

Agglutinatieproeven met gedroogde bacteriën

DOOR

R. RESSELER.

2^{de} Mededeeling.

In een vorige bijdrage (1), hebben wij de aandacht gevestigd op de mogelijkheid gedroogde bacteriën aan te wenden als agglutinogeen in de reactie van Gruber-Widal. Wij hebben tevens de voordeelen opgesomd, welke deze techniek biedt.

Wij hebben ons destijds beperkt tot de agglutinatieproeven met bacteriën van het geslacht *Shigella*. De vertegenwoordigers dezer groep bezitten slechts één antigeen, het endoplasma antigeen O. Zij zijn gemakkelijker te onderzoeken dan de bacteriën van het geslacht *Eberthella* of *Salmonella*, welke meerdere antigenen bevatten.

In deze bijdrage willen wij de uitslagen mededeelen der agglutinatieproeven, met enkele vertegenwoordigers der typhus-paratyphus-enteritis groep.

Bij het onderzoek der *Shigella*-bacteriën, was het mogelijk al de vertegenwoordigers van dit geslacht te beproeven. Voor de typhus-paratyphus-enteritis groep, is het ons, gezien het groot getal bacteriën, onmogelijk al de stammen te onderzoeken. Wij beperken ons tot de voornaamsten in elke groep. Wij zijn derhalve de meening toegedaan, dat de bekomen uitslagen mogen veralgemeend worden voor gansch de typhus-paratyphus-enteritis groep. •

Buiten de vertegenwoordigers dezer groep, hebben wij nog twee stammen gelijktijdig onderzocht. Het zijn een stam *Abor-*

tus bang en een stam *Proteus* OX 19. Beiden worden in de Gruber-Widal reactie opgenomen.

De bacteriën der typhus-paratyphus-enteritis groep bezitten verscheidene antigenen. In deze proeven werden slechts oudere laboratoria stammen gebruikt. Daarom hebben wij geen aandacht geschonken aan de Vi antigeen (2), doch ons beperkt tot het onderzoek op de endoplasma antigeen O en de specifieke en niet specifieke ectoplasma antigenen H.

De R en M antigenen komen hier niet in aanmerking.

Het bestaan der verscheidene antigenen heeft ons genoodzaakt, alvorens de vergelijkende agglutinatiereacties te doen, enkele voorbereidende onderzoeken uit te voeren.

Een der grootste voordeelen, welke de agglutinatiereactie met gedroogde bacteriën biedt, is het uitschakelen van het gevaar voor besmetting, door het gebruik van gedooide bacteriën.

Voor de bacteriën van het geslacht *Shigella*, ondervonden wij, bij het doden der bacillen, geen moeilijkheden. Deze bevatten slechts het O antigeen, dat thermostabiël is, en bestand tegen de werking van alcohol en andere scheikundige factoren. Voor de bacteriën der typhus-paratyphus-enteritis groep; waarin we, naast de O antigenen, ook de H antigenen aantreffen, waren wij verplicht dit vraagstuk eerst te onderzoeken.

Eerste proef:

Een eerste reeks proeven had voor doel, de doodende kracht van de warmte, en van enkele scheikundige stoffen, op de bacteriën der typhus-paratyphus-enteritis groep na te gaan.

Wij hebben eerst onderzocht na hoeveel tijd de bacteriën der typhus-paratyphus-enteritis groep, welke wij verder in de agglutatieproeven zullen aanwenden, met voldoende zekerheid, gedood worden bij verwarming op 56°. De suspensies der bacteriën werden in gesloten glazen buisjes in een waterbad op 56° gedompeld. Alle vijf minuten werd nagegaan of hun kiemende kracht, al dan niet, vernietigd was.

Daartoe werd een druppel der suspensie uitgezaaid op versch peptonewater en gedurende, drie maal vier en twintig uren, op 37° bebroeid.

De stammen welke wij hiervoor gebruikt hebben zijn: *Salmonella paratyphi*, *Salmonella schottmuelleri*, *Salmonella typhimurium* (Breslau), *Salmonella choleraesuis* (Kunzendorf), *Salmonella enteritidis* (Jena), *Eberthella typhosa* O H, *Eberthella typhosa* (Bruynoghe) O; *Eberthella typhosa* (Bruynoghe) H.

