen evenals de tonsillen, die met dikke pseudomembranen bedekt zijn. Den 18den Maart zijn de membranen nagenoeg verdwenen. Eenige dagen later treden verlamningsverschijnselen op. Patient is hersteld. Den 20sten Maart entte ik een stukje membraan en verkreeg bij de 5de generatie zuivere cultures van den diphtherie-bacil.

Geval VIII. WILLEM HUBERTUS L. oud 9 jaar, te Horn. Patient kwam 5 April onder behandeling met verschijnselen van koorts en klachten over keelpijn. 9 April. Hals- en submaxillair-klieren zijn gezwollen; de tonsillen rood, gezwollen, en bedekt met pseudomembranen. 24 April. Patient is zeer vermagerd, zwak en anaemisch, temperatuur normaal. Op de rechter tonsil bevinden zich nog twee kleine en dunne membranen. Verschijnselen van paralyse beginnen op te treden. Den 29sten April succombeert patient, tengevolge van nephritis. Den 11den April waren mij stukjes membraan toegezonden, die ik onmiddellijk entte; ook in dit geval verkreeg ik binnen korten tijd reincultures van den diphtherie-bacil.

Geval IX. Jos. G. oud 11 jaar, te Roermond. Diagnose: Angina diphtherina; historia morbi ontbreekt. Den 14den Mei werden mij van dezen patient stukjes membraan toegezonden. Reeds in den eersten cultuur waren talrijke koloniën van den diphtherie-bacil opgekomen; van het maken van reincultures werd afgezien.

T H E S E S.

I.

De KLEBS-LÖFFLER'sche bacil is de oorzaak der epidemische diphtherie.

II.

Diphtherie is een intoxicatie met een zeer werkzaam gift, dat gevormd wordt door den KLEBS-LÖFFLER'schen bacil, ter plaatse waar deze gelegenheid vindt, zich te ontwikkelen.

III.

Het mikroskopisch onderzoek van de pseudomembranen in twijfelachtige gevallen van diphtherie, heeft absoluut geen waarde.

IV.

Bij zoogen. *erfelijke praedispositie* bij tuberculose is *germinatieve infectie* hoofdzaak.

V.

Het tuberculum laterale processus posterioris tali, beantwoordt aan het *os trigonum* (Bardleben) en moet beschouwd worden als *os intermedium tarsi*.

VI.

De nieuwere anatomische onderzoekingen dwingen tot het aannemen van *commissuren* tusschen de primaire centra der zintuigen. De verschijnselen van *transfert* vinden daarin hun verklaring.

VII.

De door DONDERS gewijzigde theorie van YOUNG-HELMHOLTZ verklaart de feiten beter dan die van HERING.

VIII.

De elastische vezel van het lig. nuchae bij het rund, is van een eigen scheede voorzien.

IX.

De elastische vezelen in de cartilagines arytaenoideae nemen haren oorsprong uit cellen.

X.

De spoedige toepassing eener lokale behandeling met antiseptica is bij diphtherie dringend geïndiceerd.

XI.

De postdiphtherische verlammingen zijn afhankelijk van een primaire multipele neuritis toxica.

XII.

Bij febriele ziekten diene men alleen dan antipyretica toe, wanneer men niet alleen de hooge temperatuur, maar tevens andere ziekteverschijnselen of hunne oorzaak wenscht te bestrijden.

XIII.

Bij diphtheria laryngis verrichte men tracheotomie nog vóórdát stikkingsgevaar dreigt.

XIV.

Bij aseptische wonden verdienen door stroomenden waterdamp gesteriliseerde verbandstoffen, de voorkeur boven die bedeed met antiseptica.

XV.

De verschijnselen van ileus zijn niet afhankelijk van de afsluiting van den darm, maar worden teweeg gebracht door beleediging van den darmwand.

XVI.

Bij prolapsus uteri verdient de door FRITSCH gewijzigde HEGAR'sche kolpo-perineorrhaphie ruimere toepassing.

XVII.

Ook de kleinste ruptura perinei worde nauwkeurig gehecht.

XVIII.

Dat het aantal vrouwen, die hare kinderen niet zelve kunnen zogen, steeds toeneemt, moet in de eerste plaats geweten worden aan het vroegtijdig dragen van ondoelmatige korsetten.

XIX.

Vóór het doen eener iridectomie, sclerotomie of extractio lentis, is het wenschelijk de kromming van de cornea in hare verschillende meridianen te bepalen en daarnaar zoo mogelijk de plaats van operatief ingrijpen te kiezen.

XX.

Onderzoek op gezichtsscherpte, refractie en kleurperceptie worde voor schoolkinderen verplichtend gesteld.

XXI.

Het losloopen van ongemuilbande honden op den openbaren weg worde verboden.

XXII.

Contrôle van gemeentewege op de deugdelijkheid van melk is dringend noodzakelijk.

