

tusschen den volkomen ronden diplococcus en den vrij slanken bacil. Een zeer uitgebreid onderzoek over deze vormvariëteiten is door Kruse en Pansini¹⁾ in het licht gegeven.

Foa en Rattone, wien het niet gelukte met den bacillus-pneumoniæ van Friedländer bij cavia's typische pneumonie te doen ontstaan, isoleerden uit een postpneumonisch longabces een staphylococcus, welke volgens hun beschrijving zoowel in cultuureigenschappen als in pathogene werking overeenkomt met den staphylococcus salivarius pyogenes van Biondi. Het organisme vormde op agar en glycerine-agar dikke ondóorschijnende, ietwat oranje getinte cultures, die de gelatine onder lichte geelkleuring deden vervloeien. Subcutaan bij dieren ingespoten ontstonden slechts locale abscessen, die na doorbraak of incisie genazen, en waaruit weer hetzelfde organisme werd gekweekt. Beide onderzoekers komen tot het besluit, dat het in de croupeus ontstoken long optretende absces niet is op te vatten als te zijn veroorzaakt door het pneumonische virus maar door een ander specifiek pyogeen organisme.

IV.

Bij de nu volgende serie van proefnemingen werden weer eenige konijnen volkomen op dezelfde wijze behandeld als reeds in het eerste gedeelte van ons onderzoek is beschreven. Op verschillende tijdstippen na de injectie werden de dieren gedood. Met eventueel bestaande pleuritische exsudaten en uit eenig schraapsel van de sneevlakte der longen werden cultures gemaakt; eveneens werden direct uit de exsudaten en het bloed microscopische præparaten gemaakt. Behalve

¹⁾ Kruse en Pansini, *Zeitschrift für Hygiene* 1892. Untersuchungen über den Diplococcus pneumoniae.

in twee, later te beschrijven gevallen werd steeds het bloed vrij van microben gevonden. Stukjes uit de ontstoken gedeelten der longen werden in geconcentreerde sublimaat-keukenzoutoplossing of in de vloeistof van Muller gehard en verder op de gewone wijze voor microscopisch onderzoek geschikt gemaakt.

Konijn 17, dat al spoedig na de injectie temperatuursverhooging kreeg, welke echter niet boven 39.8 steeg, werd zes dagen na de injectie gedood. Pathologisch-anatomisch werd het volgende gevonden: pleuritis sero-fibrinosa sinistra et dextra; het pericardium was vrij; vooral in de rechter long voelt men multiple kleine haardjes, die luchtledig en bruinrood op de sneevlakte blijken te zijn. Microscopisch werden in deze haardjes de alveolen opgevuld gevonden met enkele afgestooten epitheelcellen en vele groote en kleine witte bloedlichaampjes. Micro-organismen konden in deze coupes niet worden aangetoond, evenmin kon door middel van de reactie van Weigert fibrine worden aangetoond.

De uitstrijkpraeparaten van de long bevatten evenals het bloed geen bacteriën. In het pleuritisch exsudaat daarentegen werden er vele gevonden; de meeste hebben den vorm van diplococcen, enkele diplostaven worden er echter ook in aangetroffen. Van de cultures uit het exsudaat komen alleen die in bouillon op. Deze cultuur groeit goed. Ze is na tweemaal 24 uur reeds diffuus troebel. Na een paar dagen bezinkt ze. Het bezinsel is vlokkig, niet dicht; de rest der cultuur blijft nog licht troebel. Een oppervlakkig vliesje bestaat niet. Microscopisch bevat de cultuur micro-organismen, die alle in dubbelvorm liggen. Men vindt behalve ronde coccen ook enkele lancetvormige, daarbij ook vele kortere en langere staven, welke afgeronde uiteinden bezitten; wat hun aantal betreft zijn deze laatst in de meerderheid. Overenting van deze cultuur op andere voedingsbodems geeft het volgende resultaat.

De agarcultuur groeit vrij snel met een matig dik grijsachtig beslag en een zeer troebel condensatiewater. De glycerine-agarcultuur groeit eveneens goed met een dun grijsachtig droog laagje en troebel condensatiewater. Bloed-serum geeft een grijsachtig licht glanzend dun laagje met zeer licht troebel condensatiewater.

