

## LOUIS WILLEMS ALS GRONDLEGGER VAN DE ENTING TEGEN BOVIENE PLEUROPNEUMONIE (LONGZIEKTE)

*Louis Willems (1822-1907) Founder of the protective inoculation against contagious bovine pleuropneumonia. An evaluative summary.*

C. Huygelen

Vossekouter 29, B-3040 Huldenberg, België

### ABSTRACT

Louis Willems' name is intimately linked with the history of prophylactic immunization in the nineteenth century. When he obtained his medical degree in 1849 contagious bovine pleuropneumonia or lung sickness was raging among the cattle population in most European countries. The disease is caused by *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides*, but in the middle of the nineteenth century, during the battle between the miasmatists and the contagionists many doubted its contagiousness. From the start, Willems defended the contagiousness of the disease and noticed that animals that had survived an infection did not contract it a second time. He demonstrated that inoculation of the serous fluid from the lungs or from the pleural cavity of affected animals into healthy cattle led to pronounced local reactions. Later on, when these inoculated animals came into contact with diseased cattle they turned out to be immune. In his first trials he inoculated at the base of the tail or around the nostrils but this led to very severe reactions and frequently to death. He then started inoculating at the tip of the tail with much better results. Most animals showed a more or less pronounced reaction at the inoculation site caused by the etiological agent itself.

The tip of the tail was obviously a good choice; this was confirmed later by many authors and the procedure is still being used today in areas where the disease is still prevalent. Inoculation at other sites of the body, such as the neck or the dewlap, led to very severe reactions often followed by death.

Willems also demonstrated that local inoculation at the tip of the tail not only immunized the animals against infection via the respiratory tract resulting from contact with diseased animals, but also against a second inoculation in the tail, in the neck or elsewhere. Material harvested from the inoculation site in the tail (so-called secondary "virus") could also be used as inoculum. Animals that showed no reaction to the first inoculation received a second inoculation after a few weeks.

Not only in Willems' lifetime (by himself and by his contemporaries) was immunization as a result of inoculation repeatedly proved through experiment, but also later, in more recent trials. Failures were usually attributed to inoculation of already infected animals or to the use of badly stored or purulent inocula. Inoculation during the incubation period did not provide protection.

The publication of his results created enormous interest in the matter in his country and abroad. In several countries commissions were founded, trials were initiated and several foreign observers came to visit Willems. In general his results were confirmed abroad, at least if the trials were conducted correctly; this was not always the case.

A critical evaluation of Willems' work leads us to the conclusion that his initial concepts and results in the field of immunization were correct and largely confirmed by the facts and the observations of others. As for one aspect Willems erred completely, that is when he claimed that the small corpuscles he had observed in the lesions were the causal agents of the disease.

In most countries lung sickness was eradicated by sanitary measures and by slaughtering all infected cattle, but some countries such as Australia have combined Willems' inoculation procedure with other measures for a long time. Even today his method is still being used, for instance in Africa, but infectious lung material has now been replaced by inocula consisting of attenuated mycoplasma cultures.

Het etiologisch agens van boviene pleuropneumonie is *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* SC (small colony type). Deze kiem werd ontdekt door Nocard en Roux op het einde van de vorige eeuw. Het was de vroegst bekende vertegenwoordiger van de mycoplas-

men, een grote en belangrijke bacteriegroep die overigens heel lang en soms nog PPLO (pleuropneumonia-like organism) genoemd werd naar die runderkiemen. Deze ziektekiemen dringen een kudde binnen door het binnenbrengen van besmette dieren en worden dan op

gezonde dieren overgedragen door het inademen van besmette druppeltjes opgehoest door zieke dieren of chronische dragers.

Gedurende de 19<sup>de</sup> eeuw breidde de ziekte zich langzaam uit over bijna heel Europa. In België werden de eerste gevallen vastgesteld in 1828 en in Nederland in 1833. Geneesmiddelen bleven zonder resultaat en ongeveer 30% van de aangetaste dieren stierf en nog eens 30% was ongeschikt voor productie of kon niet ingezet worden als werkdieren.

