



De lichaampjes van Guarnieri

<https://hdl.handle.net/1874/300646>

4.9.1905 1931

DE LICHAAMPJES VAN GUARNIERI

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT

A. W. POT

DE LICHAAMPJES VAN GUARNIERI

DE LICHAAMPJES VAN GUARNIERI

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN
GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,
OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS
JHR. MR. B. C. DE SAVORNIN LOHMAN, HOOG-
LEERAAR IN DE FACULTEIT DER RECHTS-
GELEERDHEID, VOLGENS BESLUIT VAN DEN
SENAAT DER UNIVERSITEIT, TEGEN DE
BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER
GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP DINSDAG
13 JANUARI 1931, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR,

DOOR

ARNOLDUS WILHELMUS POT
ARTS, GEBOREN TE 's-GRAVENHAGE

□

VAN GORCUM & COMP. N.V.
ASSEN

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT

AAN DE NAGEDACHTENIS MIJNER OUDERS.
AAN MIJN VROUW.

Het verschijnen van dit proefschrift is mij een welkome gelegenheid om de Hoogleeraren, Oud-Hoogleeraren, Lectoren, Oud-Lectoren en Privaat-Docenten van de Geneeskundige en Natuurphilosophische Faculteiten der Leidsche Hoogeschool te danken voor het van hen ontvangen onderwijs.

Hooggeleerde Aldershoff, voor Uwe bereidwilligheid om als mijn Promotor te willen optreden, voor Uwe belangstelling in mijn werk en voor de onbekrompen wijze, waarop Gij het benoodigde materiaal te mijner beschikking steltet, ben ik U grooten dank verschuldigd.

Hooggeleerde Tendeloo, U dank ik zeer, niet alleen voor hetgeen ik van U leeren mocht gedurende de jaren, waarin ik Uw assistent was, maar niet minder voor de hartelijke belangstelling en hulp, in woord en daad, die ik steeds, ook na dien tijd, van U heb mogen ondervinden.

Moge de Algemeene Ziektekunde, zooals Gij die onderwijst, de hechte grondslag blijven vormen voor mijn verdere ontwikkeling!

Zeergeleerde Van Kerckhoff, omstandigheden, van Uw en mijn wil onafhankelijk, maakten te spoedig een einde aan den leerzamen en aangenamen tijd, dien ik, als Uw assistent, aan de Polikliniek voor Huidziekten te Leiden doorbracht. Ik blijf U erkentelijk voor de gelegenheid, die Gij mij geeft, onder Uwe leiding een onderdeel der Geneeskunde practisch te beoefenen.

Zeergeleerde Pondman, Brandwijk en Tasman, onze samenwerking aan het Rijksserologisch Instituut zal ik niet licht vergeten. Dat Gij, Waarde Pondman, den tijd hebt kunnen vinden, om fotogrammen voor mij te vervaardigen, stemt mij tot dankbaarheid.

Het Personeel van het Instituut, in het bijzonder U, geachte Mejuffrouw de Graaff en ervaren de Vries, dank ik voor de opgewekte en onvermoeide hulp, mij steeds betoond.

INHOUD.

	Blz.
Inleiding	9
Hoofdstuk I: Hoornvliesentingen met vaccine van verschillende herkomst	14
„ II: Hoornvliesentingen met materiaal ver- zameld bij lijders aan pokken („alas- trim”)	27
„ III: De specificiteit der lichaampjes van Guarnieri	32
„ IV: Over de eigenschappen en het wezen der lichaampjes van Guarnieri	56
„ V: De hoornvliesenting in de practijk. .	75
Résumé en français	81
Literatuuropgaven	83

INLEIDING.

Onder die onderwerpen op geneeskundig gebied, die in de laatste jaren de belangstelling zoowel van den leek als den geneeskundige trekken, nemen de pokziekte en hare voorbehoeding, de vaccinatie, een voorname plaats in.

Zoowel de veelvuldige gevallen van hersenontsteking na inenting, als de pokkenepidemie van 1929, hebben althans deze goede zijde, dat ze tot hernieuwd onderzoek dwingen van een ziekte, waarvan de verwekker onbekend is, en van een inenting, die men volmaakt waande.

Men mag verwachten, dat een zóó krachtig aangevat onderzoek, zij het ook misschien eerst in verre toekomst, tot werkelijke vermeerdering onzer kennis voeren zal.

Daar ik in het Rijksserologisch Instituut van nabij een deel van dit werk mee mocht maken en ik een vrij groot aantal met vaccine- en variolavirus besmette hoornvliezen onderzocht, lag het voor de hand te trachten iets meer te weten te komen omtrent de beteekenis van de eigenaardige insluitsels, die hierbij in de epitheelcellen kunnen worden waargenomen. Deze insluitsels, de lichaampjes van GUARNIERI, werden reeds vóór hem in 1874 door WEIGERT, die zich echter van een verklaring van het verschijnsel onthield, in de huid gezien.

GUARNIERI onderzocht, uitgaande van het werk van VAN DER LOEFF (1886) en L. PFEIFFER (1887), die beiden meenden in de inhoud van pokpuisten protozoën ontdekt te hebben, huid en slijmvliezen van aan variola gestorvenen.

In sommige epitheelcellen nam hij lichaampjes waar, die een, met kernkleurstoffen kleurbaar, centrum en een zéér moeilijk kleurbaar „cellijf” hadden, waarin soms fijne korreltjes lagen.

GUARNIERI meende, dat deze vormsels bij een temperatuur van 38° — 40° C. amoëboïde bewegingen uitvoerden, dat ze het protoplasma van de geïnfecteerde cel verteerden en dat ze zich vermeerderden door deeling. Hij kwam op grond van deze waarnemingen tot de overtuiging, dat hij met organismen, protozoën, te maken had.

Dat de lichaampjes Guarnieri's naam zullen vereeuwigen, is aan twee omstandigheden te wijten:

1. GUARNIERI meende hiermee den verwekker der pokziekte, den cytorhyctes variolae resp. vaccinae gevonden te hebben, wat méér dan Weigert's eenvoudige beschrijving de aandacht moest trekken.

2. GUARNIERI gaf de enting van het konijnenhoornvlies als methode van onderzoek aan. In de huideruptie is hun aantal gering; de waarneming wordt gestoord door de sterke ontstekingsverschijnselen; in sommige cellen komen ook normaliter, zich met kernkleurstoffen kleurende deeltjes voor, die er mede verward kunnen worden. Ten opzichte van dit alles is de hoornvliesenting een groote vooruitgang. Na GUARNIERI'S eerste mededeelingen is over dit onderwerp een literatuur ontstaan, zóó uitgebreid, dat op dit oogenblik een volledig overzicht niet wel mogelijk is.

In deze inleiding zal ik me dan ook beperken tot het opsommen van de voornaamste hypothesen, die omtrent het wezen der lichaampjes zijn opgesteld.

Tegenover Guarnieri en zijn, in later jaren afnemend aantal, volgelingen, staan zij, die in de lichaampjes uitsluitend producten of tengevolge der infectie veranderde bestanddeelen van de epitheelcel zien (kernbrokjes, centrosomen, nucleoli, mitochondriën, ontaarde, chemisch veranderde deelen van het cytoplasma).

Afzonderlijke vermelding verdient in dit verband A. HUECKEL (1898), die aan een groot materiaal, de lichaampjes nauwkeurig bestudeerde en beschreef; later onderzoek heeft slechts weinig toe kunnen voegen aan zijn beschrijving. HUECKEL kwam tot de slotsom, dat deze vormsels uit het protoplasma van de cel ontstonden, dat tengevolge van gifwerking scheikundige veranderingen onderging.

SALMON, een leerling van METCHNIKOFF, en BORREL meenden dat de lichaampjes niets anders dan brokstukken van leucocytenkernen waren. Borrel is later tot een ander inzicht gekomen.

Een vierde theorie, „even moeilijk te bewijzen als te weerleggen” (Cowdry) is die van VON PROWAZEK: het lichaampje wordt gevormd rondom den verwekker, die de cel als „Elementärkörperchen” binnendringt, zich hierin vermeedert en tot „Initialkörperchen” wordt.

Het lichaampje, opgebouwd uit chromatine en plastine, is een „reactieproduct” van de cel, gevormd om den verwekker, die tot de groep der *chlamydozoën*, manteldiertjes, behoort.

Ook de verwekkers van het trachoom, de hondsdoelheid, het molluscum contagiosum en tal van dier- en planten-ziekten, waarbij in het ziekelijk veranderd weefsel insluitlichaampjes gevonden worden, rekende VON PROWAZEK tot deze groep. Deze *chlamydozoën* werden door LIPSCHÜTZ ondergebracht in de grootere groep der strongyloplasmen, zeer kleine, ronde, filtreerbare micro-organismen, al of niet aanleiding gevend tot het optreden van cel- of kerninsluitels.

In de latere, vooral de Duitsche, literatuur, vindt deze meening betrekkelijk veel aanhangers, vooral ook omdat ze zich ongedwongen laat vereenigen met de vondst van PASCHEN (1907), die in den inhoud van pokpuisten en in vaccinelymphe, $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ μ groote, ronde lichaampjes, soms in diplococvorm aantrof. VON PROWAZEK vereenzelvigde, na aanvankelijke aarzeling, deze lichaampjes van Paschen met zijn „Elementärkörperchen”.

VON WASIELEWSKI en WINKLER (1925) hebben de moeite genomen een tabel samen te stellen uit de namen van onderzoekers, de meeningen, die ze over de lichaampjes van Guarnieri hebben of hadden en de door hen gevolgde techniek. Hieruit blijkt, dat 21 auteurs 7 meeningen vertegenwoordigen.

Behalve als methode voor zuiver wetenschappelijk onderzoek heeft de enting van het konijnenhoornvlies ook beteekenis gekregen als titratiemethode van koepokstof en als hulpmiddel ter aantooning van vaccine- en variolavirus.

COUNSILMAN (1904), JÜRGENS (1905), ALDERSHOFF (1906), PASCHEN (1911), MAIZINGER in Kraus' en Brugsch' handboek (1913) raadden krachtig de enting van de cornea aan met puistinhoud in alle gevallen, waarbij de diagnose „pokken” twijfelachtig is.

Ter vereenvoudiging van het microscopisch onderzoek der hoornvliezen en ter bespoediging der diagnose werd van verschillende zijden (o.a. Aldershoff, von Wasielewski) aangeraden het epitheel er af te krabben en uitsluitend dit afkrabsel te kleuren en te onderzoeken.

PAUL (1915) meende zelfs elk histologisch onderzoek te kunnen missen en, gebruik makend van het, reeds lang

vóór hem o.a. aan HUECKEL bekende, verschijnsel, dat vario-la-papels in sublimaatalcohol veel sneller ondoorschijnend worden dan de onveranderde cornea, de diagnose te kunnen stellen op het macroscopisch uiterlijk van het hoornvlies (z.g. proef van Paul).

In 1918 heeft hij moeten bekennen, dat hij hiermede wel wat te ver gegaan is.

In Hoofdstuk V zal hierop nog nader worden ingegaan.

Dit onvolledig overzicht, wil ik besluiten met een enkel woord omtrent de gevolgde nomenclatuur:

Wanneer zal men intracellulaire vormsels „lichaampjes van Guarnieri” noemen?

De meeste schrijvers wagen zich niet aan een definitie. HUECKELS' omschrijving: „Als Vaccinekörperchen bezeichne ich kurzweg jene bei Vaccine in den Epithelzellen der epidermalen Efflorescenz vorkommenden Gebilde, welche als eigenthümliche Zelleinschlüsse bei dieser Affection schon von anderen Forschern bemerkt worden sind und mannigfache Deutungen erfahren haben” is door haar vaagheid onbruikbaar.

In een tijd toen men het over de vormen der lichaampjes van Guarnieri nog niet eens was, was een dergelijke vaagheid onvermijdelijk.

UNGERMANN en ZUELZER vatten als lichaampjes van Guarnieri die insluitsels op, die rond zijn, zich met kernkleurstoffen kleuren, de celkern indeuken of vervormen, en met een hofje omgeven zijn.

De lichaampjes kunnen echter zeer onregelmatige vormen hebben, ze kleuren zich niet altijd met kernkleurstoffen (met het methyblauw-eosinemengsel van Mann bijvoorbeeld kleuren de lichaampjes zich rood, de kernen blauw), ze liggen soms vrij ver van de kern verwijderd, zonder deze in te deuken en het omgevend hofje is zeer waarschijnlijk een kunstproduct. Beschouwt men echter de lichaampjes zooals ze zich voordoen in op de gebruikelijke wijze geharde, en in celloïdine of paraffine ingesloten weefselsneden die, bijvoorbeeld met ijzerhaematoxyline gekleurd zijn, dan gaat de definitie van UNGERMANN en ZUELZER, afgezien van de door hen geëischten ronden vorm, vrijwel op.

Met deze beperkingen zal ik me in de volgende bladzijden aan hunne definitie houden, waarbij ik me bewust ben,

dat ze te eng getrokken is: de lichaampjes, die ver van de kern liggen en deze niet indrukken, vallen er buiten. Wil men echter de specificiteit der lichaampjes onderzoeken, dan is het noodzakelijk de grenzen nauw te trekken, bij entingen met andere stoffen te zoeken naar lichaampjes, die aan deze, feitelijk te strenge, morphologische eischen voldoen.

De door LIPSCHÜTZ o.a. in het „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen” van KOLLE, KRAUS en UHLENHUTH (3de druk 1930) gegeven definitie van celinsluitsels in het algemeen: „Cellulaire Reaktion auf das eingedrungene spezifische Virus” tracht het „wezen”, niet den vorm en kenmerken der insluitsels te bepalen. „Celinsluitel” is volgens LIPSCHÜTZ dan ook veel meer een „biologisch” dan een morphologisch begrip. Maar alvorens het „wezen” dier lichaampjes te onderzoeken is het toch gewenscht tot overeenstemming te komen over hun vorm en kenmerken: aan elke definitie van het wezen moet m.a.w. eene morphologische voorafgaan. Alle vormsels, niet door „het specifieke virus” verwekt, die — LIPSCHÜTZ geeft dit toe — soms bedriegelijk op „echte” insluitsels kunnen gelijken, vat hij bij voorbaat samen onder de groep „pseudo-insluitsels”.

Met de term „vaccine” wordt de smetstof in het algemeen bedoeld, als tegenstelling tot variolavirus, dus ook dan, wanneer het materiaal niet van het rund, maar van een andere diersoort is verzameld.

Onder dermovaccine wordt de van de huid van het rund, onder testilapine de uit den teelbal, onder neurolapine de uit de hersenen van een konijn gewonnen smetstof verstaan.

HOOFDSTUK I.

HOORNVLIESENTINGEN MET VACCINE VAN VERSCHILLENDE HERKOMST.

Met vaccinevirus van welke herkomst ook, mits in zekere hoeveelheid en van zekere virulentie, is het mogelijk lichaampjes van Guarnieri in het konijnenhoornvlies op te wekken.

Onverschillig is het in dit opzicht of men hiertoe de, door verschillende koepokinrichtingen afgeleverde, met glycerine verdunde dermovaccine, dan wel testilapine, neurolapine, of vaccine in hersenen of testes van apen „gekweekt” aanwendt¹⁾.

Bestaan er echter constante verschillen in het tijdstip van verschijnen, het aantal, de vorm der lichaampjes van Guarnieri, afhankelijk van de verschillende herkomst van het virus?

Ent men een cornea met eenig materiaal, om na te gaan of hierin koepokstof aanwezig is, dus met uitsluitend diagnostisch doel, dan kan men hierover geen juiste gegevens verzamelen, aangezien men in het onzekere verkeert omtrent de hoeveelheid en virulentie der vaccine in het uitgangsmateriaal aanwezig.

Om de gestelde vraag te beantwoorden, zou het noodzakelijk zijn, te enten met gelijke hoeveelheden der stoffen van gelijke virulentie en het histologisch beeld te vergelijken van even „oude” corneae.

Aan dezen eisch is slechts onvolkomen te voldoen; om „de sterkte” eener koepokstof te meten, staan uitsluitend verdunningsmethoden ter onzer beschikking.

Stelt men zich een vaccinevirus voor als te bestaan uit een zeker aantal zeer kleine, levende deeltjes, dan moet men, evenals bij een bacteriesuspensie, onderscheiden:

1^o. het aantal deeltjes per volumeneenheid.

2^o. de gemiddelde virulentie der deeltjes.

¹⁾ S.T. en E. Sørensen (1925) zagen bij 28 konijnen slechts 21 maal Keratitis, en 14 maal lichaampjes van Guarnieri, ondanks herhaalde entingen met dermovaccine. Een dergelijk pover resultaat heb ik overigens nergens in de literatuur vermeld gevonden.

Nu is het wel duidelijk, dat men door verdunnen alléén, wél invloed op de concentratie, maar zonder meer niet op de gemiddelde virulentie kan uitoefenen. Hetzelfde geldt overigens ook, als men het virus als een contagium fluidum beschouwt, hetgeen door BEYERINCK voor het virus van de mozaïkziekte van de tabak werd aangenomen.

Dat dit geen „graue Theorie” is, bemerkt men, als men naast elkander een dermovaccine en bijvoorbeeld, een neurolapine titreert volgens de methode van GROTH.

Deze bestaat hierin dat men van verschillende verdunningen der koepokstof telkens 0.1 c.m³. in de geschoren huid van een hoogstens acht maanden oud, albino-konijn spuit en na twee en zeventig uur nagaat, welke verdunning nog juist een zichtbaar en voelbaar knobbeltje geeft. Deze verdunning zou dan een maat zijn voor de „sterkte” der koepokstof.

Vergelijkt men nu de neurolapine-papeltjes met die, door dermovaccine verwekt, dan ziet men dat de eerste later verschijnen, vlakker blijven en ook, bij de sterkste verdunningen, in het midden een roodpaarsche kleur krijgen. Histologisch overwegen hier versterf van het weefsel en bloeding, terwijl bij de dermovaccine-papels vooral een ophoping van gelobdkernige leucocyten op den voorgrond treedt. Afgezien van andere factoren, kan dit onderscheid het gevolg zijn van verschillende virulentie van beide stoffen. Zeker is het géén bijzondere eigenschap van de neurolapine. Ook de zeer „sterke” Japansche vaccine (Instituut Kitasato) geeft, in de huid van het albino-konijn gespoten, versterf en bloeding.

WERKWIJZE.

Teneinde nu de vraag naar het tijdstip van verschijnen, aantal, vorm en grootte der lichaampjes van Guarnieri na enting met verschillende koepokstoffen na te gaan, koos ik twee in het Rijksserologisch Instituut aanwezige dermovaccines n.l. Amsterdamsche koepokstof (43/25) en Japansche uit het Instituut Kitasato, een neurolapine n.l. den, door hersenpassage voortgekweekte, oorspronkelijk van Gallardo afkomstigen stam (Gallardo No. 23) en een testilapine, verkregen door enting van dermovaccine in den teelbal van een konijn

en vijfmaal van testis op testis overgezet (Testilapine No. 6).

Van de beide laatste stoffen werd een suspensie vervaardigd met negen volumendeelen glycerine.

Met geringe wijziging titreerde ik deze stoffen volgens GROTH; omdat bij intracutane inspuiting nu en dan onvermijdelijk wel eens een beetje vloeistof of langs de naald of langs den zuiger van den injectiespuit teruggedreven wordt, verhoogde ik de nauwkeurigheid door 0.2 c.m.³ in te spuiten; kleine fouten hebben dan minder invloed op het resultaat.

Zóó doende, vond ik als verdunning die na 72 uur nog juist een voelbaar en zichtbaar knobbeltje veroorzaakte voor de Amsterdamsche 1/10000, voor de Japansche dermo-vaccine 1/75000, voor de neurolapine 1/90000, voor de testilapine 1/8000.

Vóór de enting werden nu van al deze stoffen gebruiksverdunningen gemaakt met physiologisch zoutwater, de „zwakste” stof, de testilapine werd in de verdunning 1 : 10 gebruikt; bij $\frac{1}{2}$ c.m.³ Japansche lympe werd 46,4, bij $\frac{1}{2}$ c.m.³ Amsterdamsche koepokstof 5.75, bij $\frac{1}{2}$ c.m.³ neurolapine, die in een suspensie van 1 : 10 ter beschikking stond, 5,1 c.m.³ physiologisch zoutwater gevoegd.

Met elk dezer verdunningen werden zes hoornvliezen geënt, die resp. na 6, 12, 24, 36, 48 en 72 uur onderzocht werden.

De scarificatie der hoornvliezen gebeurde onder plaatselijke gevoelloosheid of, wat een enkele maal door de weerspanningheid van het dier noodig bleek, onder aethernarcose.

Nadat de oogbol buiten de oogholte gebracht was, werden met een door VON WASIELEWSKI aangegeven instrument, dat het beste met een harkje vergeleken kan worden, gekruiste, vrij oppervlakkige, entstrepn over het hoornvlies aangebracht en van de verdunde koepokstof 1/10 c.m.³ in deze entstrepn ingewreven.

Tegenover het maken van epitheelzakjes in de cornea, de methode, die GUARNIERI, VON SICHERER, VON WASIELEWSKI, ALDERSHOFF e.a. toepasten, heeft deze wijze van doen vóór, dat ze eenvoudiger is. Wil men het resultaat van vele entingen met elkander vergelijken, dan heeft ze bovendien het groote voordeel, dat ze regelmatig over het oppervlak van het hoornvlies verdeelde en bij eenige oefening,

ook gelijk diepe entstrepen geeft; hoewel ik het niet probeerde, lijkt me het aanbrengen van gelijk groote en gelijk diepe epitheelzakjes technisch veel moeilijker.

De enucleatio bulbi had plaats onder algemeene narcose. Vóór het uitnemen van den tweeden oogbol werd het dier met chloroform gedood. Als fixatievloeistof maakte ik gebruik van het door BOUIN aangegeven mengsel, bestaande uit 1 deel ijsazijn, 5 deelen formaline en 15 deelen verzadigde waterige oplossing van picrinezuur.

Dit mengsel geeft aanmerkelijk betere resultaten dan de algemeen gebruikte sublimaatalcohol of verdunde formaline. Na harding werden de hoornvliezen ingesloten in celloïdine. Wel heeft de paraffine-methode het voordeel, dat men dunne sneden kan vervaardigen, ze heeft het nadeel, dat het weefsel veel sterker schrompelt; overigens gelukt het, na insluiting in celloïdine, wel zóó dunne coupes te snijden, dat ze ook met de olieimmersie bekeken, een duidelijk beeld leveren.

De in haar geheel ingesloten cornea werd gehalveerd; van de eene helft werden meerdere sneden evenwijdig aan, en loodrecht op het eerste sneevlak, van de tweede een aantal coupes, eveneens evenwijdig aan dit sneevlak, zoo dicht mogelijk langs den limbus corneae, onderzocht.