De gelatine-strijkcultuur groeit en vervloeit vrij snel; de cultuur ziet er uit als een dunne blauwachtige laag, welke niet scherp begrensd is en enkele dichtere punten vertoont.

De gelatine-steekcultuur vervloeit eveneens snel; de cultuur heeft diffuus uitlopende randen; reeds na een paar dagen vindt men in het verloop van het steekkanaal enkele vervloede plaatsen. Na verloop

van vier dagen worden met de bouillon-cultuur twee muizen geënt, welke na verloop van twaalf uur aan septicaemie te gronde gaan. In het bloed en in de uitstrijkpraeparaten van de milt worden vele diplo-organismen gevonden, waarvan vele een kapsel bezitten. Uit het bloed van milt en hart worden bouillonculturen gemaakt. Die uit de eerste muis bevatten rottingsorganismen en stinken (deze muis werd door toevallige omstandigheden eerst geruimen tijd na den dood geopend, hetgeen de aanwezigheid van rottingsorganismen verklaart); die uit de tweede muis zien er zeer diffuus troebel uit en bevatten een fijnvlokkelig bezinksel. De overentingen op de verschillende voedingsbodems komen allen op en geven hetzelfde aspect als de zoo juist beschrevene. Alleen vervloeien de gelatine steek- en strijkculturen veel langzamer. Microscopisch bevatten alle culturen de diplo-organismen waarvan de staafvorm met afgeronde uiteinden overweegt. Weer wordt van deze cultures-serie een bouillon-cultuur door muizen gejaagd; deze proefdieren gingen eveneens aan septicaemie te gronde. In uitstrijkpraeparaten van bloed en milt bevonden zich vele diplo-organismen in kapsels grootendeels opgesloten. De overentingen van uit de bouillon-cultuur groeien veel langzamer, alleen de gelatine-culturen groeien goed en vervloeien slechts zeer langzaam. Nadat nogmaals een bouillon-cultuur door een muis is gepasseerd, vindt men in het bloed van het aan septicaemie gestorven dier vele kortere en langere diplostaven grootendeels in een gemeenschappelijke of in afzonderlijke kapsels opgesloten. Deze kapsels werden zeer licht violet gekleurd, wanneer men op het dekglaspraeparaat gedurende een halve minuut een waterige oplossing van gentiaanviolet liet inwerken en daarna volkomen ontkleurde in een sterk verdunde (1 : 1000) oplossing van azijnzuur. De gemaakte overentingen op bouillon en agar groeiden slechts zeer langzaam. Op gelatine echter was de groei beter. In de steekcultuur ontwikkelde zich een dunne centrale band met kleine koloniën aan de peripherie. Over de oppervlakte groeide ze in een dun blauwachtig eenigszins doorschijnend laagje. Bij lage temperatuur vond geen ontwikkeling plaats. Bij hogere temperatuur behielden de culturen gedurende geruimen tijd (drie weken) hun virulentie. Zoowel om zijn cultuureigenschappen als om zijn morphologischen vorm en om zijn verhouding tot proefdieren kwam dit organisme overeen met den *bacillus salivarius septicus* van Biondi.

Volgens onze gelatine-culturen moesten we dus bij onze eerste bouilloncultuur te doen gehad hebben met een mengsel van twee organismen waarvan het eene de gelatine niet, het andere die daarentegen wel vervloeide en waarvan dit laatste door herhaalde passages door muizen verwijderd werd. In gelatineplaten van de eerste bouillon-cultuur werden dan ook twee organismen gevonden waarvan

het eene vrij snel groeide en de gelatine vervloeiide, terwijl het andere, dat slechts langzaam in kleine geelwitte koloniën, die grootendeels onder de oppervlakte lagen groeide, de gelatine vast liet. De vervloeiende kolonies groeiden goed op alle voedingsbodems en bleken te bestaan uit kleine, vrij lange, spitse diplococcen. Een geënte muis stierf binnen tweemaal vier-en-twintig uur; het bloed dezer muis was niet in staat bij subcutane injectie proefdieren te dooden. Bij de verschillende konijnen heb ik dit organisme niet meer aangetroffen. Volgens zijn morphologischen vorm en zijn verhouding tot proefdieren schijnt het overeen te komen met de vierde variëteit van Miller van den diplococcus der sputumsepticaemie.