Louis Willems was als zoon van een Hasseltse jeneverstoker en vetmester maar al te zeer vertrouwd met de verwoestende gevolgen van de ziekte. Na het behalen van zijn diploma van dokter in de geneeskunde besloot hij deze ziekte verder te bestuderen, in de eerste plaats in de stallen van zijn vader. Hierbij bewam hij opmerkelijke resultaten met een protectieve inoculatiemethode, die mag aanzien worden als een voorloper van de moderne immunisaties en die bovendien nog steeds toegepast wordt, zij het dan met afgezwakte kiemen. Om ons een beter idee te kunnen vormen van de rol van Willems in de geschiedenis van de immunisatie, moeten wij eerst even de opvattingen schetsen in verband met infectie en immuniteit rond het midden van de negentiende eeuw.

Deze opvattingen werden in de eerste helft van de 19<sup>de</sup> eeuw volledig gedomineerd door het debat tussen "contagionisten" en "miasmatisten". De miasmatisten aanzagen alle infectieziekten als een gevolg van tellurische verschijnselen, terwijl de contagionisten ze toeschreven aan besmetting met "virussen" zonder daarbij een idee te hebben over wat onder de term "virussen" diende verstaan te worden. Tijdens de grote cholera-epidemieën in West-Europa in de 19<sup>de</sup> eeuw bleven de miasmatisten beweren dat cholera niet besmettelijk was; anderen wilden zelfs de quarantainemaatregelen voor pest afschaffen. Wat bovine pleuropneumonie betrof, waren velen de mening toegedaan dat deze ziekte "relatief" besmettelijk was: dat zij namelijk spontaan kon ontstaan, maar dat zij, eenmaal er enkele dieren aangetast waren, zich verder door besmetting van het ene dier naar het andere dier verspreidde.

Op het gebied van immunisatie tegen infectieziekten was reeds een hele weg afgelegd. Tegen pokken bij de mens werd in het begin de 18<sup>de</sup> eeuw de zogenaamde variolatie ingevoerd, waarbij echte menspokken voor de enting gebruikt werden. Deze methode, alhoewel met risico's gepaard, werd in verschillende landen gedurende de 18<sup>de</sup> eeuw gebruikt. Schapen werden in navolging van de variolatie bij de mens met schapenpokken geënt.

Sommige West-Afrikaanse stammen entten tegen longziekte door een stuk aangetast longweefsel aan te brengen in een insnijding van de huid op de neus van gezonde runderen. Dit bracht zeer hevige reacties teweeg, gepaard gaande met exostosen op de neus die aan een derde hoorn deden denken en er werd zelfs een nieuw runderras beschreven: *Bos tricerus senegalensis*.

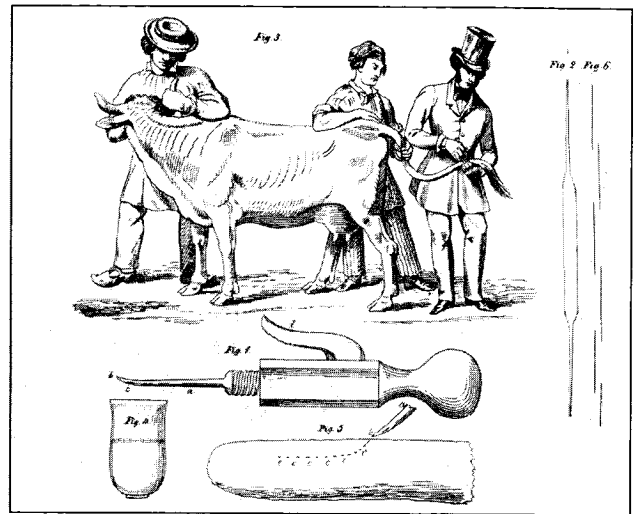


Fig. 1. Inoculatie tegen longziekte met een seringue ontwikkeld door Sticker (1854).

Volgens Willems' eigen verklaringen hadden de volgende motieven hem aangezet zijn werk op het gebied van de enting tegen longziekte te ondernemen. Naast zijn belangstelling voor een prijsvraag van de Academie voor Geneeskunde over deze ziekte hadden drie factoren hem beïnvloed: 1. hij wou de twijfels wegnemen over de overentbaarheid van de ziekte; 2. preventieve immunisatie werd reeds gebruikt bij de mens en 3. in de stallen van zijn vader had hij een 500-tal runderen geobserveerd die de ziekte doorgemaakt hadden en geen enkel ervan had de ziekte een tweede maal gekregen.