Als kleuring koos ik eene, die gemakkelijk en gelijkmatig in haar resultaten is en waarmede Guarnieri's lichaampjes uitstekend te onderscheiden zijn, namelijk de algemeen bekende methode van VAN GIESON, gewijzigd volgens WEIGERT; nadat de sneden 15—20 minuten in het telkens versch bereide mengsel van alcoholische haematoxyline oplossing en liquor sesquichlorat. gekleurd, en in water afgespoeld zijn, wordt als contrastkleuring zuurfuchsinepicrinezuur gebruikt; de celkernen, de lichaampjes van Guarnieri zijn dan zwart of grijs, het celprotoplasma geel, de collagene bindweefselvezels rood gekleurd.

Deze kleuring staat slechts weinig achter bij die van HEIDENHAIN, duurt korter en eischt minder moeite.

Evenals die van HEIDENHAIN geeft ze géén uitsluitel over den fijneren bouw van de insluitels, wat ook bij dit onderzoek niet noodig was. BOSC is, voor zoover ik na heb kunnen gaan, een der weinigen, die ook van deze kleur-methode gebruik maakte.

UITKOMSTEN:

Na 6 uur.

Geënt met testilapine.

Het stroma bevatte een gering aantal polymorphkernige leucocyten. Het epitheel was nergens verdikt. In elke snede 3 tot 4 kerndeelingsfiguren. De scarificaties hadden zich gesloten; de gescarificeerde plaatsen waren door geringe zwelling van epitheelcellen en kernen te herkennen.

Géén lichaampjes van Guarnieri.

Vlak onder en in het epitheel kwamen, voornamelijk in de buurt van den limbus corneae, weinige gelobdkernige leucocyten voor.

Geënt met Amsterdamsche vaccine.

Evenmin Guarnieri's.

Geënt met neurolapine-Gallardo.

Idem.

Geënt met Japansche dermovaccine.

Idem.

Na 12 uur.

Testilapine: In en tusschen de epitheelcellen, vooral dicht bij den limbus vrij veel gelobdkernige leucocyten, soms tot bizarre vormsels uitgerekt. Géén lichaampjes van Guarnieri. Geen verdikking van het epitheel.

Amsterdamsche vaccine: In elk der sneden enkele (2 tot 3) lichaampjes van Guarnieri, rond van vorm, $\pm 1 \mu$. in doorsnede, een enkele heeft den diplovorm.

Sommige epitheelcellen waren sterk gezwollen, waarschijnlijk ter plaatse der scarificaties.

Gering aantal kerndeelingsfiguren.

Voor al in het midden van de cornea vele gelobdkernige leucocyten in de epitheellaag; aan de limbuszijden méér in het stroma, slechts een enkele was in het epitheel gekropen.

Neurolapine-Gallardo: Géén lichaampjes van Guarnieri.

De enting was hier wat dieper uitgevallen, zoodat de oppervlakkige bindweefsellagen op enkele plaatsen verscheurd waren. In deze spleten gezwollen epitheelcellen. Om deze „epitheelzakjes” in het stroma vele gelobdkernige leucocyten. Ook hier leucocyten in het epitheel, tot tien per coupe. Kerndeelingsfiguren zeldzaam (grootste aantal per coupe 3). In het stroma van den limbus corneae vele gelobdkernige leucocyten.

Japansche dermovaccine: Géén lichaampjes van Guarnieri. Het epitheel hier en daar verdikt, hoofdzakelijk te wijten aan celzwelling.

Cel- en kernzwelling waren plaatselijk vrij sterk, waardoor de regelmatige laagsgewijze bouw van het epitheel verloren was gegaan. Op deze plekken enkele meerkernige reuscellen en cellen, die een andere epitheelcel geheel omsloten („Schachtelzellen”).

Rondom vele epitheelcelkernen hofvorming; in deze hofjes vaak een fijn protoplasma-netwerk. 'n Enkele maal had een kern een uitlooper, niet ongelijk aan een pseudo-podium van een amoebe.

Na 24 uur.

Testilapine: Tot 20 lichaampjes van Guarnieri per snede, meestal

rond, een enkele maal ellipsvormig, soms paarsgewijze liggend. Vaak ook een groote ronde, waarbij een zeer kleine. De doorsnede der ellipsvormige 3—4 μ . De ronde waren kleiner.

Tot 4 in één cel geteld. Ze lagen tot in de meest oppervlakkige, hoewel mééstal in de diepere cellagen.

Behalve deze insluitsels kwamen in de epitheellaag vele gelobdkernige leucocyten voor, waarvan de kern soms zeer lang uitgerekt was, zoodat sterk de indruk gewekt werd, dat deze bloedlichaampjes tusschen epitheelcellen dóórkropen. Meestal waren deze, ook wanneer ze, zooals enkele malen werd waargenomen, in de cel lagen, gemakkelijk van G's lich. te onderscheiden: altijd waren er wel enkele insluitsels, waarover ik in twijfel bleef verkeerden.

Pleksgewijze, juist daar waar het aantal insluitsels het grootst was, epitheelverdikking, die behalve aan celzwellings ook aan proliferatie was te wijten.

Het aantal kerndeelingsfiguren véél grooter, dan in jongere corneae, tot 20 per snede toe.

Hofvorming om de kernen zéér frequent.

Amsterdamsche vaccine: Tot 10 lichaampjes van Guarnieri per snede. Ronde lichaampjes overwogen in aantal, daarnaast enkele elliptische. De grootste hadden een middellijn van $\pm 3 \mu$.

In eene snede 20 tot 30 kerndeelingsfiguren.

In de epitheellaag vele gelobdkernige leucocyten.

Reuscellen lagen vooral in de meest oppervlakkige epitheelagen. „Schachtelzellen” kwamen in gering aantal voor.

Neurolapine-Gallardo: Het aantal lichaampjes van Guarnieri scheen iets kleiner te zijn dan in die met Amsterdamsche vaccine geënt. (Tot 6 per snede, in sommige coupes maar een 3-tal). Het grootste aantal in ééne coupe getelde kerndeelingsfiguren is 14.

Gelobdkernige leucocyten vooral aan den limbus corneae in het bindweefsel; enkele waren in het epitheel gekropen. 'n Enkele „Schachtelzelle”. Reuscellen kwamen in de onderzochte sneden niet voor.

Japansche dermovaccine: De verdeeling der lichaampjes was in dit hoornvlies blijkbaar zeer onregelmatig. In meerdere sneden kwamen er géén voor; in andere lagen groepsgewijze een tiental bijeen.

Behalve kleine ronde, diepzwart gekleurde, lichtere en grootere ($> 3 \mu$) van onregelmatige sikkels- of halvemaanvorm.

In enkele cellen ronde, in een vacuole gelegen homogene, geel gekleurde vormsels, die de celkern tot een halvemaan inbochtten. Enkele reuscellen en „Schachtelzellen”.

Duidelijke epitheelverdikkingen; juist hier kwamen Guarnieri's voor.

Na 36 uur.

Testilapine: Het epitheel was op meerdere plaatsen sterk verdikt, soms waren 10 cellagen te tellen. Het aantal kerndeelingsfiguren was geringer dan in de 24 uur oude sneden, n.l. 5 tot 10. Ook het aantal leucocyten, dat in epitheel en bindweefsel lag, was geringer.

Het aantal lichaampjes van Guarnieri was op de verdikte epitheelgedeelten niet te tellen: b.v. 25 per gezichtsveld (olieimmersie Zeiss $\frac{1}{12}$, oculair Zeiss 10 $\times$).

De vorm was zeer verschillend; naast kleine ronde of nagenoeg ronde, kwamen grootere driehoekige, sikkelvormige, staaf- en knotsvormige voor. De kleinere lagen wel eens wat verder van de kern af; de grootere platten deze af of drukten haar in. Als grootste doorsnede werd $5\ \mu$ gemeten. De grootere lagen meestal afzonderlijk; de kleinere vaak bij meerdere (3—4) in één cel.

In het algemeen lagen de kleinere meer aan de randen van de epitheelverdikkingen, de grootere meer in het midden.

In het epitheel kwamen weer per snede een gering aantal (b.v. 4 of 5) leucocyten voor. Soms duidelijk in een epitheelcel, soms blijkbaar intercellulair gelegen.

In de uiterste perifere gedeelten van het hoornvlies was de epitheelverdikking zwakker, het aantal insluitlichaampjes geringer.

Amsterdamsche vaccine: Deze sneden onderscheidden zich in geen enkel opzicht van die, uit de met testilapine geënte, even oude cornea.

Neurolapine Gallardo: Wat Guarnieri's lichaampjes betreft, als boven.

Hier en daar holtevorming in het epitheel; ook een sterk intercellulair oedeem, waardoor de celgrenzen en intercellulaire bruggen abnormaal duidelijk waren.

Japansche dermovaccine: Als boven. In enkele epitheelcellen, ronde, geelgekleurde lichamen, $4-5\ \mu$ in doorsnede, op hun beurt met ijzerhaematoxyline zwart gekleurde kernbrokjes bevattend: „Schachtelzellen”, waarvan de omsloten cel albumineus ontaard is.

Na 48 uur.

Testilapine: De epitheellaag was bijna overal ongeschonden aanwezig, de breede verdikkingen werden door smalle onverdikte gedeelten gescheiden.

Ontelbare, meestal groote, zwak gekleurde, onregelmatige lichaampjes van G., naast een gering aantal kleine ronde intens zwart gekleurde.

Enkele „Schachtelzellen”.

Het aantal kerndeelingsfiguren bedroeg hoogstens 7 per snede.

Het aantal gelobdkernige leucocyten was zoowel in het epitheel, als in het stroma zeer gering, b.v. 1—2 in de epitheellaag.

Hier en daar beginnende epitheelafschilfering; gezwollen, afgeronde cellen lagen los van de onderlaag, buiten, maar nabij het hoornvliesoppervlak.

Amsterdamsche vaccine: Onderscheidde zich van de voorgaande in geen enkel opzicht; de afschilfering was op een enkel plekje zóóver gegaan, dat het epitheel geheel verdwenen was; onder deze plekjes vrij veel gel. leucocyten in het bindweefsel, die elders zeer zeldzaam waren. Deze plekjes werden beiderzijds begrensd door sterk verdikt epitheel, waarin ontelbare, meestal groote, lichaampjes van Guarnieri, welke ook waren te zien in sommige afgeschilferde cellen.

Enkele „Schachtelzellen”, waarvan zoowel de omsloten als de omsluitende cel soms Guarnieri's bevatten.

Eenige meerkernige reuscellen.

Neurolapine-Gallardo: In tegenstelling met de voorgaande, „even

oude" corneae, vrij veel leucocyten *in* het epitheel, waarin hier en daar ook holtetjes, met een korrelige detritusmassa gevuld, voorkwamen. De leucocyten waren vooral daar opgehoopt, waar het epitheel afschilferde. Hier en daar tusschen epitheel en bindweefsel een homogene, geel gekleurde massa: sereus vocht.

Lichaampjes van Guarnieri alsvoren.

Japansche dermovaccine: Ook hier holtetjes en spleetjes in het epitheel: celgrenzen opvallend duidelijk.

Reuscellen in groot aantal; nog geen epitheelafschilfering.

Lichaampjes van Guarnieri alsvoren; in sommige cellen, vooral in de bovenste of middelste lagen zeer vele fijne zwarte korreltjes; de vorm van deze deeltjes was soms rond, soms meer staafvormig; de grootste waren met een hofje omgeven; uiteengevallen lichaampjes van Guarnieri (?).

Na 72 uur.

Testilapine: Epitheelaafschilfering sterker dan in het 48 uur oude hoornvlies; onder de van epitheel beroofde plekken vele leucocyten in het bindweefsel.

Holtevorming in het epitheel, welke holten soms met een korrelige detritus gevuld waren, soms een enkele gelobdk. leucocyt bevatten.

Prachtige reuscellen met een ontelbaar aantal kernen en 6—12 lichaampjes van Guarnieri.

Amsterdamsche vaccine: In het centrum van het hoornvlies was het epitheel, op enkele schamele resten na, afgestooten; in de periferie was het nog grootendeels aanwezig; holtevorming in het epitheel.

Lichaampjes van Guarnieri: geen verschil met de 48 uur oude cornea.

Neurolapine Gallardo: Het epitheel ook hier grootendeels afgeschilferd: bij den limbus corneae bedekt een fibrinebeslag het van epitheel beroofde bindweefsel, dat vele gelobdk. leucocyten bevatte.

Lichaampjes van Guarnieri alsvoren.

Japansche vaccine: Ook hier verregaande epitheeldesquamatie; geen verschillen met de vooraangaande „even oude" hoornvliezen.

Tracht men aan de hand van deze resultaten, de in het begin van dit hoofdstuk gestelde vraag te beantwoorden, dan kan dit antwoord slechts ontkennend luiden: opvallende verschillen bestonden er tusschen de met verschillende entstoffen geënte hoornvliezen niet; het vroegst na de enting werden de insluitlichaampjes waargenomen in de met Amsterdamsche vaccine geënte cornea (12 uur); na 24 uur kwamen ze in alle voor.

Na 36, 48, 72 uur waren tusschen het aantal, de vorm, de grootte der lichaampjes in de verschillende hoornvliezen géén, tusschen de overige veranderingen slechts onbeduidende kwantitatieve verschillen te zien.

Ons allereerst tot de lichaampjes van Guarnieri bepalend: we vonden al die vormen, welke door anderen beschreven

zijn: ronde, ovaalronde, halter-, knots-, sikkelvormige lichaampjes: in de „jongste” corneae kleine, ronde en intens zwart gekleurde, later grootere, onregelmatige en minder sterk gekleurde; daar waar de epitheelverdikking het sterkst is, kwamen de grootste, aan de randen kleinere voor. De eerste stelselmatige opsomming dezer vormen danken we aan HUECKEL (1898).

Sommige auteurs o.a. HUECKEL, VICTOR SCHÜTZ namen waar, dat de lichaampjes van Guarnieri na verloop van enkele dagen uiteen vielen. Dit was in de boven beschreven hoornvliezen slechts hooge uitzondering (Japansche vaccine 48 uur); de gewone gang van zaken was deze, dat epitheelcellen met de onveranderde insluitlichaampjes afschilferden. Niet onwaarschijnlijk speelt hier een verschil in techniek een rol. HUECKEL, entte het hoornvlies met fijne naaldenprikjes, VICTOR SCHÜTZ in epitheelzakjes; het prolifererend epitheel hoopt zich hierbij ten deele veilig op in het steekkanaal, bij de gekruiste oppervlakkige scarificaties puilt het veel sterker boven het oppervlak van het hoornvlies uit, wat de afschilfering ten goede komt; het epitheel kan al afschilferen vóór de lichaampjes uiteenvallen.

Het tijdstip, waarop de lichaampjes na de enting het eerst te zien zijn, wordt door verschillende schrijvers zéér verschillend opgegeven; ongedwongen wordt dit verklaard door de uiteenlopende „sterkte” der gebruikte vaccine, maar slechts ten deele. E. PFEIFFER (1895) gaf aan na 6 uur reeds insluitlichamen te hebben waargenomen; de afbeeldingen die hij hiervan gaf, laten groote plumpe vormsels zien, die we op het oogenblik zeker niet meer voor vaccine-lichaampjes zouden houden: evenmin is mij duidelijk, wat deze vormsels wél zijn, misschien uit de entstof afkomstige deeltjes (?).

HUECKEL, VON WASIELEWSKI en VON PROWAZEK zouden zelfs na 3 uur al lichaampjes van Guarnieri ontdekt hebben.

Volgens GORINI en BOSC valt het tijdstip, waarop ze verschijnen samen met dat, waarop een begin van celproliferatie waar te nemen is. ALDERSHOFF nam ze in 8 uur oude hoornvliezen niet, in 16 uur oude wél waar, hetgeen met mijn waarnemingen vrijwel overeenstemt.

Hoewel met betrekking tot de gestelde vraag het resultaat negatief was, bood dit onderzoek de gelegenheid om in enkele

proevenreeksen het beloop van de hoornvliesenting stap voor stap na te gaan.

Vat men de waargenomen verschijnselen samen, dan kan men zeggen, dat zwelling van epitheelcellen ter plaatse van de scarificatie en een indringen van gel. leucocyten in het bindweefsel en epitheel de eerste verschijnselen zijn.

Opvallend is daarbij, hoe weinig na 6 uur van de scarificaties zelf te zien is; nergens is de continuïteit van het epitheel verbroken.

De immigratie van leucocyten, die aan den omtrek van het hoornvlies het sterkst is, neemt nog toe; een groot aantal leucocyten kruipt tusschen en in de epitheelcellen. Testilapine en neurolapine, entstoffen dus, die in vergelijking met dermovaccine slechts een gering aantal bacteriële kiemen bevatten, maken hierop geen uitzondering. Al héél gauw (6—12 uur) ziet men teekenen van epitheelproliferatie: n.l. kerndeelingsfiguren.

Wanneer deze epitheelvermeerdering haar hoogtepunt bereikt heeft en tot sterke epitheelverdikking (tot 10 lagen boven elkander) aanleiding heeft gegeven, is het aantal leukocyten geringer dan tevoren.

Het aantal neemt weer toe, wanneer later het epitheel afschilfert; onder de van epitheel beroofde plekken vindt men een haardsgewijze leucocytenophooping.

Een ander opvallend verschijnsel is het toenemend oedeem van het epitheel; in de cellen tot vacuole- en hofvorming leidend, tusschen de cellen zich uitend in het ontstaan van overbrugde spleetjes, en holtetjes, waarin soms ook een enkele leucocyt is gedrongen; dat de desquamatie hierdoor bevorderd wordt, is zeer waarschijnlijk.

Wel is duidelijk, dat naast de proliferatieve en regressieve veranderingen, de exsudatieve geenszins ontbreken. Men kan dit proces dus niet anders dan een ontsteking noemen.

Van vele zijden wordt en werd dit bestreden: o.a. door BOSC, BORREL, PAUL en LIPSCHÜTZ.

Bosc meende, dat de verwekker van de vaccinia een protozoön was, het plasmodium vaccinae. Dit plasmodium zou géén ontsteking, maar een zuivere celproliferatie veroorzaken: „La réaction de l'organisme devant le virus est tout à fait spéciale et se traduit par une prolifération cellulaire

pure, karyokinétique et de type néoplasique, *sans trace de processus phlegmasique banal*".

BORREL, deelde variola en vaccinia in bij zijne „*épithélioses infectieuses*” en zocht verband tusschen deze „*épithélioses*” en de blastomen.

PAUL, die in 1915 de, na enting van variola-virus op het hoornvlies verschijnende, epitheelheuveld nog als „*hardvormige nekrose*” beschreef, gebruikte later de, waarschijnlijk aan BORREL ontleende, term „*épithéliose*”.

Wanneer in het hoornvliesbindweefsel leucocyten voorkomen, dan zou dit, volgens PAUL, wijzen op een menginfectie. Hoewel onmiddellijk aan Paul toegegeven moet worden dat bacteriële verontreinigingen b.v. staphylococcen tot sterke leucocyten-immigratie aanleiding kunnen geven, zal het toch in verband met de boven beschreven histologische beelden, in een gegeven geval wel ondoenlijk zijn uit te maken, wanneer we *wel* of wanneer we *niet* het recht hebben een menginfectie aan te nemen.

PAUL bewijst bovendien deze menginfectie niet, door bacteriologisch onderzoek, maar neemt ze slechts aan.

Zijne beweringen zijn dan ook volkomen in tegenspraak met de ervaringen van VON PROWAZEK, die in een zijner vele opstellen over het vaccinevirus opmerkt: „*Auch in der vaccinierten Cornea fällt zunächst der grosse Reichtum von verschiedenen stark granulierten Polynucleären auf*”.

LIPSCHÜTZ eindelijk vond, dat de weefselafwijkingen door „*strongyloplasmata*” veroorzaakt, zoozeer van de bekende ontstekingsvormen verschillen en zoo sterk gelijken op de blastomen, dat hij zich gerechtigd achtte tot het opstellen van een „*werkhypothese*”, volgens welke ook de gezwollen door, in de gezwelcellen levende, strongyloplasmata zouden worden verwekt.

Het ontbreken van bloedvaten in het hoornvlies maakt dit tot een slecht object om na te gaan of zekere smetstof in het algemeen een ontsteking of een ander proces verwekt. Dat de afwijkingen, door vaccinatie veroorzaakt, in het algemeen ontstekingen zijn, zal wel door niemand betwijfeld worden.

De ettering der huidpustulae toe te schrijven aan begeleidende staphylo- of streptococcen, zooals sommigen willen,

is onbewezen. WASSERMANN toonde aan, dat pokpuisten geheel vrij van bacteriën kunnen zijn. PERKINS en PAY, die een uitvoerige studie maakten van de streptococci, uit bloed en organen van aan pokken gestorvenen gekweekt, bewezen dat de pustelvorming in de huid geen verband houdt met deze micro-organismen. We hebben geen enkele reden om aan te nemen, dat dit met vaccinepustels wél het geval zou zijn.

Vergelijken we de afwijkingen van de gevaccineerde huid met die van de gevaccineerde cornea, dan ontbreken in de laatste vesiculae en pustulae. Dit kan verklaard worden door samenwerking van twee factoren:

1^o. de lidslag (HUECKEL).

2^o. de bouw van het hoornvliesepitheel, waaraan een hoornlaag ontbreekt.

Hoewel hier en daar microscopisch-kleine, met vocht en leucocyten gevulde, holtetjes ontstaan, wordt door samenwerking van deze factoren de vorming van grootere blaasjes belemmerd. Overheerscht bij de vaccine-eruptie op de huid de exsudatie over de, nimmer ontbrekende, proliferatie, in de cornea valt vooral de epitheelvermeerdering op en geeft aan deze acute ontsteking een bijzonder, hoewel, zooals uit enting met andere smetstoffen zal blijken, geenszins specifiek of pathognomonisch karakter.

Regelmatig vond ik ook, vooral in „oudere” corneae „Schachtelzellen” en reuscellen.

Onder „Schachtelzellen” verstaat men, sinds HUECKEL's eerste beschrijving (1898), epitheelcellen, die door een andere epitheelcel geheel omsloten zijn. HUECKEL sprak van „invaginatie” van de ééne cel in de andere. Latere schrijvers beschouwden het proces, dat tot de vorming van Schachtelzellen leidde, veelal als een phagocytose. Daar het onbewezen en onwaarschijnlijk is, dat een actief omvatten door het uitsteken van schijnvoetjes plaats vindt, ware de term „phagocytose” te vermijden. Veel waarschijnlijker klinkt de opvatting van HUECKEL: een passief indrukken van de eene cel in de andere.

HALLENBERGER (1918) veronderstelde, dat dit een gevolg was van een ongelijk sterken celhydrops: de minder vocht bevattende, vastere cel zou gedrukt worden in een vocht-rijkere, en daardoor sterker vergroote, weekere cel.