Konijn 18 dat tegelijkertijd en met hetzelfde spoësel als het vorige proefdier was ingeënt, vertoonde slechts de eerste dagen temperatuursverhooging welke niet boven 39.8 gingen. Toen het andere konijn gedood werd, was de temperatuur weer normaal en binnen enkele dagen was het dier geheel genezen.

Konijn 19 is ongeveer een week na de inspuiting zeer sterk vermagerd. Het eet weinig of niet en heeft een vrij sterk versnelde respiratie. Toen het den achtsten dag een temperatuur had van 40.1, werd het door een slag achter de ooren gedood. In beide pleuraholten vindt men een weinig vrij sterk troebel vocht. Dit exsudaat bevat microscopisch diplococcen, waarvan vele den lancetvorm hebben. Zoowel uit het exsudaat als uit de long worden cultures gemaakt; alleen die uit het exsudaat en dan nog wel alleen de bouillon-cultures komen op.

Na vier-en-twintig uren zijn de bouillon-cultures zeer licht diffuus troebel geworden; ze hebben geen oppervlakkig vliesje en slechts zeer weinig bezinksel. Microscopisch bevatten ze in hoofdzaak diplococcen, waaronder vele lancetvormen aanwezig zijn. Ook worden enkele diplostaven aangetroffen. Geen der organismen bezit een kapsel. Na een paar dagen is de bouillon-cultuur geheel bezonken. Ze bevat echter slechts weinig zeer fijnvlokkig bezinksel. Het bovenste gedeelte der cultuur is nu geheel helder geworden. Uit deze bouillon-cultuur worden overentingen gemaakt op verschillende voedingsbodems, welke het volgende resultaat geven.

De agar cultuur groeit vrij goed en ziet er dof, eenigszins blauwachtig wit uit. Bij opvallend licht heeft ze een vochtigen glans. Microscopisch bevat de cultuur diplococcen die nog al wisselen in grootte en vorm.

De glycerine agar-cultuur groeit niet best, met een dun blauwachtig wit doorschijnend laagje; het microscopische beeld is als dat der agar-cultuur.

De gelatine-strijkcultuur groeit uiterst langzaam en slecht; ze geeft een nauwelijks zichtbaar zeer doorschijnend dun grijsachtig

laagje, dat de gelatine niet vervloeit en microscopisch hetzelfde resultaat gaf als de agar en de glycerine agar-cultuur. De gelatine steek-cultures zijn geen van alle opgekomen. Den tweeden dag na hun overenting uit het bloed in bouillon-cultures worden deze laatste ingespoten bij een muis, een konijn en een cavia. De injectie geschiedde subcutaan. De muis stierf binnen vier-en-twintig uren aan septicaemie en in het bloed zoowel als in de uitstrijk-preparaten der gezwollen milt worden diplococcen gevonden, welke alle door een kapsel zijn omgeven. Het konijn kreeg zeer spoedig temperatuursverhooging, at niet en vermagerde sterk. Na 4 dagen waren in het bloed, dat uit een aangesneden oorvene was verkregen duidelijk diplococcen met kapsels aantoonbaar. Na acht dagen stierf het dier en de cultures welke uit het bloed en de milt verkregen werden, gaven hetzelfde resultaat als de ingespoten bouillon-cultuur. Ook de cultures uit het bloed der muis vervaardigd gaven hetzelfde resultaat. De cavia echter hield het langer uit. Gedurende de eerste vier dagen had het dier slechts lichte temperatuursverhooging, en bleef het nog goed eten. Toen steeg de temperatuur snel, het dier begon te vermageren en na ongeveer 14 dagen ging het aan septicaemie te gronde. Het bloed-onderzoek en de cultures kwamen meddat van de beide overige dieren overeen. Ter vergelijking van de door ons verkregen cultures met die van den *diplococcus pneumoniae* van F r ä n k e l werd bij een muis subcutaan het sputum ingebracht van een lijder aan croupouse pneumonie, dat microscopisch duidelijk diplococcen bevatte. Het dier ging te gronde en de uit het bloed verkregen cultures kwamen zoowel microscopisch als in groei-eigenschappen en in hun verhouding tot proefdieren geheel met de vorigen overeen.

