

## WEEKBLAD

VAN HET

NEDERLANDSCH TIJDSCHRIFT VOOR GENEESKUNDE.

## DE BETEKENIS DER ORGANISMEN BIJ MILTVUURINFECTIE.

*Derde mededeeling,*

VAN

A. P. F O K K E R.

In mijne eerste mededeeling heb ik bericht, dat BUCHNER door injectie van in vleeschextract-oplossing gekweekte hooisporen, bij muizen en konijnen miltvuur had doen ontstaan en daardoor het bewijs geleverd dat beider organismen identisch zijn. Als kenmerken van dit kunstmatig voortgebracht miltvuur geeft BUCHNER op, dat niet alleen de gewone bacillen in groote menigte werden gevonden, maar dat ook de ziekte met zekerheid van de gestorven dieren kon worden overgeënt, welk laatste feit hij door het getuigenis van Prof. BOLLINGER staaft. BUCHNER zegt: „Nach Feststellung der richtigen Impfmenge konnte schliesslich in jedem einzelnen Falle durch die veränderten Heupilze nach Ablauf einer Incubationsdauer von 4—6 Tagen der Milzbrand mit allen charakteristischen Befunden erzeugt werden.” Het spreekt van zelf dat ik, die over dit onderwerp geëxperimenteerd en, zij het dan ook op andere wijze hetzelfde feit gevonden had, niet lang gedraald heb om BUCHNER's proeven te herhalen. Ik heb dan ook in de laatste maanden een groot aantal muizen, zoo met gewone hooisporen als met de zoodanige die in vleeschextract-oplossing waren geprepareerd, ingespoten. De meeste dieren bleven gezond; dikwijls ontstonden abscessen waaraan zij wel eens stierven, in welk geval van de ingespoten hooisporen sommigen vrij, soms tot staafjes uitgegroeid, de meesten in lymphcellen ingesloten, werden teruggevonden, terwijl in de organen en het bloed van Pilzen niets was waar te nemen. Evenwel gelukte het mij toch eenige dieren na dergelijke insputingen met miltvuursymptomen te zien sterven, ofschoon toch in zoover mijne resultaten van die van BUCHNER verschilden dat òf het contagium òf de bacillen ontbraken. Dit zal uit de volgende korte beschrijving mijner positieve proeven blijken.

I. Hooisporen uit gekookt zuur hooiaftreksel, twee weken oud, ingespoten

twee muizen, beide na 48 uren dood. De milt van de eene was klein en bevatte geen staafjes, die van de andere groot en vol bacillen. Van deze laatste werd eene versche muis geïnoculeerd, die na 4 dagen sterft aan anthrax zonder bacillen.

II. Hooisporen uit zuur hooi, 2 weken oud. Van zes muizen blijven vier gezond; de vijfde sterft na 24 uren, geen absces, milt vergroot en donker gekleurd doch bevatte geen bacillen, evenmin lever en bloed; het laatste is echter zeer rijk aan de korrels die ik in mijne tweede mededeeling beschreef 1) en waaromtrent ik toen twijfelde of het cocci dan wel vrij geworden kernen van witte bloedcellen waren. Het is me thans gebleken, dat het wel degelijk cocci zijn en wel omdat het me gelukt is die cocci in bloedserum te cultiveeren en herhaaldelijk in ander serum over te planten. Dit neemt echter niet weg dat ze daarin van andere cocci, ook van die in sommige gevallen de functiën van den *Bacillus Anthrax* overnemen (zie pag. 53 van dit *Tijdschrift*), zich onderscheiden, dat ze moeilijk gekleurd kunnen worden en zich niet aan het objectglas vasthechten, zoodat ze meest bij het afspoelen van het praeparaat verloren gaan.

De zesde van deze muizen stierf na 48 uren, milt groot, vol bacillen, even als de lever, het bloed rijk aan cocci.

Van deze muis werden twee andere ingeënt, die na 7 en 9 dagen stierven, de laatste zonder bacillen, terwijl in de organen van de eerste eenige weinigen aanwezig waren. Twee van deze laatste ingeënte muizen stierven na 2 en 5 dagen zonder bacillen.