Verder de stammen *Abortus bang* en *Proteus vulgaris* O X 19.

Tabel I geeft de uitslagen dezer proeven.

Hieruit blijkt dat, al de gebruikte stammen, na verwarming gedurende 30 minuten, gedood werden. In de volgende proeven hebben wij de bacteriën, gedurende 1 uur, verwarmd om zeker te zijn van de vernietiging hunner kiemende kracht.

De doodende kracht van scheikundige stoffen is afhankelijk van vijf factoren (3):

- 1) Het verschil in de specifieke weerstandskracht der bacteriën;
- 2) Het getal der bacteriën die moeten gedood worden;
- 3) De tijd van inwerking der scheikundige stoffen op de bacteriën;
- 4) De temperatuur bij dewelke de proef uitgevoerd wordt;
- 5) De eindverdunding van de doodende stof in de suspensie der bacteriën.

Twee dezer factoren, 2 en 4, werden in onze proeven uitgeschakeld.

De temperatuur bij de welke de proeven uitgevoerd werden, omdat steeds alle bewerkingen gedaan werden bij laboratorium temperatuur.

Het getal der bacteriën, omdat dit getal bij elk der proeven hetzelfde was. Dit bedroeg ongeveer 5 milliard bacteriën per kubiek centimeter.

Dit getal benadert het aantal bacteriën, welke in de suspensie aanwezig zijn, op het oogenblik dat deze, op -75° , bevroren wordt om verder gedroogd te worden.

Als doodende stoffen hebben wij beproefd: formaldehyde, ethyl alcohol, carbolzuur en kwikbichloride.

Wij hebben beroep gedaan op drie vluchtige stoffen: ethyl alcohol, formaldehyde en carbolzuur, omdat deze, naast hun kiemdoodende kracht, vernietigend kunnen optreden tegenover O en H antigenen. Vooral echter omdat zij, door hunnen hoogen verzadigingsdruk, bij het drogen gansch verwijderd worden.

De verzadigingsdruk (4) van ethyl alcohol is 12,7 mm. Hg bij 0°; deze van formaldehyde is 10 mm. Hg. bij —91°; deze van carbolzuur is 1 mm. Hg. bij 48,80°.

Gedurende het drogen bereiken wij een luchtledige van 0,001 mm. Hg., bij een maximum temperatuur van 18°.

Wij hebben dus de verzekering dat deze stoffen gansch verwijderd worden gedurende het drogen. Na beëindiging zullen er slechts bacteriën overblijven, vermengd met natrium chloride, van het physiologisch water.

Daarnaast hebben wij één vaste stof, kwikbichloride, aangewend.

Deze is niet alleen sterk kiemdoodend, maar, in tegenstelling met de vorige stoffen, gedurende het droogproces niet te verwijderen.

Haar verzadigings-temperatuur, 60 graden bij een druk van 0.003 mm. Hg. is hooger dan deze welke practisch, gedurende het drogen, bereikt wordt.

Wij hebben nagegaan welke minimum concentratie, van de vernoemde stoffen, in de omstandigheden waarin onze proeven uitgevoerd werden, als kiemdoodend kunnen aangewend worden.

Tabel II geeft de uitslagen van dit onderzoek.

Tweede proef:

Verder hebben wij onderzocht in hoeverre het dooden der bacteriën door verwarming, of door scheikundige stoffen, de antigenen aantast, of storend kan inwerken op de agglutinatie-proef.

Hiervoor hebben wij gebruik gemaakt van een Eberthella typhosa stam met O H antigenen, een Eberthella typhosa stam met overwegend H en een Eberthella typhosa met O antigenen.

Als agglutinine hebben wij serum gebruikt van een konijn. Het dier had vooraf drie intra-peritoneale inspuitingen gehad van een 24 uur oude kweek, op vasten voedigsbodem, in suspensie in physiologische zoutoplossing, van bovenvermelde *Eberthella typhosa* met O H antigenen.