De bacteriologische diagnose werd dus hier gesteld op den *diplococcus pneumoniae* van F r ä n k e l.

Konijn 20 en 21 welke tegelijkertijd met hetzelfde sputum werden ingespoten kregen 'savonds van denzelfden dag zeer hooge temperatuur respectievelijk 40.6 en 41. Voedsel werd in het geheel niet meer genomen. Deze sterke temperatuursverhooging hield zonder eenige belangrijke daling drie dagen aan. Den morgen van den vierden dag werden beide konijnen dood gevonden. Welk organisme hier in het spel was, is niet kunnen worden nagegaan; daar, zooals de reeds bestaande graad van ontbinding, welke bij de obductie gevonden werd, kon doen vermoeden, werden in de verschillende cultures slechts rottingsorganismen aangetroffen. Bij nader onderzoek echter bleek, dat het spoelsel afkomstig was van een patiënt, welke aangaf tweemaal in zijn leven een pneumonie te hebben doorgemaakt. In hoeverre dit op de virulentie van het spoelsel van invloed geweest is, durf ik niet beslissen, te meer daar ten opzichte van deze waarneming geen verdere controle-onderzoekingen zijn gedaan, aangezien het me

aan daarvoor geschikt materiaal ontbrak. Van belang echter is deze waarneming zeker.

Konijn 22 werd zes dagen na de injectie bij een temperatuur van 39.6 gedood. In beide longen werden vrij veel kleine, vaste hardjes aangetroffen met een luchtledige en bruinroode sneevlakte. De rechter pleuraholte bevat vrij veel licht troebel vocht, dat bij microscopisch onderzoek enkele diplococci blijkt te bevatten. Door cultuurproeven en controleproeven bij dieren bleek dit organisme ook in al zijn eigenschappen met dat van konijn 19 overeen te komen, zoodat ook hier de diagnose op den *diplococcus pneumoniae* werd gesteld. Geheel anders echter verhieldden zich de cultures, welke van de zoo steriel mogelijk gemaakte sneevlakte van de long werden verkregen.

De bouillon-cultuur groeit snel en is na tweemaal vier-en-twintig uur diffuus troebel, hier en daar ziet men in de vloeistof enkele grootere vlokjes drijven. Microscopisch bevat de cultuur staphylococci.

De agar-cultures groeien vrij goed en hebben alle een vrij dikken en scherp begrensden rand. De cultuur zelf vormt een enigszins geelachtig witten ondoorschijnenden band. Het condensatiewater ziet troebel. Microscopisch worden hier eveneens staphylococci gevonden. De glycerine-agarcultuur groeit minder goed, ze geeft een witten ondoorschijnenden band, waarvan het midden vooral een gele bijtint heeft. Ook hier vindt men microscopisch staphylococci.

Het beste van alle groeit nog de cultuur op de bloedserum, die eveneens de vorige staphylococci bevat. Ze vormt een dikken, goed begrensden, ondoorschijnenden band, welke duidelijk een oranje-kleurige tint vertoont. De bouillon-cultuur van dezen staphylococcus wordt subcutaan bij een konijn ingespoten. Het dier krijgt onder temperatuursverhoging vrij spoedig een absces in den buikwand. Na een eenvoudige incisie en ontlasting van den etter volgt binnen enkele dagen genezing. In het uit een oorvene genomen bloed worden noch microscopisch, noch door cultuurproeven micro-organismen gevonden. De uit het absces ontlaste pus geeft microscopisch veel kleine cocci, welke voor het grootste deel alle afzonderlijk liggen. In de longcoupes van konijn 22 en van konijn 19 worden in de alveolen der ontstoken plaatsen vele kleine en groote leucocyten aangetroffen. Het epitheel is gedeeltelijk afgestooten. Door middel van de fibrine-reactie van Weigert wordt op enkele plaatsen duidelijk fibrine aangetoond. Micro-organismen echter worden in de longcoupes niet gevonden. Evenmin vindt men noch macroscopisch noch microscopisch eenige aanduiding van nekrosis of beginnende abscesvorming. Het hier beschreven micro-organisme wordt ook in de literatuur reeds vermeld. Het is de staphylococcus die door F o a en R a t t o n e uit den etter van een postpneumonisch longabsces werd gekweekt,