Eind 1850 - begin 1851 startte Willems met zijn proeven in de stallen van zijn vader. Hij wou in de eerste plaats aantonen dat longziekte een specifieke overdraagbare ziekte van het rund was. Hij entte verschillende andere diersoorten met longmateriaal van aangetaste runderen en kon bij geen enkele ziekte verwekken. Ook mensen die accidenteel via wonden aan virulent materiaal blootgesteld werden, bleken ongevoelig. In februari 1851 entte Willems de eerste runderen aan de basis van de staart, maar dit leidde tot hevige lokale reacties die defecatie onmogelijk maakten en de uitbreiding van deze reacties leidde tot de dood. Hij entte ook enkele runderen rond de neusgaten, maar in zijn eigen bewoordingen, creëerde hij aldus monsters. Hij begon dan op het uiteinde van de staart te enten, zo ver mogelijk van de vitale organen. Als inoculum gebruikte hij vocht uit aangetaste longen en bracht dit met een lancet in een kleine insnijding in de huid. Later werden ook spuiten gebruikt, zoals die ontwikkeld door Sticker (Fig. 1).

De staart had ook het voordeel dat er weinig los bindweefsel aanwezig was, wat de uitbreiding van de reacties beperkte, maar door de druk ontstond er wel in sommige gevallen necrose met verlies van een deel van de staart. De zwellingen ontstonden gewoonlijk 10 à 30 dagen na de enting, voorafgegaan door algemene symptomen als koorts en depressie. De lokale reacties verdwenen gewoonlijk na enkele weken. Deze reacties be-

stonden vooral uit een ophoping van sereus exsudaat en leken sterk op die in de interlobulaire septa in de longen.

De publicatie van Willems' resultaten werd op veel scepticisme onthaald. Velen konden niet geloven dat een gelokaliseerde longaandoening kon overgebracht worden via een insnijding in de huid en namen niet aan dat Willems een voor de longziekte typische reactie verwekte, niet in de longen, maar op een andere plaats van het lichaam. Het is slechts jaren later dat Villemin aantoonde dat een andere ziekte die hoofdzakelijk de longen aantastte, namelijk tuberculose, ook kon overgeënt worden.

Velen bleven beweren dat de lokale reacties op de entplaats aan niet-specifieke factoren te wijten waren of aan septische besmetting. Willems reageerde hierop door er op te wijzen dat bij septische besmetting de incubatietijd veel korter was, dat de lokale symptomen de algemene voorafgingen en niet omgekeerd en dat er lokaal pus gevormd werd in plaats van sereuze vloeistof.

De keuze van de inoculatieplaats was belangrijk. Sommigen probeerden te enten in de hals of in de kossem en veroorzaakten hoge sterfte. De staart is ook later de "voorkeursplaats" gebleven, zoals bijvoorbeeld in Australië, waar de ziekte pas omstreeks 1970 uitgeroeid werd. Ook in Engelstalig Afrika wordt nu nog steeds de inoculatie in de staart uitgevoerd in tegenstelling tot Frans West-Afrika waar de enting om traditionele redenen op de neus gebeurt.

Willems noemde de staart een "toegelaten zone" in tegenstelling tot "verboden zones", zoals de hals, de kossem of de schouders.

Willems en anderen toonden ook aan dat inoculatiemateriaal even goed kon genomen worden uit de reactieplaatsen aan de staart: dit werd "secundair virus" genoemd. Later werden op aanraden van Pasteur kalveren geënt in de hals of de kossem, wat een hevige reactie verwekte en op die manier kon een grote hoeveelheid inoculum aseptisch geogst worden, die dan voor de staartinoculatie gebruikt werd.

Een van de eerste zaken die Willems onderzocht was of de geënte dieren immuun werden tegen de longziekte. Hij plaatste 108 geënte en 50 niet-geënte runderen in contact met besmette dieren; 17 niet-geënte runderen kregen longziekte, maar geen enkel geënt rund.