In deze proef, hebben wij de agglutinatatie vergeleken, van versche bacteriën met bacillen gedood :

- 1) Door verwarming gedurende 1 uur op 56° ;
- 2) Door verwarming gedurende 2 uur op 100° ;
- 3) Door inwerking van ethylalcohol 40 % gedurende 10 minuten;
- 4) Door inwerking van formaldehyde aan 0.8 % gedurende 25 minuten;
- 5) Door inwerking van carbolzuur aan 0.8 % gedurende 15 minuten;
- 6) Door inwerking van kwikbichloride aan 0.05 %₁₀₀ gedurende 15 minuten.

De agglutinatiereacties werden macroscopisch uitgevoerd volgens het schema van Bruynoghe (5).

De agglutinatatie werd driemaal afgelezen (2) :

1) Na 30 minuten bij 37° ; dan lezen wij de grofvlokkige, snel ontstane agglutinatatie af. Deze wordt door de zweepdraad-agglutinatatie H verwekt en wordt dan nog niet door de O agglutinatatie verstoord;

2) Na 2 uren bij 37° ; de H agglutinatatie heeft dan haar eindtiter bereikt. Deze wordt definitief afgelezen. De O agglutinatatie is dan ingetreden;

3) Na ongeveer 20 uren bij kamertemperatuur; de korrelige langzaam ontstane O agglutinatatie kan definitief afgelezen worden.

De uitslagen dezer proef zijn in tabel III samengebracht.

De uitslagen toonen ons, duidelijk, den invloed van het verwarmen en het inwerken van alcohol en formol op de H en O antigenen, zooals trouwens reeds bekend was.

Wat het carbolzuur betreft, dit schijnt de antigenen aan te tasten, terwijl de kwikbichloride de antigeen niet merkelyk schaadt en bijna geen invloed uitoefent op de agglutinatieproef.

Derde proef:

Verder hebben wij nagegaan, in hoeverre deze stoffen de agglutinatie beïnvloeden, na 20 uren inwerken bij 37°, indien zij in dezelfde of in sterkere concentraties aangewend worden.

Wij hebben de vorige proef herhaald met de Eberthella typhosa stam O H. In plaats van een minimum hoeveelheid, der doodende stof te gebruiken, hebben wij het procent dezer stoffen opgevoerd tot de volgende grootte:

De ethylalcohol zooals voor de bereiding der O antigeen volgens Christensen (6) door een 48 uur oude kweek op agarplaat in 1 cc. zoutoplossing op te nemen; hieraan 1 cm³ ethylalcohol aan 96° toe te voegen en 20 uren in de broedstoof te plaatsen op 37°;

De Formol werd gebruikt aan 1 %, hierin werden de bacteriën in suspensie opgenomen en twintig uren op 37° verwarmd (7);

Een suspensie der bacteriën in Carbolzuur aan 1 %, daarna 20 uren verwarmd op 37°;

Een suspensie der bacteriën in een oplossing van kwikbichloride aan 0.1 ‰, insgelijks verwarmd op 37° gedurende 20 uren.

De uitslagen dezer proef zijn samengebracht in tabel IV.

Zij bevestigen de resultaten der vorige proef. Zij doen scherper de verschillen uitkomen tusschen de twee typen van O en H agglutinaties.

Vierde proef:

In de volgende proeven, hebben wij den invloed willen nagaan, van de aanwezigheid en de doodende werking der factoren, in vorige proeven onderzocht, bij het drogen der bacteriën.

Bij het drogen der bacteriën kunnen we twee afzonderlijke bewerkingen onderscheiden:

- 1) het bevriezen van de suspensie der bacteriën bij —75°;
- 2) het drogen der bacteriën.

Daar beide bewerkingen afzonderlijk de antigeen kunnen beïnvloeden, hebben wij eerst nagegaan, of het bevrozen der bacteriën, storend kan inwerken op de agglutinatiereactie. Hiervoor hebben wij de *Eberthella Typhosa* stam O H gebruikt.