XXIII.

Het paviljoenstelsel is voor ziekenhuizen wenschelijk, voor krankzinnigengestichten dringend noodzakelijk.

XXIV.

Daar de krankzinnigengestichten in Nederland nauwelijks anders mogen opnemen dan krankzinnige *misdadigers* en *misdadige* krankzinnigen, zal hun beteekenis als gevangenissen evenzeer op den voorgrond komen als die van ziekenhuizen op den achtergrond is geraakt.

XXV.

«La science de la médecine, si elle ne veut pas être rabaissée au rang de métier, doit s'occuper de son histoire et soigner les vieux monuments que les temps passés lui ont légués.»

LITTRE.

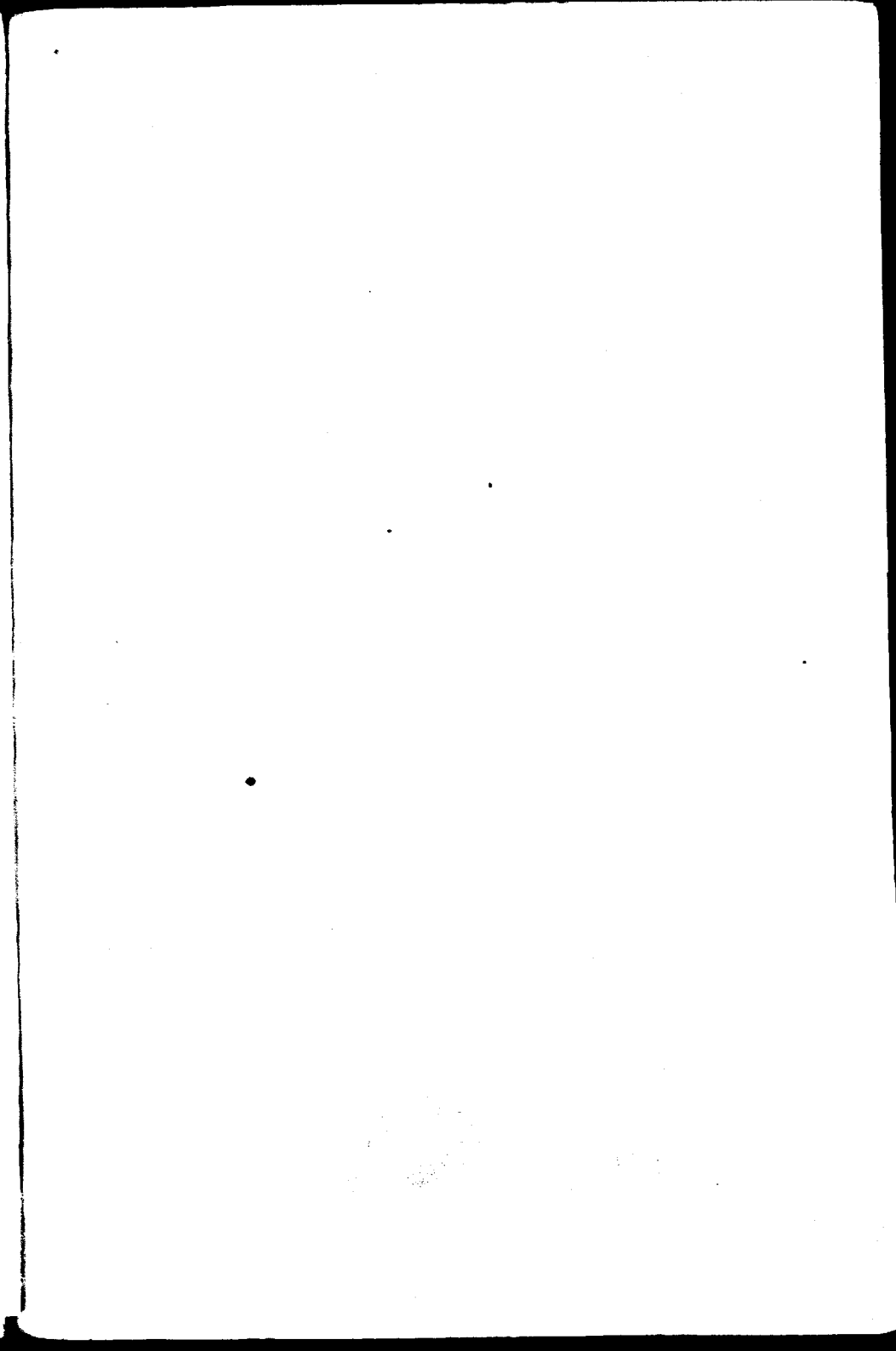
XXVI.

Μέγα δὲ μέρος ἡγεῖσθαι τῆς τέλης εἶναι τὸ δύνασθαι σκοπεῖν.

HIPPOKRATES.

15798







19266