Een proef door de Belgische Commissie, die ondertussen was opgericht en waarover later meer, gaf volgende resultaten: 4 niet-geënte dieren en geen enkel geënt dier telkens in een groep van 10, kregen typische pleuropneumonie. De resultaten in de praktijk bevestigden deze bevindingen. De mortaliteit bij geënte dieren in veldproeven bedroeg 2,7% tegenover 26,9 bij niet-geënte dieren.

Er werden in de loop van de negentiende eeuw in verschillende landen proeven opgezet die de resultaten van Willems bevestigden. Een van de meest overtuigende was die van Pouilly-le-Fort bij Melun waarbij in een vergelijkende proef het procédé van Willems vergeleken werd met een "vaccin" dat ontwikkeld werd door Arloing,

professor in Lyon. Deze laatste had een kiem geïsoleerd waarvan hij ten onrechte dacht dat hij het oorzakelijke agens van de ziekte was en had hieruit een entstof gemaakt. Groep 1 met 13 dieren kreeg het vaccin van Arloing; groep 2, eveneens 13 dieren, werd volgens de methode van Willems geënt en groep 3 bestond uit 14 niet-geënte controledieren. Zij werden alle in contact gebracht met besmette runderen en de uitslagen waren als volgt: in de groepen 1, 2 en 3 werden respectievelijk 9 op 13, 0 op 13 en 10 op 14 dieren ziek.

Reeds in het begin van zijn proeven had Willems opgemerkt dat dieren die na een eerste enting een typische reactie vertoonden hadden, niet meer reageerden op een tweede enting. Hieruit ontwikkelde hij een challenge-methode, een zogenaamde "inoculation critère" waarbij hij virulent materiaal in een zogenaamde verboden zone, zoals de kossem, entte. Immune dieren vertoonden geen reactie.

Willems schatte dat de immuniteit zich ongeveer twee weken na de enting ontwikkelde. Dit werd in meer recente proeven bevestigd. De duur van de immuniteit was onduidelijk, dit zou voor Willems onder de omstandigheden waarin hij werkte moeilijk te bepalen zijn geweest. De dieren bij de vetmesters in Hasselt bleven nooit lang genoeg om de duur van de immuniteit te kunnen bestuderen.

Mislukkingen bij de immunisatie konden gewoonlijk worden toegeschreven aan slechte bewaring van de entstof of besmetting ervan door septisch materiaal.

Willems' opvattingen over het mechanisme van de immunisatie waren begrijpelijkerwijze wazig en onduidelijk. Hij aanzag pleuropneumonie als een algemene ziekte (totius substantiae) met lokalisatie in de longen na natuurlijke besmetting; door enting kwam deze lokalisatie op de plaats van de enting, men creëerde a.h.w. een pneumonie op een andere plaats van het lichaam. Er greep een "dynamisatie" plaats; het virus ageerde op het bloed en op andere organen en maakte die weerstandig tegenover een tweede besmetting. Dit was één van de punten waarop hij door zijn tegenstanders hevig aangevallen werd: velen konden niet aannemen dat een lokale besmetting in de staart ook de longen zou beschermen.

Willems was er van overtuigd dat pleuropneumonie niet overgebracht werd van geënte op niet-geënte dieren. Dit was vooral gebaseerd op theoretische beschouwingen. Hij en anderen dachten dat het geënte virus gefixeerd bleef in de weefsels en niet in de omgevende lucht verspreid werd zoals bij natuurlijke infectie van de longen. De praktijk bewees dat er inderdaad relatief gezien veel minder besmettingsgevaar uitging van geënte dieren, maar toch vormden de enting en de manipulatie van de inocula een risico voor de besteding van de ziekte, één van de redenen waarom voor de ultieme bestrijding ervan de voorkeur gegeven werd aan sanitaire maatregelen en afslachten.