Wij hebben verse bacteriën, bacteriën verwarmd op 56° gedurende 1 uur, verwarmd op 100° gedurende 2 uren, bacteriën na inwerking van ethylalcohol, formaldehyde, carbolzuur en kwikbichloride, vergeleken met dezelfde bacteriën na bevrozen gedurende 1 uur op —75°.

Tabel V geeft de uitslagen.

De levende bacteriën, deze verwarmd op 56° en deze na inwerking van alcohol, formaldehyde en kwikbichloride, schijnen geen noemenswaardige veranderingen te ondergaan.

Bij de bacteriën verwarmd op 100° is een lichte achteruitgang waar te nemen; terwijl de agglutineerende eigenschappen der bacteriën, bevroren na inwerking van carbolzuur aangetast werden.

Vervolgens hebben wij den invloed der factoren van vorige proef willen nagaan, na inschakelen van het droogproces.

Wij hebben gelijktijdig, en op de zelfde manier, de agglutinatieproeven uitgevoerd met verse levende bacteriën; bacteriën verwarmd op 56° en 100°; bacteriën bewerkt met ethylalcohol, formaldehyde, carbolzuur en kwikbichloride eenerzijds, en met bacteriën die eerst gedroogd en daarna op dezelfde wijze behandeld werden, anderzijds.

Hiervoor hebben wij gebruik gemaakt van de stammen: *Eberthella Typhosa* O H, *Eberthella Typhosa* H en *Eberthella Typhosa* O.

Wij vinden de uitslagen in tabel VI.

Voortgaande hebben wij willen ondervinden of het bewerken der bacteriën met kiemdoodende stoffen, of het doden door de warmte, de agglutinatie beïnvloedt, wanneer dit vóór of na het droogproces geschied.

In tabel VII geven wij de uitslagen der agglutinatieproeven met bacteriën welke eerst gedood werden door de warmte en bij middel van scheikundige stoffen, en daarna gedroogd; en met bacteriën welke eerst gedroogd, en daarna gedood werden door warmte en scheikundige stoffen.

Uit deze twee tabellen blijkt, dat de H antigeen door het drogen beschadigd wordt.

Zij wordt niet gansch vernietigd, doch ondergaat een gevoelligen achteruitgang. De gedroogde bacteriën geven slechts even positieve uitslagen na 20 uren als de verse bacteriën na 2 uren.

Wat het dooden der bacteriën betreft, vóór of na het drogen, dit blijkt dezelfde uitslagen te geven.

Het drogen der bacteriën, na bewerking met formaldehyde, biedt zekere moeilijkheden. Het geeft inderdaad aanleiding tot samenklonteren.

Na het drogen is het moeilijk de bacteriën terug in suspensie te krijgen. Er blijven er steeds samengeklonterd. Deze samen-geklonterde bacteriën moeten wij eerst verwijderen alvorens de suspensie te gebruiken. Zij treden storend bij de agglutinatieproeven op.

Men zal dus vermijden de zuivere H antigenen te bereiden met formaldehyde voor het drogen, en slechts na het drogen deze bereiding uitvoeren.

Vijfde proef:

De afkoelingstemperatuur bij het drogen, zou insgelijks eenigen invloed kunnen uitoefenen op de agglutinatiereactie. Ten einde hierin zekerheid te hebben, vergeleken wij de agglutinatie van bacteriën, gedroogd bij een afkoelingstemperatuur van -5° en van $+75^{\circ}$.

Hiervoor hebben wij de Eberthella typhosa stam O H gebruikt; versch na verwarming op 56° en op 100° , na inwerking van ethylalcohol, formaldehyde, carbolzuur en kwikbichloride.

De uitslagen zijn in tabel VIII samengebracht.

Uit deze proef blijkt dat er geen noemenswaardige afwijkingen bestaan bij de uitslagen na afkoeling op -5° of $+75^{\circ}$.

Dit is van eenig belang, daar het den duur van het droogproces, kan beïnvloeden.

Zesde proef:

In een laatste voorbereidende proef hebben wij den invloed van het bewaren der gedroogde bacteriën willen nagaan op de agglutinatiereactie.

