

Bijdrage tot de studie der dysenterie- bacteriën

DOOR

Raf. RESSELER.

Als pathogene bacterie van het darmkanaal is het isoleeren uit de faeces, de klassieke methode voor het aantoonen dezer bacteriën. De laatste jaren, wordt er echter meer en meer aandacht geschonken aan de septisemie welke door dysenteriebacteriën veroorzaakt wordt. De gevallen, waarbij men de dysenteriebacteriën, in het bloed kan aantoonen, worden steeds talrijker. Aan het onderzoek van de mogelijkheid dysenteriebacillen te vinden, in andere biologische vochten of secreten, zooals moedermelk, werd niet zooveel zorg besteed.

Wij willen hier de aandacht vestigen op een onderzoek van moedermelk. Het bacteriologisch onderzoek heeft uitgewezen dat deze besmet was door bacteriën nauw verwant met het geslacht der *Shigella*.

Een kindje van enkele maanden, met moedermelk gevoed, vertoonde de klinische kenteekens van bacillaire dysenterie. De moedermelk werd aan een bacteriologisch onderzoek onderworpen, waarbij de hierna volgende uitslagen bekomen werden.

De moedermelk werd uitgezaaid op de drie kleurenplaat van Gassner. Na 24 uren bebroeien op 37°, vertoonde de plaat, naast enkele witte koloniën van staphylococcen, zeer talrijke (ongeveer twee tot drie honderd voor één druppel melk) kleine koloniën welke geel gekleurd waren. Na twee tot drie dagen werd de kleur donkerder en veranderde in groen, na drie tot 5 dagen ging de groene in een licht blauwe kleur over.

Enkele dezer kleine koloniën, werden verder, op Petrischalen, uitgezaaid tot het bekomen van rein kulturen, volgens de

methode der progressieve verdunning. Na talrijke bewerkingen hebben wij de aldus bekomen stam aan identificatieproeven onderworpen, waarvan hierna de uitslagen :

VORM : korte, smalle staafjes met licht afgeronde uiteinden. Lengte van $0,8 \mu$ tot 2μ ; breedte van $0,3 \mu$ tot $0,5 \mu$. Enkele dikkere of langere elementen worden aangetroffen. Zij vertoonen geen bijzondere rangschikking. Hier en daar vindt men draadvormige ontwikkeling of liggen ze in korte ketens. Zij bezitten geen kapsel noch sporen.

BEWEEGLIJKHEID : Zij zijn onbeweeglijk.

KLEURBAARHEID : De bacillen kleuren zich zeer goed bij de gewone kleurmethode. Zij zijn gram negatief en niet zuur-vast.

KWEEKEN :

- a) *Aëroob* : de bacteriën groeiën zeer goed op eenvoudige voedingsbodems, zowel bij 22° als bij 37° .
- b) *Anaëroob* : de bacteriën vertoonen slechts een lichte ontwikkeling.

Bouillon : de bacteriën groeiën gelijkmatig troebel met zijden golven. Zij vertoonen noch vlies, noch bezinksel.

Bouillon-agar :

- a) buizen : witte strepen welke geleidelijk verdikken en een roomachtig uiterlijk aannemen.
- b) Petrischalen : bij sterke verdunning en uitzaaien op Petrischalen vormen de bacillen kleine koloniën gelijkende op dauwdruppels. Deze zijn rond met gladden rand en verdikken geleidelijk.

Bouillon-agar met neutraalrood : er heeft geen reductie plaats.

Aardappelen : zeer goede groei. De bacillen spreiden zich in een dikken wolkvormigen kweek uit. De kleur is geel bruin.

Melk : vertoont geen verdikking.

Lakmoesmelk : lichte verzuring.

Lakmoeswei : lichte kleuromslag van blauw naar paarsrood.

De stofwisseling der bacteriën werd aan de hand van volgende proeven onderzocht.

ADEMHALING :

Catalase reactie : negatief.

Peroxydase reactie : positief.

STIKSTOFWISSELING : *Verloeiën van gelatine* :

- a) in *opperlakte* : de bacteriën ontwikkelen zich zeer goed op gelatine onder den vorm van een dikke, witte streep met roomkleurig uiterlijk; geen vervloeïng.

b) *in diepte* : goede groei met lichte verspreiding aan de oppervlakte rond de plaats van inenting; verder groei in diepte langsheen gansch den steek; geen vervloeiing.

Splitsing van serum : de serum wordt niet aangetast.

Splitsing van caseïne : caseïne wordt niet gesplitst.

Splitsing van bloedkleurstof :

a) *in vloeibare voedingsbodems* : de geïsoleerde stam bewerkt geen splitsing van bloedkleurstof.

b) *op vaste voedingsbodems* : de stam toont zich eveneens indifereent.