Willems publiceerde zijn "Mémoire" in 1852 en een Nederlandse vertaling verscheen hetzelfde jaar in Gent (Fig. 2). Hij stuurde de tekst naar de toenmalige Minister

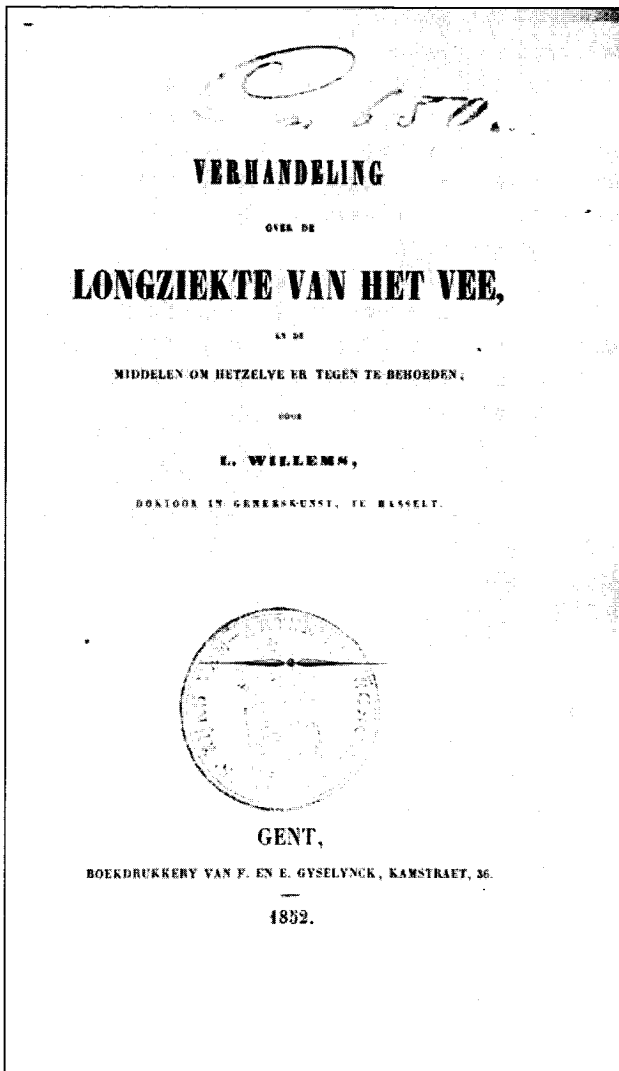


Fig. 2. De Nederlandse versie van Willems' eerste publicatie. De Franse tekst verscheen in datzelfde jaar te Brussel.

van Binnenlandse Zaken Charles Rogier (Landbouw viel toen onder de bevoegdheid van Binnenlandse Zaken). De publicatie trok onmiddellijk veel aandacht in heel Europa en ook daarbuiten: afgevaardigden uit Nederland, Frankrijk, Duitsland, Groot-Brittannië en Australië kwamen hem in Hasselt opzoeken en in de meeste landen werden commissies opgericht en werden proeven opgezet.

In zijn brief aan de minister had Willems steun gevraagd samen met het verzoek om zijn resultaten te laten bevestigen door "geleerde mannen". Hierop werd een commissie opgericht van dierenartsen en medici waaronder Verheyen en Thiernesse, professoren in Kuregem en Gottlieb Gluge, professor aan de Brusselse Universiteit. Er waren ook drie leden van de Academie voor Geneeskunde afgevaardigd bij de commissie: Fallot, Didot en Marinus.

De commissie bracht regelmatig verslag uit, maar de eerste zes rapporten waren zeer negatief. De commissie betwijfelde of de enting enige preventieve werking had. Negatieve gegevens werden in de verf gezet en positieve resultaten in twijfel getrokken. Didot wei-

gerde het eerste rapport te ondertekenen. Hij ging in Hasselt Willems' resultaten onderzoeken en schreef hierover een zeer lijvig rapport waarvan de conclusies zeer gunstig waren voor de enting.

Vanaf het begin ontspoon zich een heftig debat tussen Willems en de leden van de commissie, waarbij wederzijds bittere verwijten gehanteerd werden. De commissie weigerde op Willems' voorstel tot samenwerking in te gaan. De zaak werd ook in het Belgisch Parlement heftig besproken in 1856.

De eerste commissie werd ontbonden in 1855 en een nieuwe gecreëerd maar de hevigste tegenstanders van de enting werden opnieuw benoemd in de nieuwe commissie.

In haar zevende rapport in 1864 wijzigde de Belgische Commissie haar houding. De hevigste tegenstander, Verheyen, was inmiddels gestorven en nieuwe experimenten in binnen- en buitenland hadden de werkzaamheid van de enting bewezen. Proeven onder meer in de streek van Gent hadden een sterfte door pleuropneumonie opgeleverd van 25% bij niet-geënte tegenover 1,1% bij geënte dieren.