III. Bij een konijn, drie dagen achtereen op den rug 1 c.c. sporenbezinksel ingespoten. Het dier sterft 7 dagen na de 1ste injectie. Op de injectieplaats werden abscessen gevonden met dikke pus gevuld, waarin geen bacillen doch veel fijne korrels<sup>2</sup> werden gevonden.

In het bloed van dit konijn waren nog al wat cocci, in de weinig vergroote milt, de lever en de buikspieren eenige weinige bacillen aanwezig.

Van dit konijn werden twee muizen ingeënt die beide gezond bleven.

IV. Versche hooisporen, vier muizen twee dagen achtereen  $\frac{1}{2}$  c.c. ingespoten, twee bleven gezond. Een sterft na 48 uren, milt groot, bevat eenige bacillen, evenals de lever, doch het bloed slechts cocci. De vierde muis stierf na 4 dagen, milt groot en zwart doch geen bacillen, evenmin in lever, bloed of spieren.

V. Versche hooisporen, van twee muizen sterft een na 7 dagen, milt klein, geen bacillen in lever en bloed cocci; twee hiervan geïnoculeerde muizen blijven gezond.

VI. Oude hooisporen, 6 maanden onder slappen alcohol bewaard en volkomen geconserveerd, de alcohol bij 30° verdampt en vier muizen ingespoten, drie blijven gezond, eene sterft na 24 uren, milt klein, milt, lever en bloed vol bacillen, die zeer dun waren doch overigens op Anthraxbacillen gelijken.

Twee hiervan geïnoculeerde muizen bleven gezond.

VII. Van dezelfde sporen werden twee muizen ingeënt, doch zonder dat de alcohol verdampt was, zoodat beide muizen dronken waren. De een stierf na een paar uren, de andere kwam zijn roes te boven, maakte den volgenden dag eene fausse couche en stierf den 3den dag, milt vergroot en vol Anthraxbacillen,

1) Dit *Tijdschrift*, 1881, pag. 50.

in bloed en lever bacillen en cocci. Van de milt werden twee andere muizen geënt, die na 2 en 4 dagen stierven, bij welke geen bacillen, wel cocci werden gevonden.

VIII. Sporen uit zuur hooiaftreksel, in vleesextract-oplossing van 1 pCt overgebracht, na eenige dagen vormt zich een sediment uit groote glanzende sporen bestaande. Hiermede werden twee muizen ingespoten.

De eene sterft na 24 uren in mijn bijzijn onder krampen, een doodsvorm, door KOCH voor eigenaardig, voor echten miltbrand gehouden. Ik vond een absces, waarin vrije sporen en bacillen, de milt sterk gezwollen, het bloed wankeurig, doch in geen der organen bacillen. De andere muis is de eerste twee dagen zeer ziek, doch herstelt en sterft na elf dagen: geen absces, de milt is vrij groot en bevat eenige bacillen, de lever ook, doch tevens cocci, het bloed is helderrood van kleur en bevat cocci.

Van deze muis werden vier andere ingeënt, die allen gezond blijven.

---

De door mij verkregen resultaten wijken sterk af van die van BUCHNER; misschien lag dit aan de soort muizen. BUCHNER toch gebruikte witte muizen, terwijl ik slechts gewone huismuizen ter mijner beschikking had; misschien aan de verschillende hooibacillen. Dit doet echter weinig ter zake en komt het mij voor, dat, waar BUCHNER's proeven meer bewijzend zijn voor zijn concreet onderwerp, de mijne eene hoogere waarde bezitten voor de bacteriënkwestie in abstracto. Immers vervallen mijne resultaten in twee categoriën, n.l.:

1°. Gevallen waarin een contagieuse ziekte werd veroorzaakt, die echter hoogstens de eerste maal door bacillen, bij volgende inoculaties door cocci werd gereproduceerd. Hiertoe de proeven I, II en VII.

2°. Gevallen waarin de dieren stierven en in de organen en het bloed eene grootere of kleinere hoeveelheid Bacilli werd aangetroffen, terwijl een eigentlijk contagium niet aanwezig scheen te zijn, immers inenting op andere dieren zonder gevolg bleven. Hiertoe vooral de proeven VI en VIII.