Voortbrengen van indol :

a) *indol* : negatieve uitslag.

b) *indolverbindingen* : negatieve uitslag.

Voortbrengen van zwavelwaterstof : geen vorming van zwavelwaterstof.

Reductie van nitraten : nitraten worden gereduceerd tot nitrieten.

KOOLHYDRAATSTOFWISSELING : *Afbreken van koolhydraten* : dit werd nagegaan in peptone-water met proefvocht van Andrade. Hieraan werd 1 % der onderscheidene koolhydraten toegevoegd. De buizen werden, gedurende 30 dagen, op 37° bebroeid en nagegaan.

Pentosen :

Arabinose : splitsing na 12 uren met sterken kleur omslag.

Xylose : splitsing na 12 uren met sterken kleur omslag.

Isodulciet : splitsing na 12 uren met sterken kleur omslag.

Monohexosen :

Glucose : splitsing na 12 uren met sterken kleur omslag. Na 3 dagen ontstaat er een gasbel in de gasbuisjes.

Mannose : splitsing na 12 uren met sterken kleur omslag.

Galactose : splitsing na 12 uren met sterken kleur omslag. Na 5 dagen ontstaat er een gasbel in de gasbuisjes.

Lævulose : splitsing na 12 uren met sterken kleur omslag.

Disacchariden :

Lactose : Na 12 uren geen verandering; na 24 uren ontstaat er een lichte roode kleur onder in de buisjes; na 2 tot 3 dagen wordt gansch het buisje zwak rood gekleurd. De kleur omslag blijft steeds veel zwakker dan bij de andere producten.

Maltose : splitsing na 12 uren met sterken kleur omslag. Na 5 tot 6 dagen ontstaat er een kleine gasbel in de gasbuisjes.

Saccharose : splitsing na 12 uren met sterken kleur omslag. Na 5 tot 6 dagen ontstaat er een kleine gasbel in de gasbuisjes.

Trisacchariden :

Raffinose : splitsing na 12 uren met sterken kleur omslag.

Polysacchariden :

Dextrine : Na 12 uren lichte roze kleur welke weder verdwijnt; na 6 tot 7 dagen ontstaat er een lichte roode kleur onder in de buisjes en vormt er zich een kleine gasbel.

Inuline : geen splitsing.

Zetmeel : (zie verder).

Drieatomige alkohol :

Glycerine : geen splitsing.

Vijfatomige alkohol :

Adoniet : geen splitsing.

Zesatomige alkoholen :

Manniet : splitsing na 12 uren met sterken kleuromslag. Na 5 tot 6 dagen ontstaat er een kleine gasbel in de gasbuisjes.

Dulciet : geen vergisting.

Sorbiet : geen vergisting.

Inosiet : geen vergisting.

Glucosiden :

Amygdaline : Na 12 uren lichte rose kleur onder in de buisjes.

Na 4 tot 5 dagen worden de gansche buisjes lichtrood en ontstaat er een gasbel.

Salicine : splitsing na 12 uren met sterken kleuromslag. Het rood maakt geleidelijk plaats voor een heldere paarse kleur.

Stijfsel : (volgens de methode van Eyckman) geen splitsing van zetmeel.

Vorming van acethylmethylcarbinol : geen vorming van acethylmethylcarbinol.

Al de uitslagen van het onderzoek naar de koolhydraatstofwisseling zijn in Tabel I samengebracht. De aan de onderzochte stam bevonden eigenschappen leest men onder X. Ter vergelijking werd terzelfdertijd een der verscheidene tpeestammen der *Shigella* groep onderzocht. De uitslagen hiervan leest men in de zelfde tabel. Uit de vergelijking blijkt, op lactose na, het nauw verband met de *Shigella paradysenteriae* A en B-C.

Vetstofwisseling : Het onderzoek naar het vetsplitsend vermogen bij middel van de « vetplaat » van Eyckman, heeft negatieve uitslagen op geleverd.

Serologische eigenschappen :

Om de geïsoleerde stam te vereenzelvigen, hebben wij de volgende agglutinatieproeven uitgevoerd.

Wij hebben testsera in verdunning van 1/25 — 1/50 — 1/100 — 1/200 — 1/400 — 1/800 — 1/1600 — 1/3200 — 1/6400 —, laten inwerken op de geïsoleerde stam. De gebruikte sera zijn : serum anti Eberthella typhosa, serum anti Salmonella paratyphi, anti Salmonella schottmuelleri, anti Salmonella typhi murium, anti Suipestifer, anti Gartner Yena, anti Newport, anti London, anti Proteus vulgaris, anti Bang, anti Shigella dysenteriae, anti Shigella ambigua, anti Shigella sonnei, anti Shigella paradysenteriae (polyvalent), anti Shigella paradysenteriae (var. Y.). De uitslagen hiervan zijn samengebracht in tabel II.