en later door Biondi den *staphylococcus salivarius pyogenes* genoemd, door hem vrij dikwijls in de mondholte van gezonden en zieken werd gevonden. Hoewel in onze longcoupes geen aanduiding van nekrosis of abscesvorming werd gevonden bleek toch uit de subcutane injectie bij proefdieren, dat dit organisme wel degelijk pyogene eigenschappen kon ontwikkelen.

Konijn 23 werd vijf dagen na de injectie en terwijl het een temperatuur had van 39.8 gedood. Weer werden in de longen uitgebreide veranderingen gevonden. Er bestond een lobair infiltraat van bijna de geheele rechter long, daarbij bevatte de rechter pleuraholte een weinig licht troebel vocht waarin bij microscopisch onderzoek vele diplococcen, waarvan de meeste den lancetvorm vertoonden, werden aangetroffen. Ook in het afschraapsel van de sneevlakte der long werden enkele diplococcen aangetroffen, doch in veel geringer aantal. De cultures uit de long en uit het exsudaat verkregen vertoonden alle weer hetzelfde aspect en dezelfde pathologische werking zal die van den diplococcus pneumoniae. Evenals deze verloren al vrij spoedig hun virulentie en hoewel iets langer was ook de afstervingsstijd zeer kort. In de gemaakte coupes van de linker long werden microscopisch geenerlei afwijkingen gevonden. In de rechter long daarentegen vond men in de alveolen behalve afgestooten epitheelcellen vele leucocyten, terwijl ook enkele roode bloedlichaampjes werden aangetroffen; daarbij werden door Weigert's reactie fijne fibrinezels aangetoond. Diplococcen waren niet met zekerheid aantoonbaar. Zoewel microscopisch als macroscopisch vertoonde dus deze long het beeld der genuïne croupeuse pneumonie. In dit geval bestond dus een croupeuse pneumonie met den *diplococcus pneumoniae* als pathogeen organisme.

Konijn 25 werd reeds na 2×24 uren gedood. Vooral in de beide onderkwabben vond men toen enkele luchtledige bruinroode haardjes. In de linker pleuraholte bevond zich een weinig licht troebel vocht, dat echter microscopisch zoowel als cultureel vrij bleek te zijn van micro-organismen. In uitstrijkpraeparaten van de long werden echter vele diplococcen gevonden, die zoewel in cultures als microscopisch volkomen overeenkwamen met den *diplococcus pneumoniae*. Ingespotten muizen gingen binnen vier-en-twintig uren aan septicaemie te gronde en in hun bloed werden vele lancetvormige diplococcen gevonden, welke alle in kapsels waren besloten. In de coupes der gearde longen werden intra-alveolair afgestooten epitheelcellen met enkele witte bloedlichaampjes gevonden; fibrine was niet aantoonbaar. Wel vond men in sommige van die alveolen nog vrij veel diplococcen. Kapsels om deze diplococcen waren echter niet duidelijk te zien.