PAUL (1917) meende, dat het, volgens VON PROWAZEK uit plastine en chromatine bestaand, lichaampje van Guarnieri tot een dochtercel zou uitgroeien en als „Schachtelzelle” in de moedercel zou komen te liggen. HALLENBERGER wees er terecht op, dat een dergelijke „endogene” celvermeerdering bij hogere diersoorten nooit is waargenomen. Bij hoornvliezen, geënt met den inhoud van waterpokpuisten, zag ik soms wel „Schachtelzellen”, maar geen lichaampjes van Guarnieri.

De onhoudbaarheid van PAUL's veronderstelling komt me door deze waarneming, gevoegd bij de theoretische bezwaren van HALLENBERGER, voldoende bewezen voor.

HOOFDSTUK II.

HOORNVLIASENTINGEN MET MATERIAAL, VERZAMELD BIJ LIJDERS AAN POKKEN. („ALASTRIM”).

De, in den zomer en het najaar van 1929, voorgekomen gevallen van pokken, stelden me in staat om ook met dit materiaal hoornvliesentingen uit te voeren.

Door welwillende medewerking van de behandelende geneeskundigen kon inhoud van blaasjes en korsten verzameld worden.

Van enkele gevallen is het resultaat der enting door Professor ALDERSHOFF en mij in het Ned. Tijdschr. voor Geneeskunde 2de helft 1929, No. 37, beschreven en afgebeeld.

De gevolgde werkwijze kwam overeen met de in Hoofdstuk I voor de vaccine-entingen medegedeelde: na scarificatie werd het voorwerpglas waarop de blaasjes-inhoud was ingedroogd, krachtig over beide hoornvliezen gewreven, in navolging van UNGERMANN en ZUELZER, die hiermede betere uitkomsten kregen, dan wanneer ze het ingedroogde vocht eerst met physiologische zoutoplossing opweekten, een door anderen (o.a. PAUL en LOEWENTHAL) toegepaste methode.

Van korsten werd eerst met physiologische zoutoplossing in een mortier een suspensie bereid.

Zoodra veranderingen op het hoornvlies zichtbaar waren, werd het oog geënucléërd, in Bouin's vloeistof gefixeerd, en na harding met den vriesmicrotome gesneden. Leverden deze vriescoupes géén duidelijk resultaat op, dan werd het hoornvlies ingesloten in celloïdine.

Waren den 3den dag géén veranderingen zichtbaar, dan werd één der oogen uitgenomen en microscopisch onderzocht.

Indien dit onderzoek negatief of dubieus uitviel, werd het dier opgeofferd en het andere hoornvlies op dezelfde wijze nagekeken.

In tabel I vindt men de uitkomsten dezer entingen verenigd.

TABEL I.

№	Aard Materiaal V = pulst- inhoud, K = kor- sten.	Verpleegd te	Onderdom, Geslacht.	Gevaccineerd. Wanneer.	Mate- riaal ver- zameld op	Dag sedert uitbreken der erupties.	Datum enting konijn.	Resultaat.
1	V	Rotterdam Coolsingel	♂ 4 j.	Neen	8-8-29	—	8-8-29	11-8 Links: een viertal epitheelheuveld. 13-8 Rechts: één enkel heuvel. Guarnieri's: positief.
1a	K	id.	id.	id.	id.	—	id.	11-8 Links: zes epitheelheuveld. 13-8 Rechts: veertien epitheelheuveld, de groot- ste met navel. Guarnieri's: positief.
2	V	Utrecht, Stads- en Acad. Ziekenhuis	♂ 20 j.	op 6-jarigen leeftijd gevac- cineerd	14-8-29	5de	14-8-29	17-8 Op beide corneae een zeer groot aantal epitheelheuveld van verschillende grootte. Guarnieri's: positief.
3	K	Rotterdam, Bergweg	♂ 3 j.	Neen	3-9-29	21ste	3-9-29	6-9 L. oog: Enkele zeer fijne heuveltjes? Niet glad. Enkele kerndeelingsfiguren. Guarnieri's: negatief. 9-9 R. oog: glad. Guarnieri's: negatief.
4	V	Rotterdam, Bergweg	♂ 6½ m.	Neen	3-9-29	2de	3-9-29	6-9 Links: Tahrijke, verschillend grootte, epi- theelheuveld. 9-9 Rechts: Hoornvlied blijft glad. Guarnieri's: negatief.
5	V	Rotterdam, Bergweg	♂ 5 j.	Neen	3-9-29	6de	3-9-29	6-9 Links: iets boven het niveau uitstekende entstrepn en kleine epitheelheuveldtjes. Guarnieri's: positief. Rechts: cornea afgekrabd. In afkrabsel komen lichaampjes van Paschen voor.
6	V	Rotterdam, Bergweg	♀ 8 j.	op 1-jarigen leeftijd gevac- cineerd.	3-9-29	11de	3-9-29	6-9 Links: niet glad, beeld niet typisch. Guarnieri's: positief. Rechter-oog niet onderzocht.
7	V	Rotterdam, Bergweg	♂ 2½ j.	Neen	3-9-29	24ste	3-9-29	6-9 Links: ontelbare fijne heuveltjes langs de entstrepn. Guarnieri's: positief. Rechts onderzocht op aanwezigheid van lichaampjes van Paschen: twijfelachtig.
8	V	Rotterdam, Bergweg	♀ 33 j.	Revaccinatie 2-8-29 zonder resultaat	3-9-29	14de	3-9-29	6-9 Links: entstrepn iets boven het niveau van het hoornvlied verheven. Guarnieri's: negatief. 8-9 Rechts: twee epitheelheuveld. Guarnieri's: negatief.
9	K	Rotterdam, Bergweg	♂ 2½ j.	Neen	3-9-29	—	3-9-29	6-9 Links: vele zeer kleine epitheelheuveldtjes. Mikroskopisch: vele kerndeelingsfiguren, vele gelobdk. leucocyten in bindweefsel en epitheel. Guarnieri's: positief.
10	V	Rotterdam, Bergweg	♂ 4 j.	20-8-29 Resultaat onbekend	6-9-29	3 ^e dag	7-9-29	10-9 Links: glad. Guarnieri's: negatief. 14-9 Rechts: entstrepn zichtbaar. Guarnieri's: negatief.
11	V	Rotterdam, Bergweg	♂ 7 weken	Neen	6-9-29	—	7-9-29	10-9 Rechts: een zestal epitheelheuveldtjes. 14-9 Links: glad. Guarnieri's: negatief.
12	V	Rotterdam, Bergweg	?	Neen	6-9-29	—	7-9-29	10-9 Links: ontelbare, verschillend grootte epi- theelheuveldtjes. Guarnieri's: positief. 14-9 Rechts: één enkele opgeworpen entstrep.
13	V	Delft, O. en N. Gast- huis	♂ 4 j.	14-9-29 met positief resultaat 9-10-29. revaccinatie. Geen vroeger reactie bemerkt.	14-10-29	9 ^e dag	14-10-29	17-10 Links: epitheelheuveldtjes langs entstrepn. Guarnieri's: positief. Rechts: gefaceteteerd.
14	V	Den Haag Gem. Ziekenhuis Zuidwal	—	—	—	—	14-10-29	17-10 Links: vele epitheelheuvelds langs de ent- strepn. Guarnieri's: positief. Rechts: idem.
15	V	Delft, O. en N. Gast- huis	volwassen vrouw	—	—	—	18-10-29	22-10 Rechts: één prachtige epitheelheuveld met navel. Guarnieri's: positief. Linkeroog: niet verwijderd.
16	V	Den Haag, Gem. Ziekenhuis Zuidwal	—	—	—	—	25-10-29	27-10 Beiderzijds vele epitheelheuveldtjes. Guarnieri's: positief.
17	V	Utrecht, Stads- en Acad. ziekenhuis.	volwassen vrouw	als kind	30-10-29	—	30-10-29	1-11 Beiderzijds gefaceteteerde corneae. Guarnieri's: positief.
18	V	Utrecht, Stads- en Acad. ziekenhuis	volwassen man, echt- genoot v. 17	id.	30-10-29	—	30-10-29	Corneae blijven volkomen glad. Guarnieri's: negatief.
19	V	Den Haag, Gem. Ziekenhuis Zuidwal	volwassen man	—	—	—	31-10-29	1-11 Beiderzijds epitheelheuveldtjes. Guarnieri's: positief.

TABEL I.

Patient	Aard Materiaal V = puist- inhoud, K = kor- sten.	Verpleegd te	Ouderdom, Geslacht.	Gevaccineerd. Wanneer.	Mate- riaal ver- zameld op	Dag sedert uitbroken der erupties.	Datum enting konijn.	Resultaat.
1	V	Rotterdam Coolsingel	♂ 4 j.	Neen	8-8-29	—	8-8-29	11-8 Links: een viertal epitheelheuveldjes. 13-8 Rechts: één enkel heuvelkje. Guarnieri's: positief.
1a	K	id.	id.	id.	id.	—	id.	11-8 Links: zes epitheelheuveldjes. 13-8 Rechts: veertien epitheelheuveldjes, de grootste met navel. Guarnieri's: positief.
2	V	Utrecht, Stads- en Acad. Ziekenhuis	♂ 20 j.	op 6-jarigen leeftijd gevaccineerd	14-8-29	5de	14-8-29	17-8 Op beide corneae een zeer groot aantal epitheelheuveldjes van verschillende grootte. Guarnieri's: positief.
3	K	Rotterdam, Bergweg	♂ 3 j.	Neen	3-9-29	21ste	3-9-29	6-9 L. oog: Enkele zeer fijne heuveltjes? Niet glad. Enkele kerndeelingsfiguren. Guarnieri's: negatief. 9-9 R. oog: glad. Guarnieri's: negatief.
4	V	Rotterdam, Bergweg	♂ 6½ m.	Neen	3-9-29	2de	3-9-29	6-9 Links: Tahrijke, verschillend grootte, epitheelheuveldjes. 9-9 Rechts: Hoornvlies blijft glad. Guarnieri's: negatief.
5	V	Rotterdam, Bergweg	♂ 5 j.	Neen	3-9-29	6de	3-9-29	6-9 Links: iets boven het niveau uitstekende entrestrepen en kleine epitheelheuveldjes. Guarnieri's: positief. Rechts: cornea afgekrabd. In afkrabbel komen lichaampjes van Paschen voor.
6	V	Rotterdam, Bergweg	♀ 8 j.	op 1-jarigen leeftijd gevaccineerd.	3-9-29	11de	3-9-29	6-9 Links: niet glad, beeld niet typisch. Guarnieri's: positief. Rechter-oog niet onderzocht.
7	V	Rotterdam, Bergweg	♂ 2½ j.	Neen	3-9-29	24ste	3-9-29	6-9 Links: ontelbare fijne heuveltjes langs de entrestrepen. Guarnieri's: positief. Rechts onderzocht op aanwezigheid van lichaampjes van Paschen: twijfelachtig.
8	V	Rotterdam, Bergweg	♀ 33 j.	Revaccinatie 2-8-29 zonder resultaat	3-9-29	14de	3-9-29	6-9 Links: entrestrepen iets boven het niveau van het hoornvlies verheven. Guarnieri's: negatief. 8-9 Rechts: twee epitheelheuveldjes. Guarnieri's: negatief.
9	K	Rotterdam, Bergweg	♂ 2½ j.	Neen	3-9-29	—	3-9-29	6-9 Links: vele zeer kleine epitheelheuveldjes. Mikroskopisch: vele kerndeelingsfiguren, vele gelobdk. leucocyten in bindweefsel en epitheel. Guarnieri's: positief.
10	V	Rotterdam, Bergweg	♂ 4 j.	20-8-29 Resultaat onbekend	6-9-29	3 ^e dag	7-9-29	10-9 Links: glad. Guarnieri's: negatief. 14-9 Rechts: entrestrepen zichtbaar. Guarnieri's: negatief.
11	V	Rotterdam, Bergweg	♂ 7 weken	Neen	6-9-29	—	7-9-29	10-9 Rechts: een zestal epitheelheuveldjes. 14-9 Links: glad. Guarnieri's: negatief.
12	V	Rotterdam, Bergweg	?	Neen	6-9-29	—	7-9-29	10-9 Links: ontelbare, verschillend grootte epitheelheuveldjes. Guarnieri's: positief. 14-9 Rechts: één enkele opgeworpen entrestreep. Guarnieri's: positief.
13	V	Delft, O. en N. Gast- huis	♂ 4 j.	14-9-29 met <i>positief</i> resultaat 9-10-29. revaccinatie. Geen vroege reactie bemerkt.	14-10-29	9 ^e dag	14-10-29	17-10 Links: epitheelheuveldjes langs entrestrepen. Guarnieri's: positief. Rechts: gefacetteerd.
14	V	Den Haag Gem. Ziekenhuis Zuidwal	—	—	—	—	14-10-29	17-10 Links: vele epitheelheuveldjes langs de entrestrepen. Guarnieri's: positief. Rechts: idem.
15	V	Delft, O. en N. Gast- huis	volwassen vrouw	—	—	—	18-10-29	22-10 Rechts: één prachtige epitheelheuvel met navel. Guarnieri's: positief. Linkeroog: niet verwijderd.
16	V	Den Haag, Gem. Ziekenhuis Zuidwal	—	—	—	—	25-10-29	27-10 Beiderzijds vele epitheelheuveldjes. Guarnieri's: positief.
17	V	Utrecht, Stads- en Acad. ziekenhuis.	volwassen vrouw	als kind	30-10-29	—	30-10-29	1-11 Beiderzijds gefacetteerde corneae. Guarnieri's: positief.
18	V	Utrecht, Stads- en Acad. ziekenhuis	volwassen man, echt- genoot v. 17	id.	30-10-29	—	30-10-29	Corneae blijven volkomen glad. Guarnieri's: negatief.
19	V	Den Haag, Gem. Ziekenhuis Zuidwal	volwassen man	—	—	—	31-10-29	1-11 Beiderzijds epitheelheuveldjes. Guarnieri's: positief.

Materiaal van 19 patienten, bij wie de diagnose „pokken” of „alastrim” voor de behandelende geneeskundigen vast stond, gaf dus na enting op het konijnenhoornvlies 13 maal een positief resultaat, wat de lichaampjes van Guarnieri betreft.

Zes maal werden géén insluitlichaampjes gevonden, hoewel vele sneden, ontnomen aan verschillende deelen van de cornea, nauwkeurig met de olieimmersie doorzocht werden.

Dertien maal ook was het resultaat „macroscopisch positief”, in zooverre als één of meerdere scherp omschreven epitheelheuveltjes te zien waren.

Tusschen de macroscopische en de microscopische bevindingen bestond echter geen volkomen parallellisme; tweemaal werden insluitlichaampjes in macroscopisch „gladde” hoornvliezen gevonden, en even vaak werden ze in macroscopisch positieve corneae gemist.

In vorm, grootte, en kleurbaarheid kwamen de gevonden insluitsels overeen met die, welke in „jonge” vaccine-corneae worden aangetroffen, d.w.z. ze waren klein, rond en kleurden zich intens met ijzerhaematoxyline; echter werden een enkele maal ook grootere, onregelmatige en zwakker gekleurde, zooals in vol-ontwikkelde vaccine-corneae, gevonden.

Hun aantal wisselde sterk in de verschillende gevallen en in verschillende sneden van één zelfde hoornvlies, die, zooals vanzelfsprekend is, in de eerste plaats werden aangelegd daar, waar de macroscopische veranderingen duidelijk waren. Soms moest een zestal sneden worden doorzocht vóór een celgroepje gevonden werd, met enkele insluitsels, soms werden deze in groot aantal in iedere snede aangetroffen.

De overige microscopische afwijkingen bestonden in haardvormige epitheelvermeerdering (kerneelingsfiguren), celoedem, „Schachtelzellen”, reuscellen en een gering aantal gelobdkernige leucocyten in het bindweefsel.

De epitheelvermeerdering was, wat ook blijkt uit het tweemaal ontbreken van macroscopisch zichtbare epitheelheuvels, soms zeer gering.

De meening van PAUL en GINS, dat lichaampjes van Guarnieri alleen dan aanwezig zijn, wanneer er een duidelijke „epitheliose” bestaat, geldt wél voor de meeste, maar zeker niet voor alle gevallen.

Uit deze beperkte proevenreeks blijkt tevens, dat LOEWENTHAL terecht als eisch stelde, dat beide hoornvliezen geënt

moeten worden; van twee, met hetzelfde materiaal besmette hoornvliezen, sloeg er soms maar één aan.

Amerikaansche schrijvers (COUNCILMAN c.s., COWDRY) vonden in de epitheelcellen der variola-pustulae, behalve de lichaampjes van Guarnieri, in de kernen eosinophile insluitsels, die groote overeenkomst zouden hebben, met die, welke men in varicellaeblaasjes aantreft. Of zij deze vormsels ook zagen na enting van variolamateriaal in het konijnenhoornvlies, wordt niet medegedeeld. LOEWENTHAL, GINS, PAUL, e.a., die hunne bevindingen met diagnostische hoornvliesentingen uitvoerig beschreven, vermeldden ze niet.

In sneden van „positieve” variola-corneae, met haematoxyline-eosine gekleurd, is het me niet mogen gelukken deze eosinophile lichaampjes aan te toonen.

Wél is het me soms opgevallen, dat in met haematoxyline-eosine gekleurde sneden, behalve blauw-gekleurde insluitlichaampjes, in het cytoplasma rood of roodpaars gekleurde vormsels voorkwamen, die geheel met G.'s L., overeenkwamen: een verschijnsel, dat ook bij andere insluitlichaampjes is waargenomen (amphophilie, LIPSCHÜTZ).

HOOFDSTUK III.

DE SPECIFICITEIT DER LICHAAMPJES VAN GUARNIERI.

De woorden „specificiteit” en „specifiek” behooren tot de meest gebruikte in de geneeskundige literatuur, vooral in dat deel, dat bacteriologische of serologische onderwerpen behandelt. Men heeft zelfs niet geschroomd van „specifiek” de vergelijkende trappen „specifieker” en „meest specifiek” te vormen. Omdat een dergelijk overdadig gebruik deze termen langzamerhand tot stopwoorden dreigt te verlagen, is het gewenscht, dit hoofdstuk te beginnen met een bepaling van hetgeen in het volgende onder „specifiek” zal worden verstaan.

Specifiek wordt alleen dat verschijnsel of die toestand genoemd, die in een bepaalde betrekking tot iets anders staat en voor dit andere bewijzend is. Het verschijnsel of de toestand A is dus specifiek voor B, indien A alléén voorkomt in verband met B, en voor B bewijzend is. Komt A voor, zonder dat B bestaat, dan kan A niet specifiek voor B zijn (zie N. PH. TENDELOO „Allgemeine Pathologie”).

In het algemeen beschouwt men de lichaampjes van Guarnieri als specifiek voor variola en vaccinia. „In dieser Hinsicht bestehen wohl in der Wissenschaft keine Zweifel mehr” (VOLPINO 1908).

De enkele waarnemingen, die het tegengestelde schenen te bewijzen, werden door latere onderzoekers niet bevestigd of op andere wijze verklaard of ter zijde gelegd.

Reeds in het jaar, volgende op dat van Guarnieri's mededeelingen, verscheen een artikel van FERRONI en MASSARI, waarin deze schrijvers betoogden, dat met crotonolie, Oost-Indische inkt en osmiumdampen dezelfde insluitsels als door Guarnieri waargenomen, in het hoornvlies konden worden verwekt.

MONTI bestreed hen en verklaarde hunne insluitsels tot grove veranderingen, die zich niet met vaccinelichaampjes lieten vergelijken.

De grofheid dezer insluitsels schijnt overigens nogal mee te kunnen vallen: HUECKEL (1898) kon zoowel in door osmiumdampen beschadigde als met vaccine geïnfecteerde hoornvliezen intracellulaire lichaampjes aantoonen, die zich van „echte” Guarnieri’s uitsluitend onderscheidden door de roode kleur, die ze in het mengsel van Ehrlich-Biondi aannamen. „Echte” lichaampjes van Guarnieri kleuren zich daarin blauw of blauwgroen. Deze laatste zag hij alleen in vaccine-corneae. Hij veronderstelde, dat vaccine, behalve een niet-specifieke beschadiging van het protoplasma, waardoor de roode lichaampjes zouden ontstaan, ook een specifieke teweeg bracht, die gepaard ging met een scheikundige verandering. Tengevolge van deze chemische verandering zouden de „echte” lichaampjes van G. zich niet rood maar blauw kleuren.

In 1903 beweerde SIKOVSKY, dat het hem gelukt zou zijn met diphtherie-toxine in de epitheelcellen van konijnenhoornvliezen van Guarnieri’s lichaampjes niet te onderscheiden insluitsels te hebben verwekt. ALDERSHOFF en BROERS herhaalden deze proeven in 1906: ze vonden insluitsels, die wel een oppervlakkige gelijkenis met die van Guarnieri hadden, maar bij nader inzien er toch anders uitzagen.

Sommigen (MANCHOUX, LEVADITI) vonden ook na enting met inhoud van blaasjes of puisten bij waterpokken dergelijke insluitlichaampjes, anderen lichaampjes die min of meer op Guarnieri’s geleken. (SWEILLENGREBEL, BERTANELLI, GINS.)

Gaat men de resultaten na van hen, die de enting van het konijnenhoornvlies als diagnostische methode toepasten, dan blijkt dat ook juist de waterpokken nogal eens tot positieve uitkomsten leidden. (GINS, UNGERMANN en ZUELZER, LOEWENTHAL).

Men zou echter kunnen aanvoeren, dat dit nog niet de niet-specificiteit der lichaampjes behoeft te bewijzen, immers tot op den huidige dag wordt door de school van SAHLI een zeker verband tusschen het virus der waterpokken en van pokken aangenomen (Neu-unitarismus). Dit „Neu-unitarismus” is een, in een nieuw kleed gestoken, oude opvatting van den Weenschen dermatoloog HEBRA. In 1903 verscheen ten onzent een artikel in de „Geneeskundige Bladen” van de hand van den Amsterdamschen arts CYFER,

die klinische, epidemiologische en immunologische gegevens uit zijn praktijk bijeen bracht, die voor deze hypothese een steun schenen te zijn.

Men zou dus kunnen beweren, dat inhoud van waterpok-blaasjes een ongeschikt contrôlemateriaal is.

Practisch is het niettemin van het grootste belang om juist met varicellenmateriaal zoo mogelijk uitgebreide proeven te nemen; de diagnostische enting wordt immers waardeloos, zoodra zou blijken, dat een betrouwbare differentiële diagnose tusschen variola en varicellae er niet mede te stellen is. Zelfs al ware het virus der varicellae een gewijzigd of verzwakt variolavirus, dan nog blijven waterpokken en pokken geheel verschillende ziekten, met een geheel andere beteekenis, zoowel voor den lijder als voor zijn omgeving.