Wat de eerste categorie van gevallen betreft, kan ik mijne vrees niet verzwijgen, dat men hier weêr van septicaemie zal spreken. De voorstanders der specifieke bacteriën hebben nu eenmaal de gewoonte om overal waar bij dieren die met miltvuurvirus waren geënt, de traditioneele bacillen ontbraken of slechts cocci werden gevonden, te spreken van septicaemie. Dit was o. a. het geval toen P. BERT en voor hem JAILLARD en LEPLAT meêdeelden dat ze met miltvuurbloed eene ziekte hadden ingeënt, waarbij geen bacillen werden aangetroffen en eveneens toen TOUSSAINT in 1878 berichtte dat hij na dergelijke inenting micrococcen gevonden had.

Ik heb er reeds vroeger op gewezen, dat de infectieziekte in kwestie reeds daarom geen septicaemie kan zijn, omdat zij de kenmerken mist, die KOCH voor septicaemie der muizen heeft aangegeven, n.l. wel degelijk op konijnen kan worden overgebracht, terwijl de door KOCH beschreven en afgebeelde enorm dunne bacillen ontbreken.

Ik voeg daar thans bij, dat het me voorkomt dat in mijne nu medegedeelde gevallen wel geen sprake van septicaemie kan zijn, vooral daar in de meeste gevallen bij den dood van het dier geen absces gevonden werd en men toch niet

kan aannemen dat een septisch contagium in een hooiaftreksel aanwezig zou zijn.

Het belangrijkste zijn echter de tweede categorie mijner waarnemingen, die zich aansluiten aan de gevallen van gezonde muizen die ik vroeger heb medegedeeld 1) waar een groote hoeveelheid bacillen in de organen aanwezig was en toch geen contagium kon worden overgeënt.

Men zou misschien op grond van het voorkomen van bacillen bij volkomen gezonde muizen geneigd zijn om deze organismen als toevallige en onschuldige vormsels te beschouwen, te meer omdat onlangs in het *Centralblatt* de aanwezigheid van spirillen in het bloed van gezonde veldmuizen is medegedeeld. Toch is dit slechts in zooverre juist dat ze in groote hoeveelheid kunnen aanwezig zijn, zonder voor het lichaam vergiftige stoffen te vormen, maar dat men bij eene infectieziekte mag aannemen dat zij het zijn die het virus hebben gereproduceerd; alleen bewijst het niets voor de aan- of afwezigheid van een contagium of men ze nadat het dier gestorven is *vindt* of niet. In verband met de bacteriënkwestie geloof ik nu dat de tweede categorie mijner waarnemingen op de volgende wijs kan worden verklaard.

Het eigentlijke miltvuurcontagium is een chemisch gif, dat door Pilzen wordt gereproduceerd. Evenals alle vergiften komt de werking slechts tot stand als het in zekere dose aanwezig is. Toch kunnen hier twee gevallen worden onderscheiden. Is het met Pilzen gecombineerd, dan is de minimale hoeveelheid noodig tot Anpassung van één Pilz, voldoende om giftig te werken, omdat die eene Pilz de vader kan worden van eene gansche kolonie, waarbij de hoeveelheid gif proportioneel toeneemt. Is het niet met Pilzen gecombineerd, dan kan eene veel grootere hoeveelheid dan tot Anpassung van éénen Pilz zou noodig zijn, nog absoluut te klein zijn om giftig te werken, omdat in dat geval zijne hoeveelheid niet voor vermeerdering vatbaar is. Nu behoort, zooals ik eerlang nog nader hoop aan te toonen, het chemische miltvuurgif tot de normale lichaamsbestanddeelen, doch is zijne hoeveelheid bij een gezond dier te gering om intoxicatie te veroorzaken.

Men zal mij misschien tegenwerpen dat daar ook Pilzen normale bestanddeelen van het lichaam zijn, in dat geval miltvuur een physiologische toestand zou moeten zijn; immers zouden dan die physiologische Pilzen dat miltvuurgif moeten reproduceeren.