Wij hebben vergeleken, bacteriën onmiddellijk na het drogen en bacteriën welke gedurende 1 jaar in gedroogden toestand bewaard werden.

Tabel IX toont ons de uitslagen.

Hieruit blijkt dat er geen noemenswaardige verschillen bestaan tusschen de versch gedroogde bacteriën en deze welke reeds 1 jaar bewaard werden in denzelfden toestand.

Samenvatting. — De uitslagen der voorbereidende onderzoeken, welke voor de verdere proeven van nut zijn, kunnen wij als volgt samenvatten.

Het dooden der bacteriën geschiedt het best door ze te verwarmen op 56° gedurende 1 uur. Deze techniek biedt de meeste waarborgen.

Zij is onafhankelijk van het aantal bacteriën in de suspensie aanwezig.

Zij beïnvloedt het minst de agglutinatiereactie en laat toe de O en H antigenen zooveel mogelijk te bewaren.

Wij zullen deze techniek in de volgende onderzoeken toepassen.

De bacteriën zullen eerst gedood en dan gedroogd worden.

Het drogen kan, bij lage temperatuur, uitgevoerd worden zonder de agglutinatieproef te beïnvloeden, en met den grootst mogelijken waarborg voor het bewaren der antigenen.

Door het drogen worden de O antigenen niet beïnvloed. Wij hebben zelfs, bij menige reactie, eene verhooging der agglutinerende kracht waargenomen. Over 't algemeen geven de gedroogde bacteriën even sterke, en zuivere O agglutinaties als de versche bacteriën.

Voor het maken van zuivere O antigenen, gebruiken wij slechts het verwarmen, gedurende 2 uren op 100°, vóór dat de bacteriën gedroogd worden.

Wat de H antigenen betreft, deze worden door het drogen beïnvloed.

Zij worden echter niet gansch vernietigd. Wij vonden slechts eene vertraging in de agglutinatie. De eindtiter der H agglutinatíe, welke met versche bacteriën, na 2 uren bereikt wordt,

kan met gedroogde bacteriën, slechts na 20 uren bekomen worden.

Voor het bereiden van zuivere H antigenen dient de formaldehyde toegevoegd na het drogen en vóór het gebruik.

Het drogen, in aanwezigheid van formol, geeft aanleiding tot samenklonteren der bacteriën.

Deze gedeeltelijke vernietiging of vertraging der H antigenen kan in zekere gevallen storend werken,

In hoeverre, de praktische toepassing, door deze kan beïnvloed worden, zullen wij in een volgende mededeeling aantonen.

*Instituut voor Tropische Geneeskunde
Prins Leopold, te Antwerpen.*

Résumé. — Par le séchage, les antigènes O des bacilles du groupe Typhique-Paratyphique, ne sont pas attaqués. Les antigènes H sont en partie détruits ou retardés. Ceci peut avoir de graves conséquences dans certains cas particuliers. La question de savoir dans quelles proportions ces faits pourraient influencer l'agglutination des sérums des malades, fera l'objet d'une communication ultérieure.

LITTERATUUR.

1. — Ressler, R. : *Ann. Belg. Ver. Trop. Gen.*, 1942, 23, n° 3.
 2. — Schmidt, H. : *Grundlagen der spezifischen Therapie*, Berlin, 1940.
 3. — Jensen, V. und Jensen, E. : *Zent. Bakt.*, I. O., 1933-34, 130, 144.
 4. — Landolt, Börnstein : *Physikalisch-Chemische Tabellen*, Berlin, 1936.
 5. — Bruynoghe, R. : *Manuel de Bactériologie*, Louvain, 1939.
 6. — Christensen, A. : *Zeitschr. f. Hyg.*, 1938, 120, 121.
 7. — Vedder, A. : *Leerboek der Bacteriologie en Immunologie*, Haarlem, 1935.
-

TABEL I.

Dooden der bacteriën door verwarming op 56°.