UNGERMANN EN ZUELZER (1920) vonden in gescarificeerde niet-geënte en ook in met terpentijn bestreken hoornvliezen lichaampjes, die ze op geen wijze van „echte” Guarnieri's konden onderscheiden.

De m.i. eenige juiste gevolgtrekking ware, dat de lichaampjes dus niet specifiek zijn.

De schrijvers echter vatten hun vondst als volgt samen: „Auch der Nachweis der Einschlusskörperchen bei der Diagnose Variola-vakzine hat somit einen quantitativen, keinen absolut spezifischen Charakter. Das ist wohl kein Grund, den Pockenkörperchen die Bedeutung spezifischer Gebilde abzusprechen”.

De mogelijkheid bestaat natuurlijk, dat voortgezet onderzoek aan het licht zoude brengen, dat de door terpentijn enz. verwekte insluitsels al mogen ze een gelijkenis hebben met Guarnieri's lichaampjes, toch in wezen daarvan verschillen. Gelijkenis beteekent immers nog niet gelijkheid. Zoolang we echter het wezen der lichaampjes van G. niet kennen, ter hunner herkenning uitsluitend op enkele morphologische kenmerken, op hun wisselvallig gedrag ten opzichte van kleurstoffen en op eenige scheikundige gegevens zijn aangewezen, missen we het recht om, indien we in, met met andere stoffen dan variola-vaccinemateriaal geënte, hoornvliezen lichaampjes vinden, die bij den huidige stand onzer kennis van G's lichaampjes niet te onderscheiden zijn, deze laatste als specifiek voor variola-vaccine te houden.

Elders zeggen UNGERMANN en ZUELZER: „Es ist keineswegs leicht über die Natur eines isoliert liegenden Körnchens Klarheit zu erlangen”. Hiertegenover kan men stellen, dat ook „die Natur” van het G's lichaampje ons niet duidelijk is. Maar aan het geïsoleerd-liggend insluitsel kan men wel nagaan, of het dezelfde morphologische en andere eigenschappen als de lich. v. G. heeft.

Op Guarnieri's lichaampjes sterk gelijkende of daarvan op geen wijze te onderscheiden vormsels namen o.a. LUKSCH (1925), LOEWENTHAL (1925), HOTORI WATANABE (1930) waar, na enting van het hoornvlies met herpessmetstof.

LOEWENTHAL meende echter op grond van een verschillend gedrag ten opzichte van de saffranine uit het mengsel van Unna, de gelijkheid van beide te moeten bestrijden; hij rekende ze met andere, op „onspecifieke” wijze verwekte, vormsels tot de „Guarnierioiden”.

Ook de juistheid van contrôle-entingen met herpesmateriaal zou men op denzelfden grond als die met inhoud van waterpokpuisten kunnen loochenen; GILDEMEISTER en zijne medewerkers (1925) berichtten over dierproeven, die op het bestaan van gekruiste onvatbaarheidsbetrekkingen tusschen herpes- en vaccine-virus zouden wijzen.

LUKSCH meende uit het voorkomen van gelijkwaardige insluitsels in met vaccine en met herpessmetstof geënte hoornvliezen een verder bewijs voor de nauwe verwantschap tusschen beide te kunnen putten. Dit argument van LUKSCH is moeilijk te begrijpen, als men weet, dat deze onderzoeker, zoowel in de lichaampjes van Negri, van Guarnieri als in „zijn” herpeslichaampjes producten eener lipoïde celont-aarding ziet; dit proces zal toch niemand als specifiek voor vaccinia of herpes willen beschouwen.

In 1929 verscheen in de „Ergebnisse der Hygiene, Bakteriologie etc.” een samenvattend overzicht over variola en vaccine van K. ARNOLD. De schrijver deelt hierin mede, dat GROTH, KOPP en ARNOLD ¹⁾ twee soorten van insluitlichaampjes meenen te moeten onderscheiden: de eerste soort ontwikkelt zich vanuit een nauwelijks zichtbaar vóór-stadium, dat echter een duidelijk hofje heeft en in niet-ontaarde cellen van de basale epitheellaag optreedt, tot in

¹⁾ GROTH infecteerde de hoornvliezen door de smetstof in de cornea te spuiten.

duidelijke vacuolen liggende, op Guarnieri's lichaampjes gelijkende vormsels; de tweede soort zijn de „eigenlijke” lichaampjes van Guarnieri, die zich eerst na 2×24 uur zouden ontwikkeld hebben vooral in beschadigde cellen van het stratum spinosum.

De eerste soort vonden ze óók in corneae, geënt met inhoud van waterpok-, mond- en klauwzeer-, herpes- en pemphigusblazen of met afgeschaafde vlekken van Koplik bij mazelen; deze soort is dus niet specifiek. De „eigenlijke” Guarnieri's lichaampjes vonden ze alleen bij vaccine en hiervan zegt K. ARNOLD: „. . . . , so dass also der Nachweiss von Guarnierischen Körperchen nach wie vor als beweisend für Variola oder Variola-vaccine angesehen werden muss.” De zaak wordt met deze mededeelingen, die helaas nog niet uitvoerig gepubliceerd zijn, nog ingewikkelder dan tevoren.

In de eerste plaats: Guarnieri's lichaampjes zouden eerst na 48 uur duidelijk ontwikkeld zijn; hoewel de tijd van verschijning der lichaampjes afhankelijk is o.a. van de „sterkte” van de gebruikte koepokstof, is dit toch wel héél laat, veel later bijvoorbeeld dan in mijn, in hoofdstuk I beschreven proeven, die met verdunde vaccine genomen werden.

Ten tweede: tot nu toe waren alle onderzoekers het er over eens, dat Guarnieri's lichaampjes in den beginne kleine ronde vormsels zijn, die zich in het verder beloop van het proces ontwikkelen tot grootere vormen, een ontwikkeling dus, geheel evenwijdig loopend met die der aspecifieke lichaampjes door GROTH c.s. beschreven.

Ten derde: Een beschrijving van de ontwikkeling der „eigenlijke” G's lich. ontbreekt in ARNOLD's referaat evenzeer als die van de morphologische verschillen tusschen de aspecifieke en de specifieke soort, behoudens dan hun zitplaats: van de eerste in de basale cellenlaag, van de tweede vooral in het statum spinosum; in beide cellagen, ja door het geheele epitheel verspreid, zijn echter door anderen lichaampjes van Guarnieri beschreven, geteekend en gefotografeerd.

Bij den onbevooroordeelden lezer van ARNOLD's referaat moet zich m.i. het denkbeeld opdringen, dat GROTH c.s. onbewust, hun vondsten aan het dogma der specificiteit willen aanpassen.

In de volgende bladzijden zullen de resultaten van een aantal hoornvliesentingen met allerlei materiaal, ook met zuivere kweken van microben worden medegedeeld.

Deze proeven, uitgezonderd die met herpessmetstof, werden niet in het laboratorium, maar in de stallen van het Rijksserologisch Instituut genomen, in een omgeving, waar niet met koepokstof geëxperimenteerd werd, om de mogelijkheid van spontane infectie der konijnen met vaccine te voorkomen.

De vraag die ik me hierbij stelde, luidt dus:

„Gelukt het, na behandeling van het konijnenhoornvlies met andere stoffen dan variola- en vaccinevirus daarin insluitsels aan te toonen, die zich van de door Guarnieri beschrevene niet laten onderscheiden? zoo ja, dan mogen deze laatste niet als specifiek voor variola en vaccinia worden beschouwd.”

A. HERPES FEBRILIS S. SIMPLEX.

Een kort overzicht van hetgeen omtrent de smetstof uit herpesblaasjes bekend is, in het bijzonder over hetgeen anderen vonden in met dit virus geënte hoornvliezen, moge aan de beschrijving van eigen proeven voorafgaan.

Het verschijnen van herpesblaasjes, zooals deze bij tal van infectieziekten: fibrineuze longontsteking, meningitis epidemica e.a. vooral aan de lippen kunnen worden waargenomen, werd van ouds aan toxische, soms ook vasomotorische en neurotrophische factoren geweten: over de vraag of en welk microörganisme hierbij aetiologische beteekenis heeft, zijn de meeningen verdeeld.

SCHOTTMÜLLER dacht aan een infectie met colibacilli, DRIGALSKY berichtte over het voorkomen van meningococcen in de inhoud der blaasjes bij lijders aan meningitis epidemica (geciteerd naar Lipschütz).

De vondsten van Mej. Dr. KOOY (1921), die uit herpesblaasjes een polymorph, tot de mycobacteriaceae behorend, gram-negatief microörganisme kweekte en hierin den verwekker zag, zijn evenmin bevestigd als die van EVANS, die uit hersenen van aan encephalitis epidemica gestorvenen, en uit hersenen van konijnen, die aan encephalitis herpetica te gronde gingen, streptococci isoleerde. P. OLITSKY en PERRIN LONG (1928) konden geen streptococcen vinden als het materiaal

streng beschut werd tegen besmetting. Streptococcen konden ook gekweekt worden uit normale konijnenhersenen, indien ze deze, zooals Evans deed, in een mortier verwreven.

LIPSCHÜTZ (1921) verklaarde uitdrukkelijk, dat de inhoud der blaasjes, tenzij ze secundair geïnfecteerd zijn, bacteriologisch steriel is.

WALDEMAR LOEWENTHAL, kon dan ook in 1927 schrijven, dat de bacteriologische onderzoekingsmethoden gefaald hadden; hij stelde de werkhypothese op, dat de verwekker onder de protozoën gezocht moest worden.

Omtrent de filtreerbaarheid van deze smetstof loopten de meeningen uiteen. Tegenover positieve uitkomsten van LOEWENSTEIN (1920), LUGER en LAUDA (1921), werkende met Berkelfeldkaarsen en van BLANC en CAMINOPETROS (1921), die het virus door een Chamberlandkaars L 1 konden filtreren, staan die van PERDRAU (1922), die niet in staat was de smetstof door L 1, L 2 of L 3 kaarsen te filtreren.

Na enting van herpesvirus op het konijnenhoornvlies, welke onderzoekingsmethode vóór hem door GRÜTER, LOEWENSTEIN (1920) e.a. was toegepast, vond LIPSCHÜTZ (1921) in de kernen van sommige epitheelcellen eosinophile vormsels, door een ongekleurd hofje gescheiden van het chromatine, dat zich aan de kernwand had opgehoopt.

Ook deze vormsels meende LIPSCHÜTZ op te moeten vatten als „reactieproducten” van de kern op de daarin gedrongen verwekkers, die tot de strongyloplasmata zouden behooren.

Belangrijk is wel, dat LIPSCHÜTZ' resultaten steeds dezelfde waren, onafhankelijk van den aard der met herpes gecompliceerde ziekte, waaraan de patient, bij wien het materiaal gewonnen was, leed.

Deze vondst werd van alle kanten bevestigd; de beteekenis, die LIPSCHÜTZ aan de, ook weer algemeen „insluitlichaampjes” genoemde, vormsels hechtte, ondervond echter krachtige bestrijding o.a. door LUGER en LAUDA (1921). Dezen beschouwden het verschijnsel als een „oxychromatische” ontanding van de celkern, die wél zekere beteekenis, voor de diagnose „herpes” zou hebben, maar allerm minst specifiek zou zijn. Ze wezen er op, dat HEIDENHAIN een dergelijke scheiding tusschen oxy- en basichromatische stof beschreven heeft in het darmepitheel van Triton helveticus. Na enting van het hoornvlies met „Virus III”, een,

in den loop van hunne studie over waterpokken, in konijnen-testikels door RIVERS en TILLET (1923) gevonden smetstof, treedt hetzelfde verschijnsel op. Ook in de kernen van het epitheel van waterpok- en gordelroospuisten zijn dergelijke „lichaampjes” gevonden.

De genese van het verschijnsel — een scheiding tusschen basi- en oxychromatine — geeft LIPSCHÜTZ (1930) toe; tegen de opvatting „kernontaarding” blijft hij zich echter verzetten. Deze strijd berust m.i. op een gebrekkig uiteenhouden der vragen: „Aan welke invloeden is deze kernverandering toe te schrijven en in welke betrekking staat ze tot den verwekker?” en „moet deze kernverandering tot de ontaarding worden gerekend?” De beantwoording van de laatste vraag is afhankelijk van de definitie, die men van het woord „ontaarding” geeft.

Behalve deze kernverandering vond LUKSCH (1925) in het cellichaam zelve lichaampjes, die hij niet kon onderscheiden van die van Guarnieri (zie blz. 35).

Eindelijk heeft LOEWENTHAL (1926) in preparaten, met lithionkarmijn en Beiersch blauw gekleurd, intracellulaire oxyphiele vormsels gevonden, die soms één, soms meerdere „kernen” hadden, daarnaast op wormen en op weverspoelen gelijkende dingen. Tot nu toe is het niemand gelukt dit te bevestigen; de dood heeft LOEWENTHAL belet, zijn onderzoekingen te voltooien.

HAAGEN, RIVERS en MUCKENFUSS berichtten in 1929 over een kweek van herpesvirus in weefselcultures van konijnenhoornvlies. Ook hierin vonden ze eosinophile insluitlichaampjes in de celkernen.

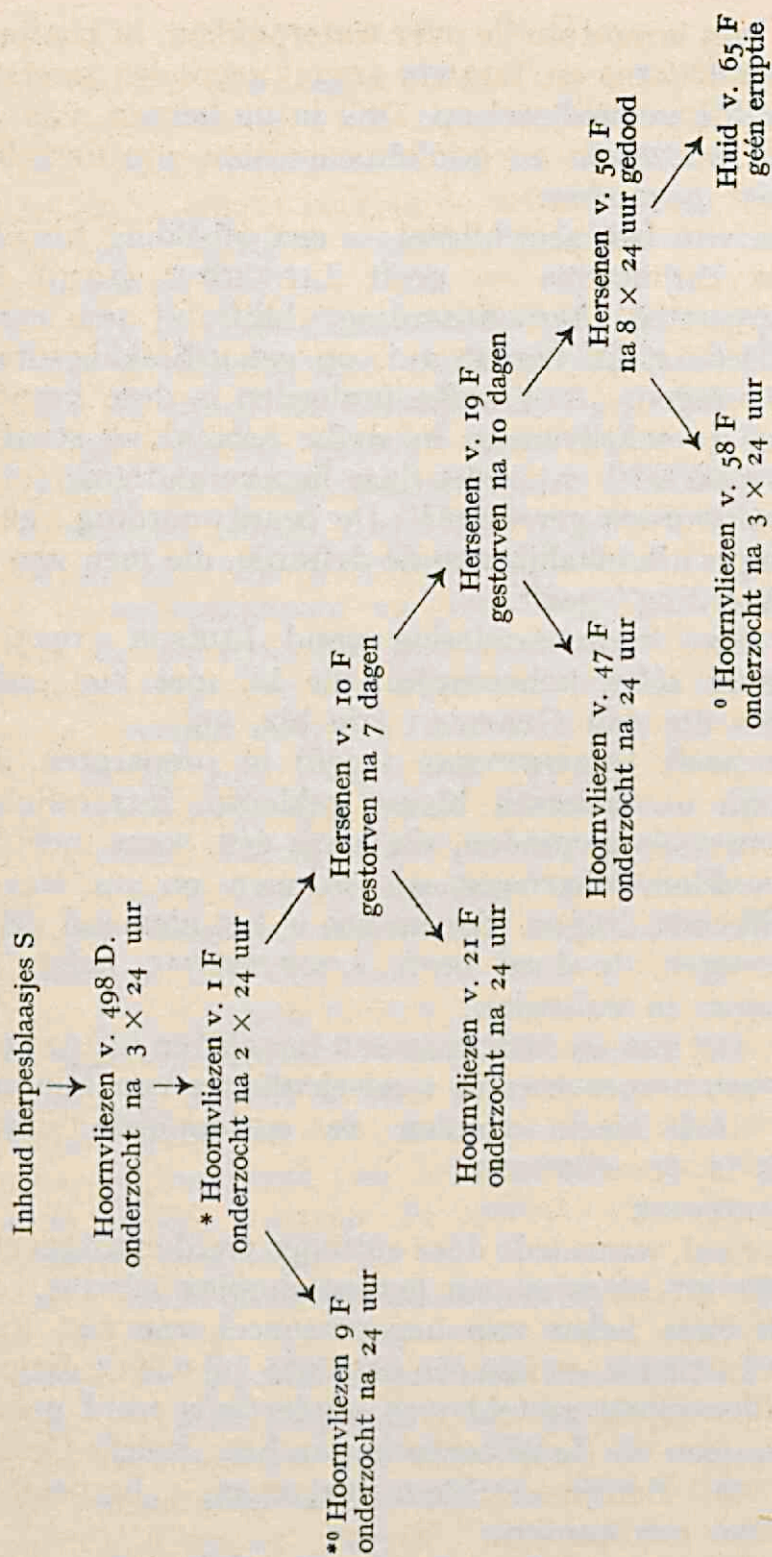
EIGEN PROEVEN:

Het materiaal, waarmede deze entingen werden uitgevoerd, stamde deels uit blaasjes van herpes simplex labialis, ontnomen aan twee leden van het personeel van het Rijks-Serologisch Instituut, en aan een patiënte, bij wie de diagnose op colibacillen-sepsis gesteld was, anderdeels werd gebruik gemaakt van een uit de laboratoria van het „Reichs-Gesundheitsamt” te Berlijn—Dahlem gekregen, „herpesstam” (hersenen van een konijn).

a. Inhoud van herpesblaasjes S. (Zie Tabel II).

Onderzocht werden vóór één, twee en drie dagen geënte corneae.

TABEL II.



*) In deze hoorrvliezen werden eosinophile lichaampjes in sommige kernen gevonden.

o) In deze hoorrvliezen werden lichaampjes gevonden, die zich niet onderscheidten van die van Guarnieri.

Corneae 498 D 3 × 24 uur.

Macroscopisch uiterlijk: gelijkmatig troebel.

Microscopisch onderzoek: Het epitheel was totaal afgestooten. In het bindweefsel zeer vele gelobdkernige witte bloedcellen. De bindweefselcelkernen waren gezwollen, lichtblauw gekleurd met haematoxyline. Het bindweefsel was opvallend wijdmazig, oedemateus.

Cornea 1 F 2 × 24 uur.

Macroscopisch uiterlijk: Speldeknoopgrootte ronde verhevenheden, die in het versche preparaat volkomen doorschijnend waren.

Nadat het oog ongeveer 1 minuut in de hardingsvloeistof van Bouin gelegen had, teekenden deze blaasjes (?) zich als ondoorschijnende geelwitte heuveltjes af op de overigens nog doorschijnende omgeving, een beeld, dat sterk aan een positieve proef van Paul deed denken.

Microscopisch onderzoek: Haardsgewijze was het epitheel verdikt; cellen en kernen waren hier gezwollen. De celgrenzen waren opvallend duidelijk; soms waren tusschen de cellen fijne spleetjes zichtbaar, overbrugd door vezeltjes.

Door deze celzwellling had de laagsgewijze bouw van het epitheel veel van zijn regelmatigheid ingeboet. Op een enkele plaats in de epitheelverdikking een kleine holte (blaasvorming).

Veel reuscellen kwamen voor, vooral in de verbrede epitheeldeelen: cellen met een groot aantal, dicht opeengepakte kernen.

In de celkernen van deze epitheelheuveltjes ovale of ronde lichaampjes, welker grootste afmeting wisselde tusschen 3 en 5 μ , rood of rosepaars van tint, omgeven door een licht hofje. De chromatine van de kern was als een zéér smal blauw randje langs de kernmembraan opgehoopt.

Eenige kerndeelingsfiguren in het epitheel. Weinige gelobdkernige witte bloedcellen in epitheel en bindweefsel.

In met ijzerhaematoxyline-zuurfuchsine-picrinezuur gekleurde sneden namen de boven omschreven lichaampjes een grijszwarte tint aan; ze waren minder sterk met ijzerhaematoxyline gekleurd dan de onveranderde kernen.

In met joodgroenfuchsine gekleurde sneden werden enkele, in het cytoplasma liggende, ronde korrels aangetroffen, waaromheen een smal ongekleurd hofje. Ze lagen echter niet in een kernindeuking.

Cornea 9 F (1 × 24 uur).

Macroscopisch uiterlijk: Volkomen glad en doorschijnend.

Microscopisch onderzoek: De afwijkingen kwamen in grove trekken overeen met de, in het hoornvlies 1 F beschrevene, met dien verstande, dat de epitheel-verdikkingen geringere afmetingen hadden en dat nergens holtevorming werd gezien.

Ook hier dus weer eosinophile lichaampjes in gezwollen kernen, welker basi-chromatische stof langs de kernwand was opgehoopt. (Zie figuur 1).

In deze sneden werden ook eenige „Schachtelzellen” gezien, die zich in geen enkel opzicht onderscheidten van die in met koepokstof geënte hoornvliezen, beschreven.

In volgens van Gieson—Weigert en met joodgroen-fuchsine gekleurde sneden kwamen enkele intracellulaire korrels voor, zwart resp. rood van kleur, soms in een hofje liggend.

Na lang zoeken werd in een van Gieson-preparaat een „lichaampje” gevonden, dat zich in geen enkel opzicht onderscheidde van die van Guarnieri; het lag in een inbochting van de celkern.

Cornea 21 F 1 × 24 uur.

Macroscopisch uiterlijk: beiderzijds glad.

Microscopisch onderzoek: Het epitheel van de linker-cornea werd met de entnaald afgekrabd en op dekglazen uitgestreken. De uitstrijken werden na fixatie in sublimaat-alcohol en jodeering met de oplossing van Lugol, gekleurd volgens Giemsa. Er werden géén intranucleaire insluitsels gezien, noch vormsels, die aan lichaampjes van Guarnieri zouden kunnen doen denken.

De rechtercornea werd op de gewone wijze ingesloten, gesneden en gekleurd.

De entstrepen bleken zóó stevig te zijn aangekomen, dat er spleten in het bindweefsel waren ontstaan, waarin het epitheel was ingedrongen.

In enkele cellen, in of bij deze spleten, lagen ronde of rond-ovale lichaampjes, die wat vorm, grootte en kleur betreft, geheel overeen kwamen met die, welke in andere hoornvliezen in de kernen werden gezien.

Bij enkele van deze lichaampjes lag een klein ($\pm 1-1,5 \mu$), rond basophiel korreltje, waarvan niet was uit te maken of het al dan niet met het eosinofiele vormsel samenhang.

Deze lichaampjes waren *niet* met een hofje omgeven, hoewel ze zich duidelijk tegen het celprotoplasma afteekenden. Rondom de epitheelingroeiingen (kerndeelingsfiguren) lagen in het bindweefsel enkele gelobdkernige leucocyten.

Cornea 58 F 3 × 24 uur.