Hieruit blijkt dat, de geïsoleerde bacterie, een positieve uitslag geeft met de beide laatste sera, en dit tot een verdunning tot 1/3200.

De bijkomende agglutinatie, tusschen de geïsoleerden stam en antisera der typhusreeks, kunnen wij niet als abnormaal bestempelen. Wij hebben dit bij Shigella paradysenteriae stammen, uit faeces geïsoleerd, insgelijks vastgesteld. Tabel III geeft hiervan een voorbeeld.

Verder hebben wij een antiserum bereid bij middel van de geïsoleerde bacterie. Na drie intraperitoneale inspuitingen, van een 24 uur oude kweek, hebben wij een serum bekomen welke met de bacterie een positieve uitslag geeft tot een verdunning van 1/6400.

Dit serum werd verder aangewend om zijne inwerking na te gaan op de verschillende typenstammen van dysenterie en typhusgroep. Hiervoor hebben wij gebruik gemaakt van de volgende stammen :

Shigella dysenteriae, Shigella ambigua, Shigella sonnei, Shigella sonnei R (1), Shigella paradysenteriae A, B-C, D, H, X, Y₁, Y₂, F, G, L en R (1).

Eberthella typhosa, Salmonella paratyphi, Salmonella schottmuelleri, Salmonella typhi murium, Salmonella choleraesuis,

(1) Stammen welke wij hier te lande bij dysenterie epidemiën uit de faeces geïsoleerd hebben. (R. Ressler ; Bijdrage tot de studie der bacillaire dysenterie hier te lande. *Vlaamsch Geneeskundig Tijdschrift*, 1942, n^o 47.)

Salmonella enteritis, *Proteus vulgaris* OX 19 en *Brucella abortus*.

De uitslagen zijn samengebracht in tabel IV.

Hieruit blijkt andermaal dat al de *Shigella paradysenteriae* stammen een positieven uitslag geven en dit tot een verdunning van 1/3200 voor de *Shigella paradysenteriae* A, B-C en D.

Deze uitslagen bevestigen op sprekende wijze diegene welke bij het onderzoek naar de biologische eigenschappen bekomen werden.

De aanwezigheid van dysenteriebacteriën, in de moedermelk, kan aanleiding geven tot het voortbrengen van antigeen. Om dit aan te toonen, hebben wij de wei der moedermelk, in verscheidene verdunningen, laten inwerken op de geïsoleerde stam alsmede op een *Shigella dysenteriae*, *Shigella ambigua*, *Shigella sonnei* en *Shigella paradysenteriae*. De geïsoleerde stam werd geagglutineerd tot op 1/1600, de *Shigella paradysenteriae* tot 1/800 ; de drie andere stammen vertoonden bijna geen agglutinatie.

Het bloed der behandelde moeder werd insgelijks onderzocht. Het serum agglutineerde tot 1/100 met *Shigella paradysenteriae*. Aan de hand der uitslagen van de hierboven aangehaalde proeven, mogen wij besluiten dat de geïsoleerde bacterie in zeer nauw verband staat met het geslacht *Shigella*, vooral met de soort *paradysenteriae*.

Een afwijking is van belang, namelijk waar de bacterie eene lichte splitsing van lactose bewerkt. Deze afwijking laat zich wellicht verklaren door het feit dat de bacterie zich in moedermelk, welke rijk is aan lactose, ontwikkelde en daardoor een lichte mutatie heeft ondergaan. Ook het feit dat eene kleine hoeveelheid gas, bij het splitsen van zekere koolhydraten, gevormd wordt, dient onze aandacht te weerhouden. De zeer duidelijke uitslagen op gebied der serologische eigenschappen spreken daarentegen ten gunste eener dysenteriebacil.

Wij meenden goed te doen de aandacht te trekken op het behandelde geval.

Dusdanige gevallen dienen in de toekomst grondig onderzocht te worden. Dit vooral omdat hier, een zekere tegenstrijdigheid tusschen de biologische- en serologische eigenschappen

aan het licht treedt. Bij het opsporen van dysenteriebacteriën is dat van groot belang. Wij dienen er rekening mede te houden dat ofwel de kleuromslag bij de selectieplaten niet constant is, ofwel afwijkende serologische eigenschappen aanleiding kunnen geven tot groote missingen.

Instituut voor Tropische Geneeskunde « Prins Leopold ».

Antwerpen, 21 April 1944.

Résumé.