TIJD	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'	40'
<i>Salmonella paratyphi</i>	+	+	+	+	—	—	—	—
<i>Salmonella typhi-murium</i>	+	+	+	+	—	—	—	—
<i>Salmonella schottmuelleri</i>	+	+	+	+	—	—	—	—
<i>Salmonella choleraesuis</i>	+	+	+	—	—	—	—	—
<i>Salmonella enteritis</i>	+	+	+	—	—	—	—	—
<i>Eberthella typhosa</i> O H	+	+	+	+	+	+	—	—
<i>Eberthella typhosa</i> O	+	+	+	—	—	—	—	—
<i>Eberthella typhosa</i> H	+	+	+	—	—	—	—	—
<i>Abortus Bang.</i>	+	+	+	—	—	—	—	—
<i>Proteus vulgaris</i> O X 19	+	+	+	+	—	—	—	—

TABEL II.

Kiemdoodende kracht van scheikundige stoffen.

STAM	Formal-dehyde		Alcohol		Carbol-zuur		Kwik-bichlo-ride	
	%	tijd	%	tijd	%	tijd	%	tijd
<i>Eberthella typhosa</i> O H	0,8	25	40	10	0,8	10	0,05	15
<i>Eberthella typhosa</i> H	2,0	15	40	15	0,8	15	0,05	20
<i>Eberthella typhosa</i> O	0,8	20	40	10	0,8	10	0,05	15
<i>Salmonella paratyphi</i>	0,8	30	40	10	0,7	35	0,05	10
<i>Salmonella schottmuelleri</i>	1,5	20	40	15	1,0	10	0,03	10
<i>Salmonella typhi-murium</i>	0,8	25	40	10	0,8	10	0,05	10
<i>Salmonella choleraesuis</i>	0,8	15	40	10	0,7	10	0,03	1
<i>Salmonella enteritis</i>	—	15	40	10	0,7	15	0,05	15
<i>Proteus</i> O X 19	1,2	15	40	10	0,7	10	0,07	10
<i>Abortus Bang.</i>	0,8	—	40	10	0,8	15	0,05	10

TABEL III.

Invloed van warmte en scheikundige produkten, als kiemdoodend aangewend, op de agglutinatiereactie.

Stam	Bereiding	Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.
Eberthella typhosa OH	Levende	1/1.000	1/2.000	1/4.000
	Verwarmd 1 u. op 56°.	1/1.000	1/4.000	1/4.000
	Verwarmd 2 u. op 100°	—	1/500	1/2.000
	Met alcohol	—	1/600	1/2.000
	Met formaldehyde . .	1/1.000	1/2.000	1/2.000
	Met carbolzuur	1/400	1/2.000	1/2.000
	Met kwikbichloride . .	1/1.000	1/2.000	1/4.000
Eberthella typhosa O	Levende	1/100	1/2.000	1/4.000
	Verwarmd 1 u. op 56°.	—	1/1.000	1/4.000
	Verwarmd 2 u. op 100°	—	1/800	1/2.000
	Met alcohol	—	1/500	1/4.000
	Met formaldehyde . .	1/50	1/1.000	1/4.000
	Met carbolzuur	—	1/1.000	1/4.000
	Met kwikbichloride . .	1/100	1/1.000	1/4.000
Eberthella typhosa H	Levende	1/4.000	1/4.000	1/6.000
	Verwarmd 1 u. op 56°.	1/2.000	1/4.000	1/6.000
	Verwarmd 2 u. op 100°	1/300	1/2.000	1/2.000
	Met alcohol	1/400	1/2.000	1/4.000
	Met formaldehyde . .	1/2.000	1/4.000	1/4.000
	Met carbolzuur	1/2.000	1/2.000	1/4.000
	Met kwikbichloride . .	1/2.000	1/4.000	1/6.000

TABEL IV.