Dit zevende rapport leidde tot hevige debatten in de Academie voor Geneeskunde in 1865, waarbij vooral Vleminckx, toen voorzitter, en Marinus, rapporteur, de toon aangaven bij de tegenstanders en Thiernesse, professor in Kuregem en Crocq, professor aan de Brusselse Universiteit als verdedigers.

In Nederland en in Frankrijk waren de reacties veel gunstiger dan in België, zoals bleek uit de rapporten van de daar opgerichte commissies. Nederland heeft veel gebruik gemaakt van de enting in combinatie met het slachten van aangetaste dieren. In Frankrijk werd ook hevig gedebatteerd. Dit was ook het geval in Duitsland, waar verschillende streken de enting intensief gebruikten maar andere niet. In Engeland was het onthaal ook gemengd. Buiten Europa werd de enting intensief gebruikt in Zuid-Afrika en Australië. In dit laatste land werd de ziekte slechts in de jaren zeventig van de twintigste eeuw uitgeroeid en gedurende meer dan een eeuw werd de inoculatie in de staart gebruikt in combinatie met maatregelen van gezondheidspolitie, maar voor de enting werden afgezwakte mycoplasma stammen gebruikt.

In 1900 blikte Willems in een publicatie terug op 50 jaar preventieve enting tegen longziekte en hij deed dit eveneens in 1904 voor de Academie voor Geneeskunde. Hierbij verklaarde hij dat al zijn oorspronkelijke opvattingen bevestigd werden en dat hij de volgende punten kon bevestigen in 1900 zoals hij ze beschreven had in 1850.

1. Longziekte is een infectieuze, besmettelijke, specifieke en overentbare ziekte; zij is beperkt tot het rund en ontstaat niet spontaan.
2. Dieren die van de ziekte genezen, worden geen tweede maal aangetast.
3. Alle adequaat geënte dieren worden immuun.
4. Dieren die van de ziekte genezen zijn, zijn niet meer gevoelig voor enting.

5. Een eerste enting immuniseert het dier tegen de uitwerkingen van een tweede.
6. In het long- en pleuraal exsudaat en in andere lichaamsdelen van een aangetast dier en ook in de zwellingen veroorzaakt door enting, worden "corpuscules-germes" gevonden die de agentia zijn van de overbrenging van de ziekte.

Het is ongetwijfeld Willems' grote verdienste geweest dat hij van meet af aan een klaar en duidelijk standpunt heeft ingenomen wat de vijf eerste punten betreft en door zijn proeven ook experimenteel het bewijs ervan geleverd heeft in een periode waarin velen zelfs nog twijfelden aan de besmettelijkheid van de ziekte.

Hij bewees dat het variolatieprincipe ook kon toegepast worden op een ziekte die niets met pokken te maken had en zijn resultaten werden op vele plaatsen in de wereld onder uiteenlopende omstandigheden bevestigd. Hij wees het spontaan ontstaan van de ziekte af en wees erop dat ze telkens opdook langs de weg die besmette runderen volgden vanuit Hasselt naar de slachthuizen van Luik of andere steden.

Willems had ook gelijk als hij de oorzaak van de ziekte zag als een "virus" in de betekenis die toen aan deze term gegeven werd. De ziekte kon overgebracht worden door een "miasmatisch virus" d.i. virus uitgedemd door een ziek dier, of door "virus fixe" d.i. virus dat uit een zieke long kon genomen worden en met een lancet overgebracht.

Zijn zesde bewering was echter verkeerd en verdient een nadere analyse.

In zijn eerste publicatie beschreef Willems het voorkomen van lichaampjes in de longen. Hij had ze geobserveerd bij een vergroting van  $\pm 500$ . Hij vond ze ook in de letsels op de entingsplaats; hij stuurde het materiaal naar Etienne Van Kempen, professor in Leuven, die het bestaan van de lichaampjes bevestigde. Dit leidde tot een debat in de Belgische Commissie. Willems werd uitgenodigd om een demonstratie te geven voor de commissie, waarin hij faalde. Gottlieb Gluge, professor in Brussel en Fallot, afgevaardigde van de Academie voor Geneeskunde dachten dat de lichaampjes pathologische producten van het infectieuze proces waren en niet-specifiek.