D'un échantillon de lait de femme on a pu isoler un bacille très apparenté aux bacilles dysentériques. Montrant quelques propriétés biologiques différentes des souches types, il a les caractères sérologiques des *Shigella paradysenteriae*. Ce fait mérite d'être examiné de plus près. La présente communication n'a d'autre but que de le soumettre à l'attention des intéressés.

TABEL I.

	Glucose	Lactose	Manniet	Dulciet	Saccharose	Levulose	Rafinose	Mallose	Arabinose	Glycerine	Adoniet	Xylose	Salicine	Isodulciet	Dextrine	Inosiet	Sorbiet	Mannose	Inuline	Galactose	Amygdaline	
X	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
Shigella dysenteriae . . .	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
Shigella ambigua . . . I.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
Shigella sonnei . . . E.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
Shigella sonnei . . . E.R.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
Shigella paradysenteriae A.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
idem B-C.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
idem D.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
idem H.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
idem X.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
idem Y1	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
idem Y2	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
idem F.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
idem G.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
idem L.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
idem R.	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z

G = gas
G = zeer weinig gas

Z = zuur zonder gas
Z = licht zuur zonder gas
Z 8 = zuur na 8 dagen

TABEL II.

*Agglutinatieproeven met de geïsoleerde stam eenerzijds,
en typensera anderzijds.*

SERA	Na 2 uren	Na 20 uren
Sérum anti-Eberthella typhosa	1/100	1/200
Sérum anti-Salmonella paratyphi.	1/100	1/100
Sérum anti-Salmonella schottmuelleri	1/25	1/50
Sérum anti-Salmonella typhi murium	—	1/25
Sérum anti-Suipestifer	1/200	1/400
Sérum anti-Gartner Jena	1/25	1/50
Sérum anti-Newport	—	—
Sérum anti-London	1/50	1/100
Sérum anti-Proteus vulgaris	1/25	1/25
Sérum anti-Bang	1/100	1/100
Sérum anti-Shigella dysenteriae	1/50	1/100
Sérum anti-Shigella ambigua	—	1/50
Sérum anti-Shigella sonnei.	1/25	1/100
Sérum anti-Shigella paradys. polyv.	1/3.200	1/3.200
Sérum anti-Shigella paradys. Y	1/3.200	1/3.200

TABEL III.

Niet specifieke agglutinatie van dysenteriebacteriën met sera van de typhus-paratyphus-enteritisgroep.

SERA :	Shigella paradysenteriae		Shigella sonnei	
	Macro	Micro	Macro	Micro
Serum anti-Eberthella typhosa.	—	—	—	1/50
Serum anti-Salmonella paratyphi	—	1/50	—	1/25
Serum anti-Salmonella schottmuelleri	—	—	1/25	1/50
Serum anti-Salmonella typhi murium.	—	—	—	1/25
Serum anti-Suipestifer	1/50	1/100	—	1/50
Serum anti-Gartner Jena.	—	—	1/500	1/1.000
Serum anti-Newport	1/25	1/50	1/500	1/1.000
Serum anti-London	1/1.000	1/2.000	1/1.000	1/2.000
Serum anti-Proteus vulgaris	—	—	1/500	1/1.000
Serum anti-Bang	—	—	—	—

TABEL IV.

*Agglutinatieproeven met het serum van een konijn
na drie intraperitoneale inspuitingen van den geïsoleerden stam
met de type stammen.*

STAMMEN	Na 2 uren	Na 20 uren
1. X	1/3.200	1/6.400
2. Shigella dysenteriae	—	1/25
3. Shigella ambigua I.	—	1/25
4. Shigella sonnei E.	1/25	1/100
5. Shigella sonnei R.	1/50	1/100
6. Shigella paradysenteriae A.	1/1.600	1/3.200
7. Shigella paradysenteriae B.C.	1/3.200	1/3.200
8. Shigella paradysenteriae D.	1/800	1/800
9. Shigella paradysenteriae H.	1/1.600	1/3.200
10. Shigella paradysenteriae X.	1/200	1/400
11. Shigella paradysenteriae Y1.	1/400	1/400
12. Shigella paradysenteriae Y2.	1/400	1/400
13. Shigella paradysenteriae F.	1/800	1/800
14. Shigella paradysenteriae G.	1/400	1/800
15. Shigella paradysenteriae L.	1/200	1/400
16. Shigella paradysenteriae R.	1/100	1/200
17. Eberthella typhosa	1/50	1/100
18. Salmonella paratyphi	1/100	1/200
19. Salmonella schottmuelleri	1/50	1/100
20. Salmonella typhi murium	—	1/50
21. Salmonella choleraesuis	1/50	1/100
22. Salmonella enteritidis	—	—
23. Proteus vulgaris OX 19.	—	—
24. Brucella abortus	—	—