*Inloed van warmte en scheikundige produkten,
na een inwerkingstijd van 24 uur, op de agglutinatiereactie.*

Stam	Bereiding	Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.
Eberthella typhosa OH	Levende	1/1.000	1/2.000	1/2.000
	Verwarmd op 56° . .	1/1.000	1/4.000	1/4.000
	Verwarmd op 100° . .	—	1/500	1/2.000
	Met alcohol	—	1/400	1/2.000
	Met formaldehyde . .	1/1.000	1/2.000	1/2.000
	Met carbolzuur . . .	1/100	1/1.000	1/2.000
	Met kwikbichloride .	1/1.000	1/2.000	1/4.000

TABEL V.

*Inloed van warmte en scheikundige stoffen, na afkoeling op — 75°,
op de agglutinatiereactie.*

Eberthella typhosa O H.						
Bereiding	1 uur op 18°			1 uur op — 75°		
	Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.	Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.
Levende	1/1.000	1/2.000	1/4.000	1/1.000	1/2.000	1/4.000
Verwarmd 1 u. op 56°.	1/1.000	1/4.000	1/4.000	1/1.000	1/4.000	1/4.000
Verwarmd 2 u. op 100°.	—	1/500	1/2.000	—	1/300	1/1.000
Met alcohol	—	1/600	1/2.000	—	1/600	1/2.000
Met formaldehyde . .	1/1.000	1/2.000	1/2.000	1/1.000	1/2.000	1/2.000
Met carbolzuur . . .	1/400	1/2.000	1/2.000	—	1/500	1/900
Met kwikbichloride .	1/1.000	1/2.000	1/4.000	1/800	1/2.000	1/2.000

TABEL VI.

*Inloed van warmte en scheikundige stoffen op de antigenen,
van versche en gedroogde bacteriën, in de agglutinatiëproef.*

Stam	Bereiding	Versche bacteriën			Gedroogde bacteriën		
		Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.	Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.
Eberthella typhosa OH	Levende	1/2.000	1/4.000	1/6.000	1/100	1/900	1/4.000
	Verwarmd 1 u. op 56°	1/1.000	1/2.000	1/6.000	—	1/1.000	1/4.000
	Verwarmd 2 u. op 100°	1/100	1/800	1/1.000	—	1/1.000	1/2.000
	Met alcohol	1/100	1/700	1/1.000	—	1/900	1/2.000
	Met formaldehyde . .	1/2.000	1/2.000	1/6.000	—	1/500	1/2.000
	Met carbolzuur . . .	1/1.000	1/2.000	1/4.000	—	1/500	1/2.000
	Met kwikbichloride .	1/1.000	1/2.000	1/4.000	—	1/900	1/2.000
Eberthella typhosa O	Levende	1/100	1/2.000	1/4.000	1/50	1/900	1/4.000
	Verwarmd 1 u. op 56°	—	1/1.000	1/4.000	1/50	1/800	1/4.000
	Verwarmd 2 u. op 100°	—	1/800	1/2.000	1/25	1/1.000	1/2.000
	Met alcohol	—	1/500	1/4.000	—	1/1.000	1/4.000
	Met formaldehyde . .	1/50	1/1.000	1/4.000	1/50	1/900	1/2.000
	Met carbolzuur . . .	—	1/1.000	1/4.000	1/25	1/1.000	1/4.000
	Met kwikbichloride .	1/100	1/1.000	1/4.000	1/50	1/900	1/4.000
Eberthella typhosa H	Levende	1/2.000	1/4.000	1/6.000	1/50	1/900	1/4.000
	Verwarmd 1 u. op 56°	1/2.000	1/4.000	1/6.000	5/25	1/700	1/4.000
	Verwarmd 2 u. op 100°	1/300	1/2.000	1/2.000	1/50	1/400	1/4.000
	Met alcohol	1/400	1/2.000	1/2.000	—	1/700	1/4.000
	Met formaldehyde . .	1/2.000	1/4.000	1/6.000	—	1/900	1/4.000
	Met carbolzuur . . .	1/2.000	1/4.000	1/4.000	—	1/1.000	1/4.000
	Met kwikbichloride .	1/2.000	1/4.000	1/6.000	1/100	1/1.000	1/4.000

TABEL VII.