Toen een paar decennia later het werk van Koch en Pasteur over de microbiële etiologie van infectieziekten bekend raakte, contacteerde Willems in 1880 de Leuvense professoren Gustaaf Bruylants en Gustaaf Verriest. Zij beschreven de lichaampjes van Willems en Van Kempen als ovoïde microkokken, vonden ze in grote aantallen in aangetaste longen en kweekten ze in bacteriologische media. Op 23 april 1880 schreef Willems een brief aan Pasteur waarin hij hem zijn oordeel vroeg over de lichaampjes die hij geobserveerd had. Pasteur beantwoordde de brief op 29 juni waarin hij onder meer het volgende schreef: "*J'ai vu les très intéressants corpuscules que vous avez signalés autrefois et j'ai commencé quelques essais de culture, sans succes jusqu'à présent. Il est vrai que cette recherche est à peine en train. Vous l'avez entreprise depuis plusieurs mois déjà et le*

*bruit court que vous avez réussi. Il me tarde beaucoup de connaître les publications que vous ne manquerez pas de faire à ce sujet. En attendant je me félicite grandement de l'obligeance qu'à eue mon éminent confrère, M. Bouley, de me mettre en relation de correspondance avec vous dont j'avais appris à apprécier tout le mérite par votre belle découverte de l'inoculation préventive de la péripneumonie contagieuse.*"

Pasteur gelukte er echter niet in deze "corpuscules" in gewone media te kweken en maakte dit ook publiek bekend. Volgens hem waren de bacteriën van Bruylants en Verriest secundaire besmetters. Hierop volgde een levendig debat in de Academie voor Geneeskunde in Brussel tussen Jean-Joseph Crocq enerzijds en Bruylants, Verriest en Willems anderzijds, waarbij Crocq verwees naar de negatieve bevindingen van Pasteur.

Willems zelf bleef koppig vasthouden aan zijn thesis dat zijn lichaampjes van 1852 de oorzaak van pleuropneumonie waren. Hij heeft nooit toegegeven, zelfs na de ontdekking van het oorzakelijke mycoplasma door Nocard en Roux in 1898 dat hij deze kiemen onmogelijk kon gezien hebben in zijn microscoop in 1852.

Uit dit alles mogen wij concluderen dat Willems zeer verdienstelijk werk geleverd heeft op het gebied van de immunisatie in de dagen vóór Pasteur. Deze laatste was op de hoogte van het werk van Willems en dit is waarschijnlijk een aanmoediging geweest voor Pasteurs eigen proeven op het gebied van de immunisatie. Het toont immers aan dat de toepassing van preventieve enting niet beperkt was tot pokziekten zoals sommigen beweerden en dat het principe tot andere aandoeningen kon uitgebreid worden. Wij kunnen Willems dus zonder voorbehoud een pionier van de enting noemen. In vele landen werd hij hiervoor eervol vermeld en ook nu nog wordt zijn naam vaak vernoemd in artikels over longziekte. Hij is echter zeker niet de vader van de microbiologie zoals hij in sommige eulogische artikels genoemd werd.

Praktisch gezien werd zijn methode in verschillende landen gebruikt, eerst met longexsudaat of exsudaat genomen op de entplaats, later met in het laboratorium gekweekte mycoplasmen en afgezwakte culturen. In de geïndustrialiseerde wereld werd zijn methode reeds voor het eind van de negentiende eeuw verlaten omdat het efficiënter bleek de ziekte volledig uit te roeien door afslachten van besmette en verdachte dieren, maar zoals reeds gezegd wordt zij tot op heden nog steeds gebruikt in streken waar een efficiënte gezondheidspolitie onmogelijk uit te voeren is.

## LITERATUUR

Een uitgebreide literatuurlijst kan worden geraadpleegd in:

Huygelen C. (1997). Louis Willems (1822-1907) and the immunization against contagious bovine pleuropneumonia, an evaluation. *Verhandelingen van de Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België* 59, 237-285.