In joodgroen-fuchsine-preparaten werden géén, in van Gieson—Weigert preparaten werd één intracellulair vormsel gevonden, niet te onderscheiden van een lichaampje van Guarnieri.

Intranucleaire „lichaampjes” werden niet gevonden.

Een of twee kerndeelingsfiguren per snede.

Enkele gelobdkernige leucocyten verspreid door het bindweefsel.

Deze herpessmetstof liet zich dus wel tweemaal van hoornvlies op hoornvlies overenten, maar verloor daarna, overgebracht in konijnenhersenen, haar werkzaamheid. Meent men met Levaditi c.s. dat tusschen dermatrope en neurotrope stammen moet worden onderscheiden, dan zal men deze smetstof als zeer weinig neurotroop moeten opvatten.

b. Inhoud van herpesblaasjes P.

L. Cornea 89 F 24 uur.

Macroscopisch uiterlijk: Iets verbrede entstrepen in het doorschijnende hoornvliesoppervlak.

Microscopisch onderzoek: Haardvormige epitheelverdikkingen, die zacht glooiend in de omgeving overgingen, meer te wijten aan sterke celzwellung dan aan celvermeerdering.

In deze epitheelheuveltjes mooie eosinophile insluitlichamen in de celkernen, waarvan slechts een dun randje aan den omtrek met haematoxyline gekleurd was. Vele reuscellen, waarvan de kernen eveneens „herpeslichaampjes” bevatten. Op enkele plaatsen was het epitheel, waarschijnlijk door afschilfering, verdwenen.

In van Gieson—Weigert preparaten werden wel enkele zwarte intra- of intercellulaire lichaampjes gevonden, die echter niet aan de eischen, aan lichaampjes van Guarnieri te stellen, voldeden.

Weinige gelobdkernige witte bloedcellen in het bindweefsel, vooral aan de rand van het hoornvlies.

Enkele leucocyten waren ook in de epitheellaag gekropen.

Het epitheel van het rechterhoornvlies van dit konijn werd na 24 uur afgekrabd en met $\pm 1 \text{ c.m}^3$. physiologische keukenzoutoplossing verwreven. Van deze suspensie werd $0,4 \text{ c.m}^3$. in de hersenen van een „versch” konijn gespoten; nadat dit dier aan de infectie gestorven was, werd onmiddellijk $0,3 \text{ c.m}^3$. van een suspensie (1 : 10) in zoutsolutie van zijn hersenen bij een volgend konijn intracerebraal ingespoten, enz.

Uit Tabel III blijkt dat de tijd, waarin de dieren stierven van 7—8 dagen in de eerste passages, in latere tot 4—5 dagen werd verkort.

Het ziektebeeld bood de volgende symptomen:

Altijd bestond een rhinitis, met slijmerigen of slijmetterigen uitvloed, het dier kwijlde, was opvallend beweeglijk, stond hoog op de pooten, was ataktisch, rolde omver, knarsetande soms. Opvallend was de snelheid, waarmee het ziekteproces tot den dood leidde, wanneer eenmaal deze duidelijke verschijnselen van hersenontsteking aanwezig waren.

Eenige malen werden de hersenen bacteriologisch onderzocht door ze uit te strijken op ascites-agarplaten.

Gevonden werden enkele kolonies van staphylococci albi, hetgeen geweten werd aan verontreiniging van het materiaal bij het uitnemen van de hersenen, wat natuurlijk wel met steriele instrumenten, maar dan toch in de „open” lucht gebeurde.

Van de 7de hersenpassage werd wederom een suspensie geënt in de hoornvliezen van een konijn met het volgende resultaat:

TABEL III.

„Stam P”
Inhoud herpesblaasjes
↓
Corneae 89 F
Na 24 uur onderzocht resp. afgekrabd.
Intranucleaire insluitlichaampjes.
↓
Hersenen 93 F
Na 7 dagen in agone afgemaakt.
↓
Hersenen 97 F
Na 7 dagen gestorven.
↓
Hersenen 99 F
Na 5 dagen gestorven.
↓
Hersenen 103 F
Na 7 dagen gestorven.
↓
Hersenen 106 F
Na 4 dagen gestorven.
↓
Hersenen 110 F
Na 4 dagen gestorven.
↓
Hersenen 111 F
Na 4 dagen gestorven.
↓
Corneae 70 F
Na 48 uur onderzocht.
Intranucleaire insluitlichaampjes.

Cornea 70 F 2 × 24 uur.

Macroscopisch uiterlijk: verbrede entstreepen met iets opgeworpen randen.

Microscopisch onderzoek: Haardvormige epitheelverdikkingen; cel-zwelling en celvermeerdering. In 't midden van enkele verdikkingen een epitheeldefect met gelobdk. leucocyten ten deele opgevuld. Aan de randen van deze defecten afschilfering van epitheelcellen. Ook tusschen de epitheelcellen kwamen witte bloedcellen voor. Mooie reuscellen. In vrijwel alle epitheelcelkernen van deze verdikkingen eosinophile „herpeslichaampjes” (Zie fig. 2). Daar waar vele leucocyten in het epitheel gekropen zijn, lag een vrij groot aantal met ijzerhaematoxyline zwart gekleurde, ronde lichaampjes in het cytoplasma der epitheelcellen; ze waren niet door hofjes omgeven; in joodgroen-fuchsine preparaten kleurden dergelijke korrels zich rood.

Uit deze cornea-entingen en het beloop der hersenentingen blijkt dat het gelukt is, het R.S.I. met een zelf-gewonnen herpesstam te verrijken.

c. Inhoud van herpesblaasjes W.

Cornea 100 F 24 uur.

Macroscopisch uiterlijk: Niet geheel glad, volkomen doorschijnend.

Microscopisch onderzoek:

Onderzoek van een groot aantal, met haematoxyline-eosine en ijzerhaematoxyline-zuurfuchsine-picrinezuur gekleurde sneden leidde niet tot het vinden van intranucleaire, eosinophile insluitsels, noch van vormsels die aan lichaampjes van Guarnieri zouden doen denken. Wel was het epitheel matig verdikt door cel- en kernzwelling en celvermeerdering; in elke coupe kwamen betrekkelijk veel kerndeelingsfiguren voor. Eosinophile korrels in het cytoplasma van enkele epitheelcellen. Géén reuscellen maar wél enkele „Schachtelzellen”.

In het bindweefsel vooral bij den limbus corneae vrij veel witte bloedcellen.

d. In het Rijks-Serologisch Instituut waren een drietal „herpesstammen” van verschillende herkomst aanwezig n.l. „Bazel I”, „Bazel III” en „Dahlem”.

Dit materiaal was sinds begin 1928 in de vrieskast bewaard. Ik spoot 15 Januari 1930 met elk der suspensies een konijn in de hersenen in.

De stam „Dalhem” doodde het proefdier na 13 ! dagen. Met gesuspenderde hersensubstantie van dit konijn werd No. 80 F op beide hoornvliezen geënt.

De andere dieren verdroegen de inspuiting zonder eenig bezwaar; de smetstof had het langdurig verblijf in de vrieskast waarschijnlijk niet overleefd ¹⁾.

¹⁾ Een dezer dieren (70 F) werd later met succes op de hoornvliezen geënt met herpesstam P.

Cornea 80 F 2 × 24 uur.

Macroscopisch uiterlijk: Groot rond epitheel-defect.

Microscopisch onderzoek: Nergens werden eosinophile insluitsels in de kernen gevonden.

In enkele epitheelcellen lag in het cytoplasma een scherp begrensd ovaal, met eosine rood gekleurd, lichaampje.

Op enkele plaatsen (scarificaties) was een epitheelkegel in het bindweefsel gedrongen; in het aangrenzende bindweefsel talrijke, ten deele uiteengevallen gelobdkernige witte bloedcellen.

Tusschen en in de epitheelcellen lagen hier eveneens leucocyten, maar bovendien donkerblauw, met ijzerhaematoxyline intens zwart gekleurde korrels. Een hofje omgaf deze lichaampjes niet, evenmin lagen ze in een inbochting van de celkern. In joodgroen-fuchsine preparaten zijn deze korrels rood gekleurd.

Vergelijken we de uitkomsten dezer entingen met de vondsten van LIPSCHÜTZ, LUKSCH en LOEWENTHAL, dan komen we tot de slotsom, dat de door LIPSCHÜTZ beschreven „herpeslichaampjes” voorkwamen in enkele hoornvliezen, geënt met inhoud van herpesblaasjes, welke na de verzameling onmiddellijk verwerkt werd, niet in die, welke stamde van een patiënte met „colisepsis”.

Als factoren, waaraan deze mislukking kan geweten worden, moeten worden genoemd:

1^o. de zéér geringe hoeveelheid vocht, die verzameld kon worden.

2^o. de tijd ($\pm$ 24 uur) verlopen tusschen het winnen van het materiaal en het enten van het proefdier.

In de kernen der bindweefselcellen zocht ik deze lichaampjes tevergeefs; ook hierin zouden ze volgens LIPSCHÜTZ voor kunnen komen.

LIPSCHÜTZ wees er met zekeren nadruk op, dat men de lichaampjes vooral in „jonge” corneae moet zoeken; na 24 uur zouden ze slechts met moeite te vinden zijn.

Deze moeilijkheid ondervond ik niet; in 2×24 uur, ja zelfs in 3×24 uur „oude” hoornvliezen waren ze in groote getale aanwezig.

In met ijzerhaematoxyline volgens HEIDENHAIN en een slappe fuchsine-oplossing (1/2000) gekleurde sneden onderzocht ik de fijnere structuur dezer vormsels. Inderdaad ziet men, zoo te werk gaande, vooral aan den omtrek van het „herpeslichaampje”, maar soms ook (schijnbaar?) inwendig

liggend kleine, ($\pm \frac{1}{2} \mu$) zwarte, ronde korreltjes die zich niet onderscheiden van chromatinekorrels, zooals deze ook in „normale” kernen te zien zijn.

LIPSCHÜTZ zelf is trouwens, tenminste bij herpes febrilis en genitalis, in gebreke gebleven „strongyloplasmata” aan te toonen; bij herpes zoster daarentegen meende hij als zoodanig uiterst fijne ronde korreltjes te moeten beschouwen, die hij in de insluitlichaampjes vond.

Indien de voorstelling van LUGER en LAUDA over het ontstaan dezer lichaampjes juist is, dan laat zich het voorkomen van basophile korrels aan den omtrek gemakkelijk verklaren als gevolg van een onvolkomen scheiding tusschen de basi- en oxychromatische stof.

Evenals LUKSCH, HOTORI WATANABE e.a. vond ik, behalve de lichaampjes van LIPSCHÜTZ, met joodgroen-fuchsine rood, met ijzerhaematoxyline zwart gekleurde lichaampjes in het cytoplasma.

De overgrootste meerderheid van deze „lichaampjes” voldeed echter niet aan de eischen die in de Inleiding aan lichaampjes van Guarnieri gesteld werden, met name deukten ze slechts zeer zelden de kern in. Deze enkelingen zijn dan ook niet van lichaampjes van Guarnieri te onderscheiden.

Hoornvlies 58 F bewijst, dat dergelijke lichaampjes ook bij afwezigheid van „lichaampjes van Lipschütz” voor kunnen komen. Ook die, welke HOTORI WATANABE afbeeldt, toonen meestal geen nauw verband met de celkern. Hun aantal is, althans volgens de teekeningen, zéér veel grooter, dan van die, welke ik kon opsporen.

LOEWENTHAL's protozoön-achtige vormsels heb ik niet kunnen vinden, tenzij men als zoodanig de intracellulaire eosinophile „lichaampjes” wil beschouwen uit cornea 21 F. Dit hoornvlies miste overigens alle afwijkingen, die het histologisch beeld eener keratitis herpetica kenmerken.

LIPSCHÜTZ beschreef dergelijke intracellulaire eosinophile lichaampjes als pseudo-insluitlichaampjes en vatte ze op als producten eener „hyaliene” celontaarding. Daar ze in en niet buiten de cel worden aangetroffen, zich met het picrine-zuur uit het mengsel van Van Gieson geel kleuren, ware de term „albumineuze ontaarding” te verkiezen.

B. WATERPOKKEN.

Om de diagnostische waarde van de hoornvliesproef te toetsen, heeft men vaak entingen met den inhoud van waterpokpuisten uitgevoerd. Hetgeen daarna aan macroscopische en microscopische veranderingen gevonden werd, achtten de oudere schrijvers een uitvoeriger beschrijving blijkbaar niet waard; ze beperkten zich tot de mededeeling, dat lichaampjes van Guarnieri ontbraken.

SALMON (1905), TYZZER (1905) (geciteerd naar Rivers en Tillett), en TEISSIER, GASTINEL en REILLY (1922) waren niet in staat met den inhoud van waterpokblaasjes „een specifieke reactie” in het konijnenhoornvlies op te wekken.

ALDERSHOFF (1906) nam een veel sterker troebeling waar in de met varicellen-materiaal geënte cornea, dan in de gevaccineerde; na 48 uur had zich ter plaatse van het epitheelzakje, waarin de etter gebracht was, een absces gevormd. Microscopisch overwogen verval van epitheelcellen en ophooping van leucocyten; lichaampjes van Guarnieri ontbraken.

In 1909 kwam BERTARELLI met een publicatie, waarin hij in een reeks van 15 entingen regelmatig insluitsels in de basale cellaag vond, die hij beschreef als zeer kleine ronde korrels, omgeven door een ongekleurd hofje. Deze lichaampjes lagen ver van de kern verwijderd. Bertarelli beschouwde deze vormsels als specifiek voor waterpokken. Op grond van moeilijker kleurbaarheid en hunne ligging waren ze gemakkelijk van lichaampjes van Guarnieri te onderscheiden.

SWELLENGREBEL (1911) nam in 4 gevallen intranucleaire lichaampjes waar, ook in een hofje gelegen, niet zelden door fijne linine-vezeltjes met de omgevende kernmassa verbonden.

Deze lichaampjes zouden uit de kern gestooten worden en dan soms groote gelijkenis toonen met die van GUARNIERI; ook de kleuring van EHRLICH—BIONDI—HEIDENHAIN, waarbij „echte” Guarnieri's groen, pseudo-Guarnieri's rood gekleurd zouden worden (HUECKEL), liet SWELLENGREBEL soms in den steek. Het aantoonen van „Initialkörperchen” zou dan uitkomst moeten brengen.

Het aantal extranucleaire lichaampjes was echter veel geringer dan dat der intranucleaire.

Aan de specificiteit der variola-vaccine lichaampjes twijfelde SWELLENGREBEL geenszins.

Volgens MANCHOUX zou LEVADITI in varicellen-corneae lichaampjes van Guarnieri gezien hebben.

GINS (1918) vond na enting met waterpok-materiaal weer geheel andere veranderingen; bij de proef van PAUL viel reeds op, dat het hoornvlies een vlakke sluier-achtige troebeling toonde. Was deze troebeling minder gelijkmatig, maar haardvormig dan kon dit tot vergissingen aanleiding geven met een positieve proef van PAUL; GINS bekende, dat hem dit in den beginne overkomen was.

Microscopisch vielen de sneden op door een ongelijkmatige kleuring volgens GIEMSA; sommige celgroepen hadden een fel-rood protoplasma, andere weer bijzonder sterk gekleurde kernen. Ook de rangschikking der cellen had plaatselijk haar regelmatigheid verloren; het scheen of vreemde celgroepen tusschen het epitheel ingekropen waren. Bovendien waren de sneden rijk aan „ringcellen”, (de door ELMASSIAN bij vaccine beschreven „cellules en sphacèle protoplasmatique”), „Schachtelzellen” en vooral reuscellen. Op dezen trias: negatieve proef van PAUL, talrijke reuscellen en het ontbreken van lichaampjes van GUARNIERI, meende GINS zelfs de diagnose „waterpokken” te kunnen stellen.

In vele epitheelcellen kwamen insluitlichaampjes voor, die zich meestal met de eosine uit het mengsel van Giemsa kleurden, in overkleurde, dikke sneden de kleur van de kernsubstantie aannamen. Ook deze insluitsels waren weer veelvormig, door een ongekleurde zoom omgeven, ze deukten de kern in en hadden de grootte van een normale epitheelkern.

Sommige van GINS' afbeeldingen doen aan in epitheelcellen gekropen leucocyten denken; Gins zelf liet trouwens de mogelijkheid, dat de insluitlichaampjes voor een deel veranderde witte bloedcellen waren, open.

In één geval van waterpokken vond GINS vormsels, die „den Guarnierikörperchen recht ähnlich sahen” en omgekeerd in sommige pokkengevallen lichaampjes, die geleken op de insluitsels bij varicellen.

Aan GINS' onderzoek kleeft m.i. één groot bezwaar: het dateert uit een tijd, toen in Duitschland pokken heerschten en het maakte deel uit van een reeks, met diagnostisch doel uitgevoerde, hoornvliesentingen, waarbij naar GINS' eerlijke bekentenis enkele vergissingen zijn voorgekomen. Juist

in die gevallen, waarbij de clinicus in twijfel verkeerde, zal bij voorkeur aan de laboratoriumproef de beslissing gelaten zijn. Om de veranderingen, die inhoud, hetzij van pokpuisten hetzij van waterpokpuisten, op het hoornvlies teweeg brengt, na te gaan, dient uitgegaan te worden van materiaal, dat van patienten stamt, bij wie de behandelende geneeskundige volkomen zeker van zijn diagnose is.

Opvallend zijn de groote verschillen in uitkomsten, in de literatuur vastgelegd, tegenover de regelmatigheid der bevindingen van elken schrijver afzonderlijk.

Nader onderzoek, op grooten schaal, blijft hier ongetwijfeld gewenscht, maar juist bij deze, meestal onschuldige, kinderziekte stoot het verkrijgen van materiaal op groote moeilijkheden, omdat de lijders zelden in een ziekenhuis worden opgenomen en men aangewezen is op de bereidwilligheid der artsen om hunne patienten een wel onschadelijke, maar dan toch voor henzelve volkomen nuttelooze bewerking te doen ondergaan.

Tot mijn spijt kan ik dan ook slechts berichten over hoornvliesentingen bij 4 konijnen, uitgevoerd met puistinhoud van twee patiëntjes.

EIGEN ONDERZOEK.

Waterpokpuistinhoud, welwillend verzameld door coll. Carstens, kinderarts te Utrecht, werd gewreven in de gesscarificeerde hoornvliezen van 2 konijnen. Na 2 dagen werden deze dieren gedood.

Daar alle corneae, zoowel microscopisch als macroscopisch, in hoofdzaken overeenkwamen, kan volstaan worden met een samenvattende beschrijving.

Macroscopisch uiterlijk: Glad en doorschijnend.

Microscopische bevindingen: (Fixatie: Bouin en Zenker. Kleuring: Haematoxyline-eosine; van Gieson-Weigert).

Het stroma bevatte slechts weinig leucocyten.

Het epitheel was ongeschonden. Enkele kerndeelingsfiguren. De celkernen gezwollen, vooral in de oppervlakkige lagen; ze kleurden zich zwak met haematoxyline.

Ongekleurde hoven omgaven vaak de kernen.

Het protoplasma duidelijk korrelig.

„Schachtelzellen” en reuscellen kwamen in matig aantal voor.

In enkele epitheelcellen in een hofje liggend, nagenoeg ronde, met eosine rood gekleurde „lichamen” ter groote van een celkern, homogeen van structuur, centraal soms een grilig „basophiel” vorm-

seltje bevattend: kernrest (?). Deze lichamen kleurden zich in van Giesonpreparaten geel.

Van lichaampjes van Guarnieri of iets, dat er op lijkt, geen spoor.

Materiaal van een tweeden lijder aan waterpokken werd ons bezorgd door den kinderarts Becking te Utrecht.

Ook dit werd gebracht in de hoornvliezen van 2 konijnen en de corneae na 2 dagen onderzocht.

De uitkomsten kwamen grootendeels overeen met de bovenbeschrevene; het aantal reuscellen was op enkele plekken in de preparaten héél groot: 4—5 per gezichtsveld bij 900-voudige vergrooting! In één der hoornvliezen werden in de basale cellaag enkele (2 à 3 per snede) ronde, intens zwart met ijzerhaematoxyline gekleurde lichaampjes, aangetroffen, die hoewel niet ver van de kern verwijderd, deze *niet* indrukten.

Vergelijken we deze resultaten met de in de literatuur vastgelegde, dan treft een analogie met die van GINS. Wel werden in één hoornvlies enkele lichaampjes gevonden, die aan de door BERTARELLI beschrevene herinneren; in tegenstelling tot hetgeen BERTARELLI aangeeft, stond hun kleuring met ijzerhaematoxyline, zeker niet achter bij die van Guarnieri's.

De gevonden reuscellen kwamen geheel overeen met die welke in gevaccineerde corneae worden aangetroffen, onderscheidden zich van die in herpetische hoornvliezen; met name zijn in deze laatste de afzonderlijke kernen kleiner en duidelijk van elkander gescheiden, hun aantal is grooter en toch beïnvloeden ze elkanders vorm minder dan in de cellen bij pokken en waterpokken.

Wat de door GINS waargenomen eosinophile insluitsels betreft: men kan allerlei overgangen vinden tusschen „Schachtelzellen“, die cellen insluiten, welker protoplasma nog fijnkorrelig is, en die een onveranderde kern hebben, via cellen met min of meer homogeen protoplasma en een enkele grillige kernrest, tot volkomen homogene, kernlooze protoplasmaklonters. Voorzoover de door GINS beschreven insluitsels géén gel. leucocyten en hunne resten zijn, waaraan enkele zijner afbeeldingen doen denken, houd ik ze voor nekrobiotisch te gronde gegane, „gephagocyteerde“ epitheelcellen. Bij vaccine-corneae kan men dergelijke vormsels aantreffen.

Voorloopig lijkt mij GINS' trias: negatieve proef van Paul, géén lichaampjes van Guarnieri, véél reuscellen, diagnostisch

niet te gebruiken; daarvoor loopen de uitkomsten der entingen met varicellen-inhoud tévéél uiteen en, zooals later zal worden beschreven, komen reuscellen niet alleen bij (koe)pokken en waterpokken voor, maar ook in corneae met bekende microben geënt.

Hoewel een verschijnsel om diagnostische beteekenis te hebben niet specifiek behoeft te zijn, is het verschijnsel „reuscellen” toch wel wat al te banaal.

De negatieve proef van Paul, en het ontbreken van lichaampjes van Guarnieri zijn bovendien geen verschijnselen.

In tegenstelling met SWELLENGREBEL trof ik géén lichaampjes aan, die op Guarnieri's geleken; het onderzochte materiaal was echter wel zeer klein en in dit opzicht beschouw ik mijn onderzoek dan ook als onvoldoende.

C. ENTINGEN MET MICRO-ORGANISMEN, ENZ.

PONDMAN en, onafhankelijk van hem, PETTE te Hamburg toonden aan, dat de vaccinatie van konijnen, reeds tevoren op de slijmvliezen van deze dieren aanwezige kiemen, tot de groep der „Pasteurellae” behorende, kan activeeren.