*Invloed van warmte en scheikundige stoffen op de antigenen van bacteriën,
voor en na het drogen, in de agglutinatiëproef.*

Stam	Bereiding	Gedroogd na			Gedroogd vóór		
		Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.	Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.
Eberthella typhosa O H	Levende	1/100	1/900	1/4.000	1/100	1/900	1/4.000
	Verwarmd 1 u. op 56°	1/200	1/800	1/4.000	—	1/1.900	1/4.000
	Verwarmd 2 u. op 100°	1/200	1/800	1/1.000	—	1/1.000	1/2.000
	Met alcohol	—	1/800	1/2.000	—	1/900	1/2.000
	Met formaldehyde . .	—	1/600	1/2.000	—	1/500	1/2.000
	Met carbolzuur . . .	1/300	1/700	1/2.000	—	1/900	1/2.000
	Met kwikbichloride .	—	1/800	1/2.000	—	1/900	1/2.000
Eberthella typhosa O	Levende	1/50	1/900	1/4.000	1/50	1/900	1/4.000
	Verwarmd 1 u. op 56°	1/50	1/700	1/4.000	1/50	1/800	1/4.000
	Verwarmd 2 u. op 100°	1/25	1/1.000	1/2.000	1/25	1/1.000	1/2.000
	Met alcohol	1/25	1/700	1/4.000	—	1/1.000	1/4.000
	Met formaldehyde . .	1/50	1/700	1/2.000	1/50	1/900	1/2.000
	Met carbolzuur . . .	—	1/700	1/2.000	1/25	1/800	1/2.000
	Met kwikbichloride .	1/25	1/1.000	1/4.000	1/100	1/1.000	1/4.000
Eberthella typhosa H	Levende	1/50	1/900	1/4.000	1/50	1/900	1/4.000
	Verwarmd 1 u. op 56°	1/100	1/1.000	1/4.000	1/25	1/700	1/4.000
	Verwarmd 2 u. op 100°	—	1/100	1/4.000	1/50	1/400	1/4.000
	Met alcohol	1/50	1/300	1/4.000	—	1/700	1/4.000
	Met formaldehyde . .	—	1/800	1/4.000	—	1/900	1/4.000
	Met carbolzuur . . .	—	1/400	1/4.000	—	1/900	1/4.000
	Met kwikbichloride .	1/200	1/2.000	1/4.000	1/100	1/1.000	1/4.000

TABEL VIII

*Invloed der afkoelingstemperatuur bij het drogen op de antigenen,
in de agglutinatiëproef.*

Stam	Bereiding	Afgekoeld op — 5°			Afgekoeld op — 75°		
		Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.	Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.
Eberthella typhosa O H	Levende	1/200	1/2.000	1/2.000	1/100	1/2.000	1/2.000
	Verwarmd 1 u. op 56°	1/200	1/1.000	1/4.000	1/100	1/2.000	1/2.000
	Verwarmd 2 u. op 100°	1/100	1/700	1/2.000	1/50	1,800	1/2.000
	Met alcohol	1/50	1/900	1/2.000	1/50	1/1.000	1/2.000
	Met formaldehyde . .	1/200	1/1.000	1/4.000	1/200	1/1.000	1/4.000
	Met carbolzuur . . .	1/200	1/1.000	1/2.000	1/100	1/900	1/2.000
	Kwikbichloride . . .	—	1/1.000	1/1.000	—	1/1.000	1/1.000

TABEL IX.

Invloed van het droog bewaren van bacteriën op de agglutinatiëproef.

Stam	Versch gedroogd			Na 1 jaar		
	Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.	Na 30'	Na 2 u.	Na 20 u.
Eberthella typhosa	—	1/200	1/400	—	1/100	1/400
Salmonella paratyphi . . .	1/800	1/1.600	1/3.200	1/400	1/1.600	1/3.200
Salmonella schottmuelleri .	—	1/100	1/1.600	1/800	1/1.600	1/1.600
Salmonella typhi-murium .	—	1/3.200	1/3.200	1/400	1/1.600	1/1.600
Salmonella enteritis	—	1/800	1/1.600	1/50	1/400	1/800
Salmonella choleraesuis . .	—	1/1600	1/1.600	1/100	1/1.600	1.600