## DE OVERLEVING VAN SPERMA IN DE EPIDIDYMIS VAN DE STIER: EEN MODEL VOOR SPERMAOPSLAG IN VITRO?

I. De Pauw, A. Van Soom, S. Verberckmoes, A. de Kruif

Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde  
Faculteit Diergeneeskunde, RUG  
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

### SAMENVATTING

Spermatozoa of geslachtscellen van het mannelijk dier ondergaan een reeks veranderingen, vanaf het ogenblik van hun ontstaan als een sferisch spermatide in de testis tot hun versmelting met een eikel in de eileider van het vrouwelijk dier. Deze veranderingen zijn van morfologische, chemische en metabolische aard. Tegelijkertijd treedt er een verandering op in de motiliteit van de spermacellen, in de densiteit van het DNA in de spermakop en in de permeabiliteit van de spermamembraan.

Dit overzichtsartikel gaat over de rol die de epididymis speelt in de controle van de spermafunctie en over de omstandigheden waarin het sperma in de epididymis opgeslagen wordt.

### INLEIDING

Het leefbaar houden van sperma is van cruciaal belang bij het toepassen van kunstmatige inseminatie. Ingevroren sperma kan theoretisch onbeperkt bewaard worden (Leibo *et al.*, 1994), terwijl vers stiersperma in een aangepaste verdunner slechts gedurende een drietal dagen zijn bevruchtend vermogen behoudt (Vishwanath en Shannon, 1997). Dit is lang niet genoeg om een volwaardig alternatief te vormen voor ingevroren sperma. Het voordeel van vers sperma is echter dat de dosis nodig voor inseminatie tot tienmaal lager ligt dan die van ingevroren sperma (Holt, 1997; Vishwanath en Shannon, 1997). De reden hiervoor is dat ingevroren spermacellen beschadigingen kunnen oplopen door het proces van invriezen en ontdooien. Hierdoor gaan er meer spermacellen verloren en moeten er meer geïnsemineerd worden om dezelfde bevruchtingsresultaten te bekomen.

Indien de bewaartijd van vers sperma *in vitro* verlengd zou kunnen worden tot één week, zou vers sperma op de plaatselijke markt gebruikt kunnen worden en ingevroren sperma voor de export. Terwijl het langdurig bewaren van vers sperma buiten het lichaam nog niet mogelijk is, kan in de epididymis van de stier het sperma gedurende meerdere weken opgeslagen worden zonder verlies aan motiliteit en bevruchtingscapaciteit (Bishop en Walton, 1960). Dit maakt van de epididymis een interessant model voor de studie van het bewaren van sperma *in vitro*.

Dit artikel heeft tot doel een overzicht te geven van de typische fysiologie van de epididymis en na te gaan of deze kennis gebruikt zou kunnen worden voor het

bewaren van sperma *in vitro* zonder het in te vriezen. Hiertoe zullen achtereenvolgens de volgende punten overlopen worden.

1. de anatomie van de epididymis
2. de functies van de epididymis
3. de specifieke bewaarcondities in de epididymis
4. de invloed van de biochemische componenten van het caudaal epididymaalplasma (CE-plasma) op de rusttoestand van het sperma.

### DE ANATOMIE VAN DE EPIDIDYMIS

Sperma wordt gevormd in de testis, meer bepaald in de tubuli seminiferi of zaadbuisjes. De testes bevinden zich bij de meeste zoogdieren in het scrotum, buiten de buikholte, waardoor het sperma bij een lagere temperatuur dan de lichaamstemperatuur gevormd en bewaard wordt (Setchell, 1998). De tubuli seminiferi bevatten de spermatogonia die instaan voor de productie en de differentiatie van spermatocyten in spermatiden en uiteindelijk in spermatozoa. Centraal worden de gevormde spermatozoa afgevoerd in het rete testis dat aan de dorsale zijde overgaat in de ductuli efferentes of afvoerbuisjes. Deze afvoergangen verenigen zich in het bijbalkanaal of ductus epididymidis. Vanaf hier spreken we van de epididymis (Fig. 1). Deze sterk gekronkelde afvoergang is bij de stier 45 m lang en wordt ingedeeld in drie delen: het caput, het corpus en de cauda. Het caput ligt dorsaal op de testis, lateraal van de zaadstreng en vormt een compacte massa die vaster aanvoelt dan het testisweefsel. Het caput gaat langs de caudale zijde over in het corpus, een platte streng die moeilijk te palperen is en distaal verder loopt