Het R.S.I. is een groot aantal van deze en dergelijke stammen rijk.

Met een drietal entte ik konijnen op de gescarificeerde hoornvliezen, met een, althans voor mij, verrassend resultaat.

Als entstof werden vier en twintig uur oude kweeken op ascites-agar gebruikt, die met ongeveer 5 c.m³. physiologisch zoutwater werden afgeschud; hierbij ontstond een melkwitte suspensie.

Twée dagen na de enting werden de dieren gedood, de oogen in de vloeistof van Bouin gefixeerd en de hoornvliezen op de gewone wijze in celloïdine ingesloten.

Macroscopisch waren de hoornvliezen niet glad; de proef van Paul viel bij alle negatief uit.

Als voorbeeld volg hier het verslag van het microscopisch onderzoek van de met den stam „Groningen” geënte corneae.

In het bindweefsel kwamen weinige leucocyten voor; méér tusschen en in epitheelcellen.

Het epitheel was matig en gelijkmatig verdikt, hetgeen berustte zoowel op celoedeem, als op celvermeerdering (kerndeelingsfiguren).

Naast „Schachtelzellen” (fig. 3) en reuscellen vond ik in elke snede

meerdere lichaampjes, niet van die van Guarnieri te onderscheiden; ze waren vrij klein (2—4 μ in doorsnede), met een hofje omgeven en ze lagen in een inbochting van de kern (fig. 4 en 5.)

De hoornvliezen, met den stam „Hamburg” geënt, kwamen microscopisch ongeveer met de bovenbeschrevene overeen.

Het bindweefsel was echter rijker aan gelobdkernige leucocyten.

Naast insluitsels, die of ver van de kern verwijderd, of niet met een hofje omgeven waren, ook weer meerdere, die de kenmerken van de lichaampjes van Guarnieri hadden. (fig. 6)

Geringer in aantal, maar geenszins ontbrekend, waren dergelijke celinsluitsels in de met de stam „P.A.” geënte hoornvliezen.

Vooraf in de boven iets uitvoeriger beschreven, met den stam Groningen geënte hoornvliezen was een vergaande analogie met gevaccineerde hoornvliezen niet te ontkennen; de, meestal sterk uitgesproken, haardvormige epitheelvermeerdering der variola-vaccine-corneae ontbrak; maar ook bij deze laatste kan deze soms gering zijn.

„Schachtelzellen”, reuscellen, celoeedeem, van Guarnieri's niet te onderscheiden intracellulaire vormsels, dit alles tezamen deed heel sterk aan een vaccine-, of variolaënting denken.

Daar deze stammen uit de keel van een lijder aan hersenontsteking na inenting („Groningen”), uit de gedroogde koepokstof van PASCHEN („Hamburg”), uit het bloed van een gevaccineerd konijn („P.A.”) gekweekt waren, moest de vraag overwogen worden of het misschien mogelijk ware, dat kleine hoeveelheden vaccine-virus zich in stand hadden weten te houden, of zich misschien zelfs vermeerderd hadden in symbiose met de „bacilli bipolares”.

Ondanks het fantastische van deze veronderstelling, kon de mogelijkheid zonder meer niet uitgesloten worden.

Daarom entte ik een vijftal konijnen met min of meer „verwante” bacilli en wel twee met colistammen, en telkens een met typhus-, paratyphus-A en paratyphus-B bacilli.

Bij twee dezer dieren en wel die met den colistam „Beekman” en met den paratyphus-A stam „Deli” geënt, werden ook weer op Guarnieri's sterk gelijkende of daarmee identieke lichaampjes gevonden.

L. en R. cornea konijn 104F (coli „Beekman”)

Het epitheel was niet verdikt, wel kwamen enkele kerndeelingsfiguren voor. Kleurlooze hofjes om sommige epitheelcelkernen.

Leucocyten waren zeldzaam in het bindweefsel, tusschen en in epitheelcellen kwamen er meerdere voor.

Vrij veel insluitlichaampjes, de kern indrukkend, in een hofje gelegen en met ijzerhaematoxyline zwart gekleurd, meestal rond van vorm en van wisselende grootte.

Linkerhoornvlies konijn 123F (Paratyphus-A, „Deli”)

Macroscopisch: glad.

Microscopisch: Het epitheel was matig verdikt; oedeem en proliferatie van epitheelcellen. Vele reuscellen.

Zoowel in epitheel als bindweefsel een vrij groot aantal gelobdkernige leucocyten.

In de epitheelcellen kwamen drieërlei insluitsels voor:

1. gel. leucocyten.
2. lichaampjes, die als brokstukken van leucocytenkernen konden worden herkend.

3. lichaampjes, niet te onderscheiden van die van Guarnieri.

Rechterhoornvlies konijn 123 F (Paratyphus-A „Deli”)

In sommige epitheelcellen enorm vergroote kernen. Hier en daar een lichte uitbocht van het epitheel waaronder een holte met uiteengevallen cellen gevuld.

Insluitlichaampjes als links: de allergrootste ($\pm 7 \mu$ in doorsnede) was niet gelijkmatig zwart gekleurd, er waren ronde lichtere plekjes in te zien.

Van de negatieve entingen zij slechts vermeld, dat in alle kern-deelingsfiguren in kleiner of grooter aantal voorkwamen evenals ongekleurde hofjes om sommige epitheelcelkernen. Bij die met den typhusbacillen stam „F” geënte teekende ik aan : „reuscellen, niet van die in gevaccineerde hoornvliezen te onderscheiden.”

Om na te gaan of regelmatig dergelijke insluitlichaampjes in de hoornvliezen voorkwamen, werden met den paratyphus-A stam „Deli” eenige maanden later nogmaals twee konijnen geënt.

Ook in deze vier hoornvliezen kwamen enkele lichaampjes voor, die de kern indrukten door een ongekleurd hofje omgeven waren en met ijzerhaematoxyline zwart gekleurd werden. Hun aantal was echter veel geringer dan in de hoornvliezen van konijn 123 F. Het aantal reuscellen was eveneens geringer. In het bindweefsel kwamen vele gelobdkernige leucocyten voor.

Met joodgroen-fuchsine kleurden deze insluitsels zich rood, met haematoxyline-eosine soms meer blauw, soms meer roodpaars; bij deze kleuringen gedroegen ze zich dus niet anders dan vaccinelichaampjes. Met diphtheriegif, de stof waarmee o.a. SIKOVSKY positieve resultaten verkreeg, entte ik een drietal konijnen.

Onverdund gif leidde niet tot het gewenschte doel; reeds na 24 uur was van het epitheel slechts een schamel restje over, voor het grootste gedeelte was het afgeschilferd; naast deze celafschilfering beheerschte een zeer sterke immigratie van gelobdkernige leucocyten het beeld.

In de hoornvliezen van konijn 238 F, geënt met vloeistof voor de reactie van Schick, die 0,1 doodelijke dosis voor een cavia per c.m³. bevat, waren per snede enkele ronde, met ijzerhaematoxyline zwart gekleurde lichaampjes zichtbaar, in een nis in de kern liggend en met een licht hofje omgeven. Leucocyten kwamen slechts in een zeer gering aantal voor; het epitheel was in de buurt der entstrepen matig gezwollen.

Tenslotte moge ik hier nog vermelden, dat ik met de volgende stoffen negatieve resultaten kreeg: tuberkelbacilli, B.C.G.-vaccin, inhoud van pemphigusblazen, met, van het Institut Pasteur gekregen, poliomyelitismateriaal (hersenen van een aap) en, met keeluitstrijken van twee patienten die aan poliomyelitis resp. encephalitis leden, gecompliceerd met een op herpes gelijkend uitslag op het mondslijmvlies.

De uitkomsten van de in dit hoofdstuk medegedeelde entingen samenvattend, kan men dus zeggen, dat het met andere stoffen dan vaccine- en variolavirus, namelijk soms met herpesvirus, met sommige microörganismen, en met sterk verdund diphtherietoxine gelukt is, in epitheelcellen van het konijnenhoornvlies insluitsels te verwekken, die zich — althans bij de gevolgde kleurmethoden — niet van lichaampjes van Guarnieri onderscheidden. In een volgend hoofdstuk zal nader in worden gegaan op de vraag of men met recht mag verwachten, dat andere kleurmethoden een differentiatie mogelijk zouden maken. Het bewijs van een g e l i j k h e i d van deze vormsels met vaccine-lichaampjes is hiermede natuurlijk niet geleverd; op morphologische gegevens alléén zal dit bewijs ook wel niet geleverd kunnen worden.

Hoewel lichaampjes van Guarnieri regelmatig en in groot aantal in gevaccineerde hoornvliezen plegen voor te komen, mogen deze entingen, waarbij, wel is waar in geringer aantal en ook onregelmatiger, dergelijke lichaampjes te vinden waren, ernstigen twijfel aan de vrij wel algemeen erkende specificiteit der vaccinelichaampjes wekken.

HOOFDSTUK IV.

OVER DE EIGENSCHAPPEN EN HET WEZEN DER LICHAAMPJES VAN GUARNIERI.

Het is me niet mogen gelukken „nieuwe” eigenschappen van deze lichaampjes te ontdekken, noch nieuwe gezichtspunten omtrent hun wezen te openen. In dit hoofdstuk zal een kritisch overzicht gegeven worden van hetgeen anderen vonden en meenden; in aansluiting daaraan moge het verslag volgen van eigen onderzoek naar de fijnere structuur dezer vormsels.

Wanneer men, zooals bij de lichaampjes van Guarnieri, staat voor onbekende celbestanddeelen, zijn voor onmiddellijk onderzoek de volgende groepen van eigenschappen toegankelijk:

1. chemische eigenschappen.
2. morphologische:
 - a. vorm en grootte.
 - b. de ligging in de cel; hunne verhouding tot bekende celdeelen.
 - c. hun gedrag bij verschillende kleurmethoden.
 - d. hunne fijnere structuur.

Uit de gegevens, die dit onderzoek oplevert, zal men moeten komen tot een oordeel omtrent den waarschijnlijksten aard dezer deeltjes.

Het resultaat van het scheikundig onderzoek der lichaampjes is vrij pover; COWDRY geeft op, dat ze noch de reactie van MILLON, noch de oxydasereactie of die van BENSLEY—MAC CALLUM voor „verborgen” ijzer geven; met osmiumzuur behandeld, kleuren ze zich niet zwart, ze zouden niet uit vetten, koolhydraten of kristallijne stoffen bestaan.

LUKSCH meent, dat de lichaampjes zouden zijn opgebouwd uit lipoïden. Het begrip „lipoïden” is scheikundig niet scherp omlijnd; niet ieder rekent er dezelfde stoffen toe. ABDERHALDEN (geciteerd naar G. HERXHEIMER

„Krankheitslehre der Gegenwart” 1927) heeft zelfs voorgesteld, den naam lipoïden te laten vervallen.

Dat lipoïden vetachtige stoffen zijn, oplosbaar in alcohol, aether en chloroform is wel de meest gangbare meening.

Het feit, dat lichaampjes van GUARNIERI zeer goed in celloïdine-sneden, die bij de insluiting alcohol en alcohol-aether passeeren, kleurbaar zijn, deed me aan Luksch' uitspraak twijfelen.

Eenige malen heb ik vriescoupes achtereenvolgens 24 uur in alcohol absolutus, aether en chloroform gebracht en ze daarna gekleurd volgens VAN GIESON—WEIGERT; de kleuring had door de voorafgaande bewerking geenszins geleden en de lichaampjes waren voortreffelijk zichtbaar.

Hieruit mag wel besloten worden, dat de lichaampjes niet bestaan uit lipoïden, hoewel natuurlijk geenszins bewezen is, dat ze niet, door onze histologische vetreacties niet-aan-toonbare, vetachtige stoffen zouden kunnen bevatten.

Het onderzoek naar de zuiver morphologische eigenschappen der lichaampjes wordt in hooge mate bemoeilijkt door het feit, dat alle bovengenoemde eigenschappen zeer sterk kunnen wisselen, dat m.a.w. uit de waarneming van v e l e lichaampjes zeer moeilijk tot de eigenschappen van „het” vaccinelichaampje kan worden besloten.

UNGERMANN en ZUELZER e.a. hebben dit getracht; in de Inleiding is op het onvolmaakte van hunne definitie gewezen.

In Hoofdstuk I is de aandacht gevestigd op de verschillen in vorm en grootte: in den beginne vooral kleine, ronde, intens gekleurde, later grootere, grillig gevormde, minder sterk gekleurde lichaampjes.

HUECKEL vatte — m.i. terecht — het „groeien” van de lichaampjes op als ten deele veroorzaakt door opneming van vocht. Bij het voortschrijden van het proces wordt immers het geheele epitheel vochtrijker; niet onwaarschijnlijk is, dat ook de vaccinelichaampjes hiervan hun deel krijgen. In den losseren bouw, den grooteren afstand tusschen de kleurbare deeltjes vindt dan ook de minder sterke kleurbaarheid der grootere vormsels een gereede verklaring.

Het ongekleurde hofje, dat men om de lichaampjes vindt is waarschijnlijk een kunstproduct.

COWDRY miste het in, in een druppel physiologische

zoutoplossing gesuspendeerd, met brillant-cresylblauw gekleurd, versch afgekrabd epitheel.

Deze kleuring met brillant-cresylblauw is me, ondanks haar schijnbare eenvoud, ten eenenmale mislukt. Evenmin gelukte ze trouwens een, zoo ervaren, onderzoeker als VON PROWAZEK.

Is wellicht het Amerikaansche preparaat van andere samenstelling als dat van Grüber?

Ook in „Klatsch” preparaten van het hoornvlies, gefixeerd in sublimaat-alcohol en volgens GIEMSA gekleurd, mist men de hofjes, waarop VON PROWAZEK e.a. wezen, en wat ook mij opviel.

Waarschijnlijk kunnen de geïsoleerd liggende cellen en celgroepjes der Klatschpreparaten zich, bij de met de fixatie onvermijdelijk verbonden schrompeling, beter in hun geheel, en meer gelijkmatig samentrekken dan de, in stevig onderling verband liggende, cellen der weefselsneden, waardoor in deze laatste éérder holtetjes rondom kern en insluitlichaampjes ontstaan dan in de eerste.

In afbeeldingen van paraffinesneden zijn de hofjes dan ook veel grooter dan in celloïdine coupes (vgl. b.v. de groote holten, die E. PFEIFFER in zijne publicatie afbeeldde).

COWDRY houdt ook de indeuking van de kern voor een gevolg van de behandeling, die de weefselsneden hebben doorstaan.

In ongekleurd hoornvliesafkrabsel in physiologisch zoutwater gesuspendeerd, heb ik deze indeukingen wel degelijk aangetroffen. Wel is waarschijnlijk, dat een bestaande lichte indeuking door schrompeling versterkt kan worden.

In de Inleiding is er ook reeds op gewezen, dat, alhoewel de lichaampjes meestal in de nabijheid van de kern liggen, — GORINI beschouwde dit topografisch verband tot de kern zelfs als het voornaamste kenmerk der lichaampjes — men de kleinste en kleine vormen, ook verder van de kern verwijderd aan kan treffen. Hieruit trekken sommigen de conclusie, dat ze dus niet van de kern afkomstig kunnen zijn. ALDERSHOFF meende dit argument te kunnen ontzenuwen, door aan te nemen, dat de deeltjes met kracht van of uit de kern geslingerd zouden worden. Deze kracht moet dan wel groot zijn; een deeltje met kleine massa, zich in een half-vloeibare stof, zooals het celprotoplasma is, voortbewegend, zal een groote wrijving ondervinden.

Het gedrag der lichaampjes bij verschillende kleuringen wordt door sommige onderzoekers hoog aangeslagen, bij hunne pogingen om de herkomst der deeltjes te verklaren.

Wat mag men uit de resultaten van histologische kleuringen — de microchemische reacties uitgesloten — verwachten?

De beantwoording van deze vraag hangt samen met de voorstelling, die men zich vormt van het wezen van het kleurproces. Meende men vroeger (HEIDENHAIN, UNNA e.a.), dat het wezenlijke van de kleuring een scheikundige binding tusschen kleurstof en weefsel was, tegenwoordig neigt men meer tot physische en physico-chemische verklaringen.

Het verst gaat hierin wel VON MÖLLENDORFF, die, althans voor zure kleurstoffen, aanneemt, dat het resultaat der kleuring, grootendeels of uitsluitend afhangt van de verhouding, die er bestaat tusschen den dispersiegraad van de kleurstof en de dichtheid van de weefsel- en celdeelen. Kleuring met zure kleurstoffen zou eenvoudig een doordrenking van cellen en weefsels zijn. Uit een mengsel van twee of meer zure kleurstoffen van verschillenden dispersiegraad zou de hoogst-disperse de dichtste, die van geringer dispersiteit de minder dichte weefseldeelen kleuren. Basische kleurstoffen zouden behalve door doordrenking, in bepaalde gevallen ook kleuren door een neerslag op de oppervlakte der weefselstructuren te vormen; dit neerslag zou het gevolg zijn van een uitvlokking van basische kleurstof door zure colloïden.

BECHHOLD vat het kleuringsproces op als eene adsorptie van de kleurstof aan de celstructuren, al dan niet gevolgd door een chemische binding.

Deze theoretische beschouwingen zijn geheel in overeenstemming met het ervaringsfeit, dat zeer verschillende weefselbestanddeelen zich met dezelfde kleurstof uit een bepaald mengsel kunnen kleuren. Omgekeerd bewees KREBS, een leerling van VON MÖLLENDORFF, aan dwarsgestreept spierweefsel, dat dezelfde structuren zich, afhankelijk van haar vochtgehalte, verschillend kunnen kleuren met éézelfde mengsel.

Daarnaast mag niet uit het oog worden verloren, dat vooral ingewikkelde „gevoelige” kleuringen in de handen van verschillende onderzoekers een verschillende uitkomst kunnen geven. De Giemsakleuring, zoo buitengewoon gevoelig voor

verandering van de waterstofionenconcentratie, is hiervan een bekend en sprekend voorbeeld. (vgl. ROMEIS, Taschenbuch der mikroskopischen Technik, 12te Auflage 1928).

Het blijft dan ook altijd min of meer gevaarlijk — een conclusie, die men in de literatuur over de lichaampjes van Guarnieri herhaaldelijk tegenkomt — om uitsluitend op een verschillende kleur, die overigens op elkander gelijkende deeltjes, bij een bepaalde „ingewikkelde” kleuring door verschillende onderzoekers uitgevoerd, aannemen, tot hunne niet-gelijkheid te besluiten.

Een enkel voorbeeld moge het voorafgaande aan het bijzondere geval der lichaampjes van Guarnieri illustreeren.

SALMON, een leerling van Metchnikoff, vergeleek, met een vrij groot aantal methoden, de kleur van gelobde leucocytenkernen met die van de lichaampjes van Guarnieri en besloot uit de gelijke kleur tot hunne identiteit.

Later onderzoek (o.a. VAN ALDERSHOFF en BROERS 1906) heeft met aan zekerheid grenzende waarschijnlijkheid uitgewezen, dat deze meening onjuist is.

Eén der argumenten, waarmee HUECKEL, SALMON bevestigde, was deze, dat leucocytenkernen in met joodgroen-fuchsine gekleurde sneden blauwgroen, lichaampjes van Guarnieri rood waren.

Dit argument gaat echter niet op, als men in plaats van paraffinesneden volgens de modificatie van ALBERT ZIMMERMANN (Hueckel's werkwijze), op vriessneden de oorspronkelijke methode van RUSSELL toepast, zooals ik deed.

De leucocytenkernen houden dan de fuchsine langer vast dan sommige Guarnieri's. Het verschil tusschen beide werkwijzen komt in hoofdzaak hierop neer, dat ALBERT ZIMMERMANN met een mengsel van beide stoffen, RUSSELL achtereenvolgens met fuchsine en joodgroen kleurde.

Als voorbeeld van een wisselvallige kleuring, waaruit verstrekkende conclusies getrokken zijn, kan ook die van EHRLICH—BIONDI—HEIDENHAIN, met een mengsel van Oranje-G, zuurfuchsine en methylgroen, dienen.

HUECKEL grondde daarop de specificiteit der vaccine-lichaampjes (zie blz. 33). De „echte” lichaampjes van Guarnieri zouden zich hiermede blauw of blauwgroen kleuren.

Sommige waren omgeven door „attributen”, die rose gekleurd waren: een rosegekleurde zoom, een krans van rose

korrels, soms draden, die door den omgevenden hof gespannen, samen hingen met het celprotoplasma. In „jonge” hoornvliezen ontbraken deze attributen veelal om de insluitsels. Geheel rood of rose gekleurde lichaampjes kwamen, behalve in gevaccineerde hoornvliezen, óók voor in op andere wijze beschadigde.

Aan LUKSCH en HOTORI WATANABE gelukte het niet de vaccinelichaampjes groen te kleuren; ze werden altijd rood.

Ik heb deze kleuring toegepast op vele celloïdine- en vriesneden. Het mengsel der kleurstoffen werd naar de aanwijzingen van KRAUSE, volgens Romeis „die beste Vorschrift”, bereid en in een geparaffineerde kolf van Erlemeyer bewaard.

Het bleek me, dat het veel gemakkelijker was, om alle lichaampjes rood, dan om sommige groen te kleuren. Dit laatste gelukte me slechts in enkele sneden.

Is de veronderstelling te gewaagd, dat Hueckel niet twee, in wezen verschillende, soorten van lichaampjes onderscheidde met deze kleuring, maar één enkele, welke exemplaren van verschillende dichtheid omvatte? Als men het kleurstofmengsel op, in reageerbuizen gestolde, gelatine giet, blijkt het methylgroen het gemakkelijkst te diffundeeren, het hoogst dispers te zijn. Volgens VON MÖLLENDORFF's theorie zou dit dus de dichtste celstructuren moeten kleuren. Dit klopt geheel met hetgeen HUECKEL beschreef: de jonge, weinig vocht bevattende, lichaampjes kleurden zich geheel groen, de andere waren omgeven door rosegekleurde attributen: de perifere gedeelten van de lichaampjes, met vocht doordrenkt en lossen van bouw. Zelfs bij de zoo eenvoudige kleuring met haematoxyline-eosine is de kleur, die de lichaampjes van Guarnieri (en ook die bij herpes) aannemen, niet altijd dezelfde: nu eens kleuren ze zich meer met de basische dan weer meer met de zure kleurstof. LIPSCHÜTZ noemde de insluitlichaampjes dan ook „amphophiel”.

Reeds VON HANSEMAN (1904) verzette zich tegen de te groote waarde, die sommigen aan „kleurreacties” hechtten; zijn betoog vatte hij samen in den uitspraak: „Auf die Farben- nuancierungen lege ich also für die Unterscheidung nicht so grossen Wert, als vielmehr auf die morphologischen Verhältnisse, die hierbei in Frage kommen”.

Werden de vroegere onderzoekingen naar het wezen van de lichaampjes van GUARNIERI beheerscht door de vraag of ze al dan niet protozoën of althans microorganismen waren, in de latere literatuur werd vooral gezocht naar het verband tusschen deze en de lichaampjes van VOLPINO, van CASAGRANDE en die van PASCHEN.

Reeds GORINI (1902) vond in de epitheelcellen van geënte hoornvliezen kleine, ronde korreltjes zonder hofje, die zich met haemaluin kleurden. GORINI sprak van „chromatisch stof” en liet zich verder niet over den aard dezer deeltjes uit. Dat het géén, tegelijk met de koepokstof, ingebrachte bacteriën waren, trachtte hij door entingen met „steriele” vaccine te bewijzen.

In 1904 vestigde Bosc de aandacht op eigenaardige korreltjes, die hij „formes d'apparence bactérienne ou corpuscules chromatiques” noemde. Deze lichaampjes waren zóó klein, dat ze met de sterkste vergrotingen nauwelijks zichtbaar waren, ze waren door een helder hofje omgeven. Bosc veronderstelde, dat uit deze lichaampjes de lichaampjes van Guarnieri groeiden, die vervolgens weer in dergelijke chromatische korrels uiteen zouden vallen. Hij beschouwde ze als één der ontwikkelingsvormen van zijn „plasmodium vaccinae”.

Deze waarnemingen als punt van uitgang nemend, verrichtte VON PROWAZEK uitgebreide onderzoekingen, die hem leidden tot het opstellen van zijn Chlamydozoëentheorie.

VON PROWAZEK onderscheidde drie soorten van lichaampjes:

1^e. Elementär-körperchen, de verwekkers van variola en vaccinia, die de epitheelcellen binnendringen.

2^e. Initial-körperchen, grooter dan de Elementär-körperchen en uit deze ontstaan, in de cel gelegen en nog in staat zich te deelen.

3^e. Om deze Initial-körperchen hoopen zich chromatine en plastine op, die het lichaampje van Guarnieri vormen.

Het aantal Initial-körperchen, dat in de cel ligt, is aanvankelijk groot, maar slechts één of enkele zouden alle aanwezige „reactieproducten” tot zich trekken, wat een verklaring geeft voor het feit, dat het aantal lichaampjes van Guarnieri per cel beperkt is, het aantal Initial-körperchen veel grooter.

VON PROWAZEK nam aan, dat later uit deze Guarnieri's weer Elementär-körperchen vrij zouden komen; hoe dit gebeurt, zou nog niet geheel bekend zijn.

Dit is VON PROWAZEK's theorie, zooals hij deze in 1915 samen met S. MIYAJI formuleerde.

Aanvankelijk (1905) onderscheidde VON PROWAZEK alléén „Initialkörperchen” en lichaampjes van Guarnieri. De eerste meende hij reeds $1\frac{1}{2}$ uur, de laatste 3 (!) uur na de enting te hebben gezien.

Hij vereenzelvigde deze „Initialkörper” met de „formes bactériennes” van BOSC.

CASAGRANDE (1906, geciteerd naar Galli-Valerio) vond in koepokpuisten en pulpa, gekleurd volgens Volpino—Levaditi en Giemsa, uiterst fijne korreltjes, die den Berkefeld-W-filter passeerden. Behalve in den puistinhoud zouden ze ook in en tusschen de epitheelcellen voorkomen.

In 1907 nam E. PASCHEN in kinderlymphe en later ook in variolapustels lichaampjes waar, die zich met de gebruikelijke bacteriologische kleurstoffen niet lieten kleuren, vaak paarsgewijze lagen en ongeveer $\frac{1}{2} \mu$ in doorsnede maten. (fig. 7). Berkefeldfilters hielden deze lichaampjes niet tegen, wel de Chamberlandkaarsen. Ze boden aan de inwerking van 2% azijnzuur en 2% kaliloog weerstand en zouden door serum antivaccinosum worden geagglutineerd.

Dit laatste kon door VON PROWAZEK en MACCALLUM (1923) die een vernuftige methode aangaf om de korreltjes door centrifugeeren van verontreinigingen te bevrijden, niet worden bevestigd.

Als kleuring gaf PASCHEN aan: beitsing met Löffler-beits, kleuring met carbolfuchsine, beide onder verwarming.

In het mengsel van Giemsa nemen deze lichaampjes van Paschen een zwakke blauwe tint aan.

Dergelijke lichaampjes vond VON PROWAZEK (1908) in het beslag, dat na ultrafiltratie van koepokstof op den agarkegel terugbleef. Een gering verschil in grootte weerhield hem aanvankelijk om deze lichaampjes aan die van PASCHEN gelijk te stellen; nader onderzoek leerde hem, dat geringe verschillen in grootte te wijten waren aan de verschillende kleurmethoden, die werden toegepast.

VOLPINO (1908) bestudeerde hoornvliesafkrabsel, in physiologische zoutoplossing gesuspenderd, in het donkere veld.

In de gezwollen epitheelcellen zag hij heldere zeer bewegelijke korrels, $\pm 0,2 \mu$ in doorsnede.

VOLPINO kon ze reeds 30 uren na de enting vinden; na 48 tot 70 uur waren ze het talrijkst. Werd bij het verse ongekleurde preparaat op 56° verwarmd immuunserum gevoegd, dan werden de bewegingen der deeltjes langzamer en hielden ten laatste op.

Met zeer sterk verdunde Giemsa kleurstof (1 druppel op 15 c.M³. water) kleurden ze zich blauw.

CASAGRANDE trachtte de gelijkheid van de door Volpino en door hemzelve waargenomen deeltjes aannemelijk te maken, waartegen Volpino zich verzette.

VON PROWAZEK en YAMAMATO (1909) en, na hen HARTMANN (1910) en GALLI—VALERIO (1912) spraken zich uit voor de volkomen gelijkheid van al deze deeltjes.

In de nu volgende literatuur geraakten de lichaampjes van VOLPINO en CASAGRANDE op den achtergrond; latere publicaties leveren hoofdzakelijk bijdragen tot of bestrijding van de hypothesen van PASCHEN en VON PROWAZEK.

LIPSCHÜTZ (1911) bracht de lichaampjes van Paschen en de Elementärkörperchen van VON PROWAZEK onder in de, door hem geconstrueerde, groep der „Strongyloplasmata” zéér kleine, moeilijk kleurbare ronde microörganismen, de filtreerbare verwekkers van tal van ziekten.

„Strongyloplasma” is een wijder begrip dan „Chlamydozoën”; het laatste is een strongyloplasma, omgeven door een insluitlichaampje.

MOROSOW (1927) meende, niet alleen in dermovaccine, pokpuisten en geënte hoornvliezen lichaampjes van Paschen te zien, maar ook in geënte teelballen en hersenen van konijnen. Hij gaat zelfs zóóver, dat hij in het aantal lichaampjes van Paschen een maat meent te hebben voor de sterkte van een koepokstof. Hij maakte bij zijn onderzoek gebruik van een zilverkleuring, die, op een geringe wijziging na, geheel overeenkomst met de bekende methode van Fontana—Tribondeau.

Volgens MOROSOW's voorschriften onderzocht ik neuropiline, met herpessmetstof en „virus fixe” geïnfecteerde konijnenhersenen en hersenen van een gezonden aap.

Van deze hersenen werden stukjes in physiologisch zoutwater verwreven en van de suspensies uitstrijkpreparaten gemaakt.

Onder 12 stel neurolapine-hersenen, vond ik er één, waarvan ik meende dat het, boven elken twijfel verheven, lichaampjes van PASCHEN bevatte: enkele gezichtsvelden krioelden van gelijk grootte ($\pm 0,5 \mu$), zwarte korreltjes waarvan sommige een diplococvorm hadden.

Contrôleproeven maakten dit, schijnbaar positief, resultaat volkomen waardeloos.

Ook in normale apenhersenen, in herpes- en lyssa-hersenen vond ik met dezelfde werkwijze, dergelijke gezichtsvelden; diplococvormen ontbraken hier evenmin.

In beide gevallen kan ik in de korreltjes, die zoo sprekend op lichaampjes van PASCHEN gelijken, niets anders zien, dan een zilverneerslag, het groote euvel, waaraan alle zilverimpregnaties min of meer lijden.

De kleuring volgens LÖFFLER—PASCHEN kan op dit materiaal niet worden toegepast; de uitstrijken van hersenweefsel worden dan tot donkerroode, bijna ondoorzichtige massa's.

Deze ervaring wettigt wel sterken twijfel aan de bevindingen van MOROSOW, wiens werkwijze ik pijnlijk nauwkeurig volgde.

PASCHEN zelf heeft nooit „zijn” lichaampjes in neurolapine, noch in, in weefselcultures gekweekte, smetstof kunnen vinden; hij neemt dan ook (1930) zijn toevlucht tot de hulp-hypothese, dat de Elementär-körperchen niet de éénige vorm zijn, waaronder de smetstof zich manifesteert; neurolapine etc. zou een niet-zichtbare, niet-kleurbare modificatie bevatten.

HUNTEMÜLLER (1914) meende, dat de zg. lichaampjes van Paschen slechts eiwitdeeltjes waren; in mengsels van serum en bouillon zag hij dergelijke vormsels.

HOTORI WATANABE (1930) trachtte, zoowel door ontkleuring van zijn preparaten met zuren, basen, alcohol en aceton, als door kleuring met een groot aantal kleurstoffen deze lichaampjes te onderscheiden van „gewone” eiwitkorrels, wat hem echter niet gelukte.

Nu is de diagnose: „lichaampjes van PASCHEN” vrij moeilijk en alléén te stellen wanneer het preparaat krioelt van onderling gelijke korreltjes; dezen eisch stelt Paschen dan ook. In elken willekeurigen uitstrijk volgens Löffler—Paschen gekleurd, zijn wel enkele lichaampjes te vinden, die er in vorm, grootte en kleur mee overeenkomen.

Bij waterpokken (GINS), molluscum contagiosum (LIP-SCHÜTZ) zijn dergelijke vormsels gevonden; al naar het standpunt dat de verschillende schrijvers innemen, wordt hieruit een argument geput vóór de opvatting dezer deeltjes als weefseldetritus, dan wel vóór de groote beteekenis, die dergelijke strongyloplasmen hebben voor de aetiologie der ziekten met filtreerbaren verwekker.

Als methoden om de fijnere structuur van Guarnieri's lichaampjes zichtbaar te maken werden toegepast:

1^e. De Giemsa-kleuring, zoowel op weefselsneden als vooral op „Klatsch”preparaten (EWING, VON PROWAZEK, LIP-SCHÜTZ e.a.).

2^e. eene kleuring met, door doorleiden van zuurstof gewijzigd, Azuur I, door BÖING.

3^e. de methode van Unna—Pappenheim door LUKSCH.

Vooraf in sublimaat-alcohol gefixeerde „Klatsch”preparaten van het hoornvlies volgens Giemsa gekleurd (zie SCHMORL 15de druk, 1928, blz. 417) zouden fraaie resultaten leveren.

Om me, door eigen aanschouwing, op de hoogte te stellen van deze methode onderzocht ik:

1^e. vier hoornvliezen met Japansche koepokstof geënt resp. 1, 2, 3 en 4 dagen na de enting.

2^e. één, 3 × 24 uur „oud”, hoornvlies geënt met puistinhoud van een patiënte, lijdende aan vaccinia generalisata.

3^e. één 2 × 24 uur „oud” hoornvlies, geënt met, in zout-solutie gesuspenderd, afkrabsel van een vaccinepuist bij een aap.

4^e. één hoornvlies, geënt met puistinhoud van een „alastim”patiënt uit Delft, 3 × 24 uur na enting onderzocht.

5^e. één hoornvlies, geënt met puistinhoud, eveneens 3 × 24 uur na de enting onderzocht.

Van de konijnen, met het sub 2, 3, 4 en 5 opgesomde materiaal geënt, werd één hoornvlies op de gebruikelijke wijze gesneden en gekleurd, om na te gaan of in het andere, met Giemsa gekleurde, lichaampjes van Guarnieri verwacht mochten worden. (Zie tabel IV).

Deze bevindingen komen dus min of meer overeen met hetgeen VON PROWAZEK, LIPSCHÜTZ e.a. vonden en laten zich als volgt samenvatten:

1^e. de lichaampjes van Guarnieri zijn niet homogeen van bouw.

2^e. de affiniteit van de bestanddeelen van het lichaampje van Guarnieri tot de samenstellende kleurstoffen van het mengsel van Giemsa kan, ook in hetzelfde lichaampje verschillend zijn.

3^e. zoowel in het celprotoplasma als in de insluitlichaampjes kunnen rose, zéér kleine „puntjes” voorkomen (Elementärkörperchen?) soms ook blauwe korrels (Initialkörperchen?).

4^e. in het beloop der keratitis vaccinica resp. variolosa neemt het aantal, volgens LÖFFLER—PASCHEN kleurbare $\pm \frac{1}{2} \mu$ „groote” korrels, die soms in diplococvorm liggen, toe.

Ook de methode van Unna—Pappenheim paste ik eenige malen op hoornvliessneden toe.

Nu en dan waren inderdaad in de blauwgekleurde lichaampjes van Guarnieri kleine roode korrels te zien, aan de grens der zichtbaarheid.

Uit de uitspraak van LUKSCH: bij de kleuring van Unna-Pappenheim worden Guarnieri's lichaampjes blauw gekleurd, met roode „Innenkörperchen”, zou men mogen besluiten, dat dit regel is. Dit is, naar mijn ervaring zeker niet het geval.

Evenmin stelle men zich voor, dat men met de kleuring van Giemsa altijd „Initialkörperchen” te zien zou krijgen. VON PROWAZEK zelf beeldde trouwens in één zijner publicaties meerdere, volgens Giemsa gekleurde lichaampjes af, die géén „Initialkörperchen” bevatten.

Met de azuur-I kleuring van BÖING bereikte ik niet het gewenschte doel.

Dr. TASMAN, de scheikundige van het R.S.I., en ik leidden door een 1 : 5 verdunde azuuroplossing gedurende 72 uur zuurstof. De kleurstof bevond zich in een Jena-glasfilterwaschfleschje. Deze werkwijze waarborgde een innig contact tusschen fijn verdeeld gas en vloeistof.

Nadat, met chroomzuur, kaliloog en gedistilleerd water gereinigde, zuurstof geen resultaat opleverde, werd hetzelfde proces herhaald met ongezuiverde zuurstof en, omdat BÖING aangaf, dat blazen over de met onbehandeld azuur-I gekleurde preparaten nu en dan ook de „Innenkörperchen” rood kleurde, met koolzuur.

Om na te gaan of werkelijk een verandering in deze op-

TABEL IV.

I.

Hoornvlies behandeld met	Intracellulaire lichaampjes.	Lichaampjes van Paschen.
Jap. vaccine 24 uur	Roseviolette, ronde tot rondovale lichaampjes in sommige cellen, eenigszins vezelig van bouw en $2\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}$ μ in doorsnede. Roseviolet, driehoekig lichaampje, waarin een donkerblauw violette korrel $1\frac{1}{2}$ μ in doorsnede. In een andere cel een donker violette korrel, de kern eenigszins indrukkend. In meerdere cellen en kernen „hofjes” 1 μ in doorsnede welke een nauwelijks zichtbare rose „punt” of „puntjes” bevatten.	Kleuring volgens Löffler—Paschen: Een bont beeld: naast grootere en kleinere korrels komen er ook wel voor die een doorsnede van $\frac{1}{2}$ μ hebben. <i>Geén verschil</i> met, ter contrië op dezelfde wijze onderzochte, normale cornea.
Jap. vaccine 2×24 uur	Het aantal intracellulaire lichaampjes is belangrijk grooter dan in de 24 uur „oude” cornea. Naast ronde, elliptische roseviolette, die soms ten getale van 8—10 in één cel voorkomen, méér onregelmatig gevormde, iets donkerder van tint. Soms zijn hierin kleine „vacuolen” uitge-spaard, die roode „puntjes” bevatten, in enkele ligt een donker-blauwe ronde korrel, die <i>niet</i> door een hofje is omgeven. Dergelijke korrels liggen een enkele maal ook <i>vrij</i> in het cel-protoplasma.	Kleuring volgens Löffler—Paschen: een groot aantal lichaampjes $\pm \frac{1}{2}$ μ in doorsnede, gelijkmatig van vorm en kleur, vele diploformen. Om groepjes epitheelcellen is het aantal het grootst.
Jap. vaccine 3×24 uur	Als 2×24 uur: Enkele roseviolette Guarnieri's hebben een donkerblauw centrum, andere een scherp omschreven blauwe korrel, 1 — $1\frac{1}{2}$ μ in doorsnede. In één cel een blauw gekleurd, diplococ-vormig insluitel, <i>zonder</i> hofje.	Kleuring volgens Löffler—Paschen: als 2×24 uur (zie foto No. 7). Kleuring volgens Fontana—Tribondeau: Vele plaatsen, waar gelijk groote ($\pm \frac{1}{2}$ μ in doorsnede) korrels liggen, vaak in diploform. De epitheelcellen zijn gelijkmatig zwart: verband tusschen cellijf, cellkern en Paschen's lich. niet na te gaan.
Jap. vaccine 4×24 uur.	Als die van 3×24 uur. Het eenige, wat opvallend is, is de onregelmatige begrenzing van sommige lichaampjes van Guarnieri.	Kleuring volgens Löffler—Paschen en Fontana—Tribondeau: als die van 3×24 uur. Rondom de epitheelcellen is het aantal lich. v. Paschen het grootst.

II.

Hoorvlies behandeld met	Intracellulaire lichaampjes.	Lichaampjes van Paschen.
Afkraabel aap No. 21 (revaccinatie) 2 x 24 uur	Guarnieri's lichaampjes, gekleurd in alle schakeeringen van roserood tot roodviolet. Ze hebben geen homogene structuur, maar zijn uit een netwerk opgebouwd. In één der G's „Initial-körperchen" gezien. In één cel komen 3 insluitlichaampjes voor, die een donkerblauw violet centrum hebben waaromheen een fijn netwerk van roode vezels onscherp overgaand in het protoplasma.	Niet onderzocht.
Puistinhoud patient Delft 3 x 24 uur	Rood-violetten lichaampjes van Guarnieri, behoorend tot de middelgrooten en grooten vormen, ze bevatten soms een $\pm$ 1—1½ μ „grooten" holte. Daarin een lichtrood puntje aan de grens van waarneembaarheid. Ook in het protoplasma komen soms dergelijke holtetjes voor.	Kleurings volgens Löffler—Paschen: resultaat twijfelachtig; ongeveer als van normale cornea.
Puistinhoud patient den Haag 3 x 24 uur.	Geen Guarnieri's of andere insluitlichaampjes gezien in drie uitstrijkpreparaten.	Kleurings volgens Löffler—Paschen: Twijfelachtig.

lossingen aantoonbaar was, verzochten we Dr. MINNAERT, Conservator aan het Natuurkundig Laboratorium der Rijks-Universiteit de absorptiespectra te willen fotografeeren.

Uit de fotogrammen bleek ten duidelijkste, dat de absorptiespectra geen principieele verschillen toonden, waaruit besloten mag worden, dat geen scheikundige veranderingen tengevolge van de behandeling waren opgetreden.

Het opvallend verschil in grootte tusschen de „Innenkörper” der kleuring met Unna-Pappenheim, de zeer kleine korreltjes in sommige, volgens Giemsa gekleurde, vaccine-lichaampjes en „Initialkörper” is een beletsel om, zonder meer, de gelijkheid van al deze vormsels aan te nemen. Stellen de eerste misschien plastinekorrels voor, volgens Von Prowazek c.s. één der bestanddeelen van het lichaampje van Guarnieri? „Elementärkörperchen” toch zouden niet in de lichaampjes, maar buiten de cel en in het cytoplasma voorkomen.

In de veronderstellingen van Lipschütz en Von Prowazek, hoe vernuftig ook opgesteld, is toch nog veel, dat nader bewijs en verklaring behoeft.

Merkwaardigerwijze is er in de laatste tien jaar bitter weinig nieuw bewijsmateriaal aan de argumenten van de auteurs zelve toegevoegd, ondanks het feit dat de ziekten met filtreerbaren verwekker in het middelpunt van de wetenschappelijke belangstelling staan.

De vraag, die ELMASSIAN reeds in 1908 terecht stelde: „Welken geldigen reden kan men aanvoeren om deze zeer kleine vormen als levende organismen, maar de grootere als „reactieproducten” van de epitheelcel op te vatten” is tot nu toe nog niet bevredigend beantwoord.

Welk standpunt men overigens ook ten opzichte van Elementär- en Initialkörperchen inneemt, vrijwel algemeen wordt tegenwoordig met VON PROWAZEK, LIPSCHÜTZ en vele vroegere onderzoekers aangenomen, dat het lichaampje van Guarnieri uit bestanddeelen van de epitheelcel is opgebouwd.

Elk bestanddeel van de cel is op zijn beurt door een of ander auteur aangezien als moederstof der vaccine-lichaampjes.

VON PROWAZEK sprak van plastine en chromatine, waarbij hij zich voorstelde dat niet alleen chromatische stof uit de kern maar ook, reeds normaliter, in het cytoplasma voor-

komend chromatine aan den opbouw zou mede werken.

Sommige dezer meeningen moet men niet al te ernstig opvatten. Algemeen vindt men bijvoorbeeld in de literatuur opgegeven, dat BABES de lichaampjes van Guarnieri beschouwde als uitgestooten kernlichaampjes. BABES grondde dit echter niet op een uitvoerig onderzoek, maar gaf na een demonstratie van preparaten door GUARNIERI op het Geneeskundig congres te Rome (1894) deze veronderstelling ten beste.

Hier nader op al deze meeningen in te gaan zou tot een overbodige, dorre opsomming leiden omdat de gegevens waarover ik beschik, niet voldoende zijn om een steekhoudend oordeel uit te spreken, al komt het me ook méér dan waarschijnlijk voor, dat het vaccinelichaampje, althans ten deele, uit chromatine bestaat.

Vermeldenswaard zijn wel de door COWDRY (1922) verkregen uitkomsten met zijne brilliantcresylblauwkleuring van versch hoornvliesepitheel. In ongevaccineerde hoornvliezen nam hij gekleurde, door het celprotoplasma verspreide deeltjes waar. In gevaccineerde corneae zag hij, op verschillende tijden na de enting onderzoekend, dat het aantal en de grootte van deze, met cresylblauw gekleurde, deeltjes toenam, totdat eindelijk al deze stof zich tot een lichaampje van Guarnieri had samengepakt.

Omtrent het aandeel van de kernsubstantie aan den opbouw gaf deze werkwijze géén uitsluitsel, omdat de tijd, gedurende welken de kleurstof mocht inwerken, te kort was, dan dat het cresylblauw door het kernvlies zou kunnen dringen.

De door SALMON en aanvankelijk ook door BORREL verdedigde meening, dat Guarnieri's lichaampjes brokstukken van leucocytenkernen zouden zijn, heeft afgedaan, sinds ALDERSHOFF en BROERS (1906) in geënte hoornvliezen, bij 37° in een vochtig kamertje bewaard, vaccinelichaampjes konden aantoonen. ALDERSHOFF zelve wees er echter reeds op, dat tengevolge van de weinig gunstige omstandigheden waaronder deze hoornvliezen verkeerden, in ongeënte corneae kleine kernbrokjes (karyorrhesis, chromatoptysis) in het cytoplasma van sommige epitheelcellen te zien waren, die hij van lichaampjes van Guarnieri meende te kunnen onderscheiden. STEINHARDT c.s. (1914), HARDE (1921) onder-vonden dit nadeel in weefselkweeken zóó sterk, dat ze zich

over het al dan niet voorkomen van Guarnieri's lichaampjes niet durfden uit te spreken.

RIVERS, HAAGEN en MUCKENFUSS (1929) waren in deze blijkbaar gelukkiger of meer optimistisch; zij vonden in hunne weefselkweeken duidelijk vaccinelichaampjes.

Op geheel andere wijze heb ik nog eens de onhoudbaarheid van de leucocyten-hypothese trachten aan te toonen.

Door onderhuidsche inspuitingen van gelijke deelen benzol en olijfolie (SELLING, PAPPENHEIM, VEIT e.a.) werden konijnen beroofd van het overgrootste deel hunner witte bloedcellen en daarna werd vaccine op de hoornvliezen geënt. Zouden Guarnieri's lichaampjes afkomstig zijn van leucocyten, dan zou ik een grof verschil mogen verwachten tusschen het aantal lichaampjes van Guarnieri in deze hoornvliezen en dat in even „oude” corneae van normale konijnen, met dezelfde portie koepokstof op dezelfde wijze geënt. VEIT (1921) immers toonde aan, dat in de oorader ingespoten staphylococci, die bij normale konijnen abscessen in de inwendige organen veroorzaakten, bij leucocyten-arme (eenigszins overdreven veelal „aleucocytair” genoemde) konijnen slechts nekrosehaarden, zonder eenige exsudatie van witte bloedcellen, deden optreden.

Konijn 200 F kreeg op 4 achtereenvolgende dagen telkens 2,5 c.m.³ van het benzol-olijfoliemengsel onderhuidsch ingespoten.

Vóór de behandeling bedroeg het aantal witte bloedcellen 8000 per m.m.³, vóór de laatste inspuiting 1400.

In aansluiting aan de 4de injectie werden beide hoornvliezen ieder met 1 entlus koepokstof geënt. Den volgenden morgen werd het dier dood gevonden.

Tusschen de hoornvliezen van een geënt normaal konijn en van het met benzol behandelde bestond géén grof verschil in het aantal lichaampjes van Guarnieri. In de laatste ontbraken witte bloedcellen.

Konijn 204 F werd in aansluiting aan de 5de inspuiting van 2,5 c.m.³ benzol-olijfolie op beide hoornvliezen geënt.

Het aantal witte bloedcellen bedroeg toen 450 per m.m.³, $\pm$ 5 uur na de enting 2300, den volgenden morgen 150 (6e benzolinspuiting), den 2den dag na de enting 100, minder dan 1 % van het aantal vóór de behandeling. Het dier werd toen gedood.

De hoornvliezen toonden het beeld van vol-ontwikkelde vaccine-corneae.

Tusschen deze en de corneae van een, op dezelfde tijdstippen geënt en gedood, normaal dier waren, afgezien van de leucocyten, géén grove verschillen zichtbaar, óók niet in het aantal lichaampjes van Guarnieri.

Door histologisch onderzoek kon ik me overtuigen, dat niet alleen in het bloed, maar ook in het beenmerg van dergelijke konijnen, het aantal leucocyten, myelocyten en myeloblasten uiterst gering was.

Deze ervaringen, gevoegd bij de vroegere van ALDERSHOFF en BROERS en de, tot nu toe niet bevestigde, van RIVERS, HAAGEN en MUCKENFUSS, maken het wel zéér onwaarschijnlijk, dat de vaccine-lichaampjes van leucocyten-kernen zouden afstammen.

De veronderstelling, dat de lichaampjes van Guarnieri micro-organismen zijn zouden, heeft eveneens vrijwel afgedaan; niet geheel; ze telt tot op den huidige dag enkele verdedigers.

Noch de kern, de amoëboïde beweging, het door vertering in het cytoplasma van de epitheelcel ontstane hofje, belangrijke argumenten in Guarnieri's betoog ten gunste van zijne protozoaire hypothese, noch ook de gecompliceerde ontwikkelingsgang der vermeende parasieten, die CALKINS (1904) opstelde, hebben den toets der critiek doorstaan.

Degenen, die thans nog meenen, dat ze met microorganismen te doen hebben, trachten dit door uitsluiting van andere mogelijkheden, dus zijdelings, te bewijzen (GINS, VON WASIELEWSKI, UNGERMANN en ZUELZER).

Nog eens puntsgewijze opgesomd zijn de bezwaren tegen de parasitaire theorie:

1. de lichaampjes van Guarnieri zijn niet filtreerbaar, in tegenstelling met het (koe)pokvirus (CASAGRANDE).

2. Ze zijn wel zeer verschillend van vorm, maar het is nooit gelukt uit de vormen een bepaalde ontwikkelingsgang samen te stellen.

3. Er is geen kern in aan te toonen, het is dus onwaarschijnlijk, dat ze protozoën zouden zijn.

4. Het is mogelijk de lichaampjes te vernietigen door ingrepen, die de besmettelijkheid van het weefsel niet opheffen (10% keukenzoutoplossing. FOA).

5. Neurolapine en testilapine bevatten het virus in hooge

concentratie. In testes en hersenen zijn nooit lichaampjes van Guarnieri aangetoond.

Deze bezwaren brachtten dan ook sommigen (UNGERMANN en ZUELZER, MOROSOW) er toe het Guarnieri's lichaampje niet als één individu, maar als een kolonie filtreerbare, micro-organismen op te vatten.

HOOFDSTUK V.

DE HOORNVLIESENTING IN DE PRACTIJK.

In de Inleiding werd reeds vermeld, dat meerdere schrijvers de enting van het konijnenhoornvlies hebben aanbevolen in die gevallen, waarbij de klinische diagnose „pokken” twijfelachtig is.

De uitkomsten van eenige onderzoekers, die dezen raad opvolgden, wil ik in dit hoofdstuk verzamelen, om eenigen indruk te geven, van hetgeen men van deze methode mag verwachten.

Het aantoonen van vaccinevirus geeft zelden of nooit moeilijkheden: meestal is het aantal lichaampjes van Guarnieri zóó groot en is ook de epitheelvermeerdering zóó duidelijk, dat er geen twijfel mogelijk is. Vermoedt men in een of ander materiaal weinig smetstof, dan trachte men deze door testispassages tot vermeerdering te brengen (OHTAWARA 1922).

Bij de beoordeeling van de resultaten bij variola dienen die, welke alléén macroscopisch, met de z.g. proef van PAUL, verkregen zijn, gescheiden te worden van die, door macroscopisch en microscopisch onderzoek opgeleverd.

In 1915 gaf PAUL aan, dat, om de diagnose „pokken” te stellen of te verwerpen, het beeld, dat een, met verdacht materiaal geënt, konijnenhoornvlies opleverde, nadat dit een enkele minuut in sublimaat-alcohol gelegen had, voldoende zou zijn. PAUL onderzocht het hoornvlies 48 uur na de enting. Positief is de uitslag, wanneer omschreven epitheelheuvels (door PAUL in 1915 merkwaardigerwijze voor „Herdnekrosen” gehouden) met centralen „krater” of „navel” te zien zijn.

„Dieses Phänomen ist für Variola so charakteristisch und pathognomonisch, dass man mit absoluter Sicherheit schon makroskopisch die Varioladiagnose stellen kann.”

In 1918 erkende PAUL, dat hij, zóó te werk gaande, enkele

foutieve diagnoses gesteld had; in twijfelachtige gevallen achtte hij microscopisch onderzoek onmisbaar.

Hierbij hechtte hij méér waarde aan het geheele uiterlijk van het microscopisch beeld, dan aan het zoeken naar lichaampjes van Guarnieri.

PAUL's techniek stelde hem in staat ongeveer één (!) uur na de enucleatio bulbi, het preparaat kant en klaar onder het microscoop te leggen. Hij gaf aan, dat hij des te mooier preparaten kreeg, naarmate hij het hoornvlies korter in de fixeervloeistof liet, eene ervaring, strijdend met die van ieder ander, die de histologische techniek beoefent.

Men kan zich bij het lezen van de publicaties van PAUL niet onttrekken aan den indruk, dat het prijzenswaardig streven om den twijfel van den geneeskundige zoo spoedig mogelijk op te heffen, aan de nauwkeurigheid, en daarmee aan de waarde, van zijn onderzoek afbreuk heeft gedaan.

Welke zijn de ervaringen van anderen met de proef van PAUL?

GINS gaf in 1916 de volgende cijfers.

Klinische diagnose	Aantal. positief. negatief. twijfelachtig.			
Variola	51	37	12	12
Varicellen verschillende huidziekten	49	3	43	3
		(alle varicellen)		

GINS meende, dat het microscopisch onderzoek véél minder zeker zijn zou, omdat het moeilijk zou zijn om de sneden juist door een epitheelheuvel te leggen.

Slechts in 12 van de 37 macroscopisch positieve hoornvliezen kon hij lichaampjes van Guarnieri vinden.

Deze moeilijkheid hebben, zooals blijken zal, anderen niet ondervonden, evenmin als ik aan een betrekkelijk klein materiaal. Wanneer macroscopisch epitheelheuvels zichtbaar zijn, is het toch wel altijd mogelijk om het hoornvlies zóó door te knippen, dat één of meer heuveltjes onmiddellijk naast het sneevlak liggen. Deze papels moeten dan volkomen zeker getroffen worden, als men een korte reeks sneden met den microtoom vervaardigt.

FRIEDEMANN en GINS deelden in 1917 mede, dat onder 1000 onderzoekingen 6 klinisch zekere gevallen van waterpokken een positieve proef van Paul gaven, evenzoo 1 geval van broom-acne, 1 van impetigo contagiosa, 4 gevallen van luetisch exantheem. Ook hierbij werd géén microscopisch onderzoek verricht.

In 1927 berichtten twee Amerikaansche onderzoekers, JOHN TOOMEY en JOHN GAMMEL, dat de puistinhoud van 80 pokkenpatiënten 45 maal een positieve proef van Paul gaf. Alle contrôle-entingen, 60 in getal, waarvan 30 scarificaties zonder méér, verliepen negatief.

Hun oordeel was, dat de positieve proef van Paul pathognomonisch voor pokken is. Desondanks zou de waarde van de proef gering zijn; in gevallen met een licht beloop, zou de uitkomst negatief zijn.

RICARDO JORGE stond in zijn monographie over alastrim, pokken, koepokken en encephalitis postvaccinalis (1927) op het standpunt, dat de proef van Paul het microscopisch onderzoek van de geënte cornea verdrongen heeft; hierin toonde hij zich dus „plus royaliste que le roi”.

Bij entingen met „alastrim”materiaal zag hij slechts één keer (aantal onderzoekingen niet vermeld) een positieven proef van Paul. Even povere resultaten hadden, volgens JORGE, BAUJEAN op Martinique (15 gevallen, alle negatief) en VAN HOOFF in Léopoldville („talrijke” entingen, slechts 1 positief).

UNGERMANN en ZUELZER (1920) konden het microscopisch onderzoek niet missen; pneumococcen uit een cavia, streptococcen uit het exsudaat van een ontstoken kniegewricht gekweekt, gaven na enting op het hoornvlies, abscesjes, die zeer veel deden denken aan variola-papels.

Ook met PAUL's waardeering van het microscopisch preparaat, waren ze het niet eens; ze wezen er op, dat „epitheliosen”, „Schachtelzellen”, reuscellen ook bij entingen met ander materiaal dan den inhoud van pokpuisten kunnen voorkomen: het zou er in de eerste plaats op aankomen een groot aantal lichaampjes van Guarnieri te zoeken.

UNGERMANN en ZUELZER verwaarloosden op grond van dit standpunt, het „geheele uiterlijk” van het preparaat dan ook volkomen; ze stelden zich tevreden met de kleuring van afgekrabd en uiteengeplozen hoornvliesepitheel.

Aan deze methode, aanvankelijk ook door ALDERSHOFF (1906) aanbevolen, door VON WASIELEWSKI toegepast bij zijne vaccine-entingen, kleven echter nadeelen, die zich minder bij entingen met vaccine, sterk bij variola-entingen kunnen doen gelden. Vaccine-entingen kunnen meestal willekeurig herhaald worden en het aantal lichaampjes van Guarnieri is gemeenlijk ook véél grooter dan na een variola-enting.

Een, op de gebruikelijke wijze ingesloten hoornvlies is een blijvend preparaat, voor tal van kleuringen toegankelijk; leveren sneden van één gedeelte geen bevredigend resultaat, dan kan men ze op een andere plaats aanleggen.

Heeft men het epitheel van het hoornvlies afgekrabd, dan is dit voor verder onderzoek ten eenenmale verloren; fouten of ongelukken bij het uiteenpluizen en kleuren zijn onherstelbaar.

ALDERSHOFF deed bovendien de ervaring op, dat lichaampjes van Guarnieri soms niet in afkrabsel, wél in weefsel-sneden te vinden waren, waarom hij dan ook tot de laatste werkwijze terugkeerde.

Ook WALDEMAR LOEWENTHAL (1924), werkend met materiaal van lijders aan variola minor, zag de noodzakelijkheid van microscopisch onderzoek in. In den winter van 1922/23 kreeg hij, hoewel de epidemie niet geminderd was, slechts zelden hoornvliezen, die een duidelijke positieve proef van Paul opleverden.

Twee en twintig maal heeft LOEWENTHAL bij dieren die den 2den dag, vijftien maal bij dieren die den 3den dag gedood werden, alléén op grond van microscopisch onderzoek de diagnose „pokken” kunnen stellen.

In cijfers uitgedrukt, waren LOEWENTHAL's bevindingen als volgt:

Laboratorium diagnose:	169 × positief.
Klinische diagnose	159 × pokken.
	2 × twijfelachtig.
	2 × koepokpuisten.
	6 × geen pokken.
Laboratorium diagnose:	11 × twijfelachtig.
Klinische diagnose	5 × pokken.
	6 × géén pokken.

Laboratorium diagnose:	140	×	negatief.
Klinische diagnose	43	×	pokken.
	8	×	twijfelachtig.
	1	×	hoofdluis van een pokken- lijder.
	88	×	géén pokken.

De gegevens omtrent hoornvliesentingen gedurende de epidemie in 1929, hier te lande, van de pokziekte, welke aanvankelijk voor „alastim”, door een commissie „ad hoc” voor variola major gehouden is, zijn slechts schaarsch.

Dr. HANNEMA deelde mede, dat twee entingen verricht door Dr. VAN RIJSSEL, prosector-bacterioloog te Rotterdam, macroscopisch positief verliepen, dat echter maar één maal lichaampjes van Guarnieri werden gevonden.

Mej. Dr. RUYS, werkend met Rotterdamsch materiaal, vond in twee geënte hoornvliezen lichaampjes van Guarnieri.

Zooals in Hoofdstuk II vermeld is, vond ik met materiaal van 19 zékere gevallen 13 maal macroscopisch, min of meer, typische veranderingen, 13 maal ook insluit-lichaampjes. Vier twijfelachtige gevallen in Delft leverden driemaal een negatief, éénmaal een microscopisch positieven uitkomst. Er moge echter met nadruk op worden gewezen, dat een positieve proef van Paul, in dien zin, dat epitheelheuvels met „kraters” te zien zouden zijn, slechts in enkele gevallen voorkwam; in het meerendeel zag men, een op een fijn parelsnoer gelijkend rijtje, kleine epitheelheuveltjes langs de entstrepn. Deze ervaring is goed vergelijkbaar met die van LOEWENTHAL te Bern in den winter 1922—23.

Van het voorschrift van Paul om de hoornvliezen 48 uur na de enting te onderzoeken zijn zoowel UNGERMANN en ZUELZER, als LOEWENTHAL en ook ik afgeweken. Zoodra wordt waargenomen, dat één of beide hoornvliezen „niet glad” zijn, onderzoekte men er één; ziet men bij bezichtiging met de loupe geen veranderingen, dan worde er één na 72 uur, het andere na 96 uur onderzocht.

Tot welke gevolgtrekkingen kunnen al deze ervaringen leiden?

In de eerste plaats wel tot deze, dat de waarde van de hoornvliesenting voor de practijk niet met voldoende zekerheid te beoordeelen is, zoolang omtrent entingen met

varicellen-materiaal niet méér bekend is, dan tot nu toe.

De grootste in de literatuur bekende reeks dezer entingen is die van BERTARELLI (15 stuks). Bedenkt men, dat de resultaten van verschillende onderzoekers ver uiteenliepen, dat sommigen op lichaampjes van Guarnieri gelijkende insluitsels vonden en dat, blijkens het voorafgaande, verkeerde laboratorium-diagnoses gesteld zijn, juist met materiaal van een ziekte, waarbij de differentieele diagnose tegenover variola, ook klinisch groote moeilijkheden kan geven, dan is het niet overdreven, vóór men een definitief oordeel uitspreekt, de gegevens te eischen van een groot aantal entingen met inhoud van waterpokblaasjes en puisten, uitgevoerd in een tijdperk, waarin ter plaatse géén pokken voorkwamen.

Dat men desondanks voorzichtig handelt, als men een zieke, bij wien de klinische diagnose twijfelachtig is en de laboratoriumproef positief verloopt, als aan pokken lijdende beschouwt, doet hieraan niets toe of af.

Een tweede conclusie is, dat wie de netelige vraag: „variola major of minor?” te beantwoorden heeft, geen steun te verwachten heeft van de uitkomst eener hoornvliesenting. Tegenover negatieve uitkomsten staan tal van positieve. Wel schijnt, ondanks het voorkomen van lichaampjes van Guarnieri, bij variola minor, het macroscopisch beeld, resp. de proef van Paul, vaak minder typische veranderingen dan bij variola major te toonen; ter beoordeeling van het bijzonder geval kan dit echter niet dienen.

Als laatste gevolgtrekking moge de, a priori vanzelfsprekende, eisch, dat een geënt hoornvlies, als elk ander patholoog-anatomisch preparaat, niet alleen bezichtiging met het bloote oog of de loupe, maar ook nauwkeurig microscopisch onderzoek verlangt, tegenover Paul c.s. worden staande gehouden.

Wie LOEWENTHAL, navolgt, die, alvorens een onderzoek als negatief te beschouwen, de geheele epitheellaag van meerdere weefselsneden met de olieimmersie afzocht, handelt juist voorzichtig genoeg.

RÉSUMÉ.

Chapitre I. Les cornées de lapin inoculées de vaccines de provenance différente et diluées autant que possible jusqu'au même degré, ne montrèrent aucune différence remarquable en nombre, en forme ou en dimension des corpuscules de Guarnieri.

Les altérations dans la cornée vaccinée sont considérées comme une inflammation, ce qui est opposé à l'opinion de Bosc, de Borrel, de Lipschütz, de Paul et d'autres. L'hypothèse de Paul que des cellules invaginées („Schachtelzellen") seraient les corpuscules de Guarnieri évolués en cellules, est contestée.

Chapitre II. Rapport de 15 cas d'inoculation de matériel de pustules et de croûtes varioleuses dans la cornée du lapin.

Chapitre III. Le contenu de vésicules herpétiques, la toxine diphtérique diluée et quelques souches bactériennes font paraître dans les cellules épithéliales de la cornée des inclusions qui ne se distinguent pas des corpuscules de Guarnieri. Elles sont beaucoup moins nombreuses que dans les cornées vaccinées; la valeur diagnostique de la recherche des corps de Guarnieri n'en est pas ou à peine diminuée, mais ces corpuscules ne sont pas spécifiques au sens strict du mot.

Chapitre IV. Discussion des thèses les plus importantes concernant la nature des corpuscules de Guarnieri. La thèse de Luksch que les corpuscules consistent en lipoïdes, est réfutée.

La valeur des colorations dites „spécifiques" qui permettent de différencier les corpuscules de Guarnieri d'autres inclusions intracellulaires

ressemblantes est exagérée par quelques auteurs. Les résultats obtenus par Aldershoff et Broers (1906) qui vaccinèrent des cornées survivantes et obtinrent ainsi des inclusions typiques, sont affirmés par des expérimentations sur des lapins chez qui le plus grand nombre des leucocytes fut détruit par le benzol.

Ces expérimentations fournirent une preuve de plus contre la théorie leucocytaire de Salmon et d'autres.

Chapitre V. Discussion de quelques résultats d'inoculation diagnostique de la cornée par la variole, tels qu'ils ont été publiés dans le cours des années. Nous insistons sur l'importance de plus nombreuses inoculations avec le contenu de pustules de varicelles à cause des résultats très divergents obtenus en cette matière par les différents investigateurs.

Il faut que chaque cornée inoculée, comme tout autre préparation d'anatomie pathologique soit examinée macroscopiquement aussi bien que microscopiquement.

GERAADPLEEGDE LITERATUUR.

- ALDERSHOFF, H. Vaccinelichaampjes, Acad. Proefschrift 1906
- ALDERSHOFF, H. en BROERS, C. W. Contribution à l' étude des corps intraépitheliaux de Guarnieri, Ann. Inst. Pasteur 1906, p. 779.
- ALDERSHOFF, H. Sneldiagnose bij pokken; Militair Gen. Tijdschrift, 19e jaargang No. 3.
- ALDERSHOFF, H. en Pot, A. W. Onderzoekingen naar den aard van het Virus van hier te lande voorgekomen „Alastrim“-gevallen Ned. Tijdschrift v. Geneeskunde No. 37 : 1929.
- ARIENS KAPPERS, C. U. Het wezen van het kleurproces; Geneeskundige Bladen XXI No. 10.
- ARNDT, TH. Studien zur Immunität und Morphologie bei Vaccine; Centralbl. f. Bakteriöl. I Orig. Bd. 47; 1908.
- ARNOLD, K. Neuere Arbeiten über Variola und Vaccine; Ergebn. Hyg. Band X; 1929.
- AWERINZEW, S. Zur Frage über die Krebsgeschwülste; Centr. bl. f. Bakt. I Orig. Bd. 56; 1910.
- BECHHOLD, H. Die Kolloide in Biologie u. Medizin; 5te Auflage 1928.
- BERTARELLI, E. Beitrag zur Aetiologie der