Konijn 26 werd vijf dagen na de injectie gedood; het had toen een

temperatuur van 39.6. Zoowel het pericardium als de beide pleuraholten bleken vrij te zijn van vocht. Geen dier sereuse vliezen was in ontstoken toestand, Uitgietschalen van gelatine gaven twee micro-organismen, welke geen van tweeën de gelatine vervloeiden. Het eene groeide goed en vertoonde ronde geelwitte ondoorschijnende schijfjes; het andere groeide in kleine puntvormige, meestal diepliggende cultures; het bleek in alle eigenschappen overeen te komen met den reeds beschreven staphylococcus, terwijl de laatste cultures afkomstig waren van den *bacillus salivarius septicus*. Microscopisch vertoonden de ontstekingshaardjes der longen weer het beeld der katarrhale pneumonie. Micro-organismen werden er niet in gevonden.

Konijn 27 werd bijna drie dagen na de injectie gedood. Zoowel uit een klein rechtszijdig pleuritisch exsudaat als van de sneevlakte der long werden cultures gemaakt, die bij onderzoek van den *diplococcus pneumoniae* afkomstig bleken te zijn. Ook in uitstrijkpraeparaten was dit organisme microscopisch aantoonbaar. In de coupes der longen vond men het eveneens terug. Alle diplococci hadden hier den lancetvorm doch slechts enkele waren van duidelijk zichtbare kapsels voorzien.

Wat dus betreft de pathologisch-anatomische veranderingen, die we in de longen aantreffen van konijnen, bij wie mondspoelsel uit een verwaarloosden mond intratracheaal werd ingespoten, zoo zagen we, dat meestal óptrad het beeld der lobulaire pneumonie in bijna alle gevallen gepaard gaande met consecutieve pleura-aandoeningen. Microscopisch vonden we in onze præparaten anatomische afwijkingen, deels zooals die voorkomen bij de katarrhale pneumonie, deels zooals men ze vindt bij de genuïne croupeuse pneumonie. Wat het bacteriëngehalte dezer præparaten betreft, zoo kon alleen zoowel in de longcoupes als in uitstrijkpraeparaten van het pleuritische exsudaat de *diplococcus pneumoniae* microscopisch worden aangetoond en dan nog slechts in die gevallen, waarin de proefdieren binnen betrekkelijk korten tijd na de injectie werden gedood. Uit de long echter verdwenen de diplococci veel sneller dan uit de pleuritische exsudaten. Dat ze echter in de exsudaten van pneumonielijders nog in vrij virulenten toestand kunnen voorkomen, blijkt voldoende uit de experimenten van *Salvioli*. Hij

spoet bij proefdieren exsudaat uit de pleura en uit het pericardium door den thoraxwand in de longen in en later vond hij de micro-organismen in de pleura-exsudaten, in de longen en in de milt terug. Bij *cavia*'s spoet hij het exsudaat door de trachea tot in de longen. Een deel der dieren stierf en nu vond hij het ontstekingsproces in den vorm van een cellenrijk fibrineus exsudaat in de alveolen der longen terug. Duidelijk waren hierin de diplococcen aantoonbaar.

Wanneer we resumeeren vonden we dus bij onze zeven bacteriologisch onderzochte gevallen als pathogene microben:

tweemaal den *bacillus salivarius septicus*;

tweemaal den *staphylococcus salivarius pyogenes*;

vijfmaal den *diplococcus pneumoniae* van Fränkel.

De *staphylococcus salivarius pyogenes* was eenmaal met den *bacillus salivarius* en eenmaal met den *diplococcus pneumoniae* gecombineerd.

Verder restte ons dan nog na te gaan in hoeverre het proces der sputum-septicæmie optrad bij de subcutane injectie van den inhoud van den intacten goed onderhouden mond. Voor dit onderzoek werd de mond waarvan het spoelsel afkomstig was, een paar uur van te voren door middel van schuier, tandpoeder en gewoon water zoo goed mogelijk mechanisch gereinigd.

V.

Reeds uit het eerste gedeelte van ons onderzoek was gebleken dat konijnen zelfs op de injectie van vrij groote hoeveelheden van dit spoelsel niet reageerden. Was het spoelsel daarentegen afkomstig van een volkomen intacten niet gereinigden mond dan antwoordden de dieren op de injectie met een snel voorbijgaande niet zeer aanzienlijke temperatuursverhoging welke noch locale noch algemeene afwijkingen achter zich liet. Thans werden successievelijk drie groe-