Toch gaat die tegenwerping niet op, want daartoe zou noodig zijn dat die twee bestanddeelen van het miltvuurcontagium zich combineerden, daartoe zouden de Pilzen met die chemische stof moeten zijn aangepast. En dit is in physiologischen toestand het geval niet, beide bestanddeelen van het miltvuurgif zijn ieder voor zich in het lichaam voorhanden, maar de combinatie tot aangepaste Pilzen ontbreekt. Vandaar dat de hoeveelheid van het chemische miltvuurgif, te klein om ziek te maken, ook niet voor vermeerdering vatbaar is. Toch is op grond van deze redeneering het spontaan, autochtoon ontstaan van miltvuur mogelijk, al ontbreken in de meeste gevallen daarvoor de noodige voorwaarden. De voorwaarden, waaronder de combinatie van die twee physiologische lichaamsbestanddeelen plaats vindt, kunnen van tweeërlei aard zijn: de hoeveelheid van het chemisch miltvuurgif kan door ons onbekende oorzaken,

---

1) Zie dit *Tijdschrift*. 1880 pag. 714.

hetzij in het geheele lichaam, hetzij in een enkele orgaan toenemen, of zij kan worden tot stand gebracht door vermeerdering van het aantal Pilzen. Dit laatste geloof ik op de volgende wijs te kunnen aantonen. Stel dat zich in 100 c.c. vloeistof bevinden vijf Pilzen, ieder 1 c.c. groot. Stel dat die Pilzen zekere werking kunnen uitoefenen, virulent worden als zij eene chemische stof  $\chi$  opnemen, doch om krachtig werkzaam te zijn ieder 1 mgr.  $\chi$  moeten opnemen. Daar zij geen attractievermogen voor die stof bezitten kunnen ze daarvan niet meer opnemen dan hun rechtmatig aandeel, dat is ieder  $\frac{1}{100}$  deel van de totale in de vloeistof aanwezige hoeveelheid.

Breng ik nu in die vloeistof 10 mgr.  $\chi$ , dan zal iedere Pilz daarvan opnemen  $\frac{1}{10}$  mgr., dat is slechts het tiende deel van de hoeveelheid, noodig voor gewone virulentie. Al de in die vloeistof aanwezige Pilzen te zamen zullen slechts bezitten eene virulentie van  $\frac{5}{10}$ , dus de helft van de hoeveelheid die noodig is tot het tot stand komen der werking.

Brengen we dit over op een gezond dier, dan begrijpen we hoe het mogelijk is waar Pilzen en  $\chi$  aanwezig zijn, dat die Pilzen zelfs een minimum  $\chi$  hebben opgenomen, maar dat toch geen ziekte ontstaat omdat de aanwezige Pilzen met hun allen nog te zwak zijn om werking uit te oefenen. Breng ik echter in die vloeistof nog vijf andere Pilzen, dan zullen deze eveneens opnemen  $\frac{1}{10}$  mgr.  $\chi$  en met de vijf reeds aanwezige Pilzen een gezamenlijke virulentie bezitten van  $\frac{10}{10}$  of 1.

Met hun tien zullen zij dus dezelfde werking kunnen teweeg brengen die een Pilz met volle virulentie uitoefenen kan.

In dit geval, dat met mijne bovengenoemde proeven overeenkomt, heb ik dus door vermeerdering van het aantal Pilzen virulentie verkregen, doch spreekt het van zelf dat die werking slechts tot stand komt als alle in de vloeistof aanwezige Pilzen meewerken, doch niet als slechts een deel van die vloeistof wordt gebruikt, zoodat het begrijpelijk is waarom, terwijl mijne muizen aan miltvuurziekte stierven, toch de inoculatie op andere dieren zonder gevolg bleef. Inoculeert men één Pilz met volle virulentie, dan zal deze infecteeren, doch niet als men een of twee Pilzen met  $\frac{1}{10}$  virulentie overent.

Men zal mij misschien tegenwerpen, dat dit slechts eene kwestie van tijd zijn kan en dat een Pilz met  $\frac{1}{10}$  virulentie slechts zóóveel langzamer zal kunnen werken, als noodig is om zich 10maal te vermeerderen. Men vergete echter niet dat in het dierlijk lichaam Pilzvernietigende momenten aanwezig zijn, die, als ze in beide gevallen even sterk werken, misschien infectie door eenen Pilz met volle virulentie niet kunnen voorkomen, doch wel infectie door Pilzen met  $\frac{1}{10}$  virulentie die, om eene gelijke werking voort te brengen, zich oneindig sterker zouden moeten vermeerderen.

Het verschil tusschen BUCHNER's en mijne resultaten is dus slechts een kwantiteitsverschil. Men zou BUCHNER's resultaten kunnen verklaren door aan te nemen, dat hij niet vijf, maar vijftig of meer Pilzen in de vloeistof bracht, zoodat reeds  $\frac{1}{5}$  deel der vloeistof voldoende zou zijn om met resultaat te inoculeren. Waarschijnlijker is het echter dat hier rasverschillen, hetzij een grootere vatbaarheid voor het contagium, hetzij een andere verhouding tusschen aanwezige en toxische hoeveelheid  $\chi$ , hetzij ook minder energische Pilzvernietigende momenten aanwezig waren.

Overigens staat het feit, dat een Pilz om eene bepaalde werking uit te oefenen aan een minimum zijner Anpassungsstof niet genoeg heeft maar daarvan eene bepaalde hoeveelheid moet hebben opgenomen, niet alleen. We kennen toch eene andere bacteriewerking, de azijngisting, waar hetzelfde verschijnsel wordt waargenomen. De stof, die hier de bacterie aanpast, is het azijnzuur zelf, zoodat reeds BERZELIUS het azijnzuur voor het ferment der azijngisting hield en MAYER zich hieromtrent op de volgende wijs uitlaat 1):

„Eine Eigenthümlichkeit der Essigbacteriën ist es noch dass sie erst freudig zu arbeiten beginnen wenn die Flüssigkeit schon einen oder zwei Prozente Essigsäure enthält so dass ein Sauerungsprocess in ein gewisses Stadium gelangt rasscher und rasscher fortschreitet.” Men is dan ook bij de azijnbereiding gewoon te beginnen met eene vrij groote hoeveelheid azijn toe te voegen.

De eenige tegenwerping die men zou kunnen maken tegen deze vergelijking is, dat, wat ik gaarne toegeef, het niet *bewezen* is dat het azijnzuur de Anpassungsstof is van de azijnbacteriën, toch komt het me voor dat in zoover het beeld goed gekozen is, dat evenals de azijnbacterie azijnzuur de miltvuurbacterie miltvuurgif produceert, waarbij des noods de vraag buiten behandeling kan blijven of Anpassungsstof en product in beide gevallen synoniem zijn.

Ten slotte maak ik van deze gelegenheid gebruik om te wijzen op een der laatste mededeelingen van PASTEUR. Deze onvermoeide onderzoeker heeft altijd aan specifieke bacteriën geloofd. Thans laat hij zich echter over „l'atténuation des virus et leur retour à la virulence” op eene wijze uit, die mij doet vermoeden dat zijn geloof aan de specifieke bacteriën aan het wankelen is. Hij zegt: „qu'est ce qu'un organisme microscopique inoffensif pour l'homme ou pour tel animal déterminé? C'est un être qui ne peut se développer dans notre corps ou dans le corps de cet animal; mais rien ne prouve que si cet être microscopique venait à pénétrer dans une autre des mille et mille espèces de la création il ne pourrait l'envahir et la rendre malade. Sa virulence, renforcée alors par des passages successifs dans les représentants de cette espèce pourrait devenir en état d'atteindre tel ou tel animal de grande taille, l'homme ou certains animaux domestiques. Par cette méthode on peut créer des virulences et des contagions 2).”

PASTEUR is zich deze wijziging zijner denkwijze nog niet bewust, hij gelooft nog altijd met de specifieke „microbes du charbon” of „du cholera des poules” te doen te hebben, die „par le contact de l'air ont perdu leur virulence.” Toch is het verschil tusschen die denkwijze, waarbij men consequent alle andere dan miltvuur- en kippencholera-organismen voor „des microbes qui ont perdu leur virulence” zou kunnen houden en de leer van NÄGELI lang zoo groot niet als een overtuigd voorstander der specifieke bacteriën zich dit voorstellen moet, te meer nog omdat PASTEUR in strijd met die leer van „des maladies virulentes” spreekt, „qui apparaissent spontanément en toutes contrées,” eene meening die ik ook in strijd achtte met de leer der specifieke bacteriën, waarbij hoogstens een overgang van de eene soort in de andere naar Darwinistische begrippen aangenomen kan worden.

Groningen, 6 April 1881.

1) *Gährungs Chemie*, 1879, p.

2) *Comptes Rendus*, 28 Fevr. 1881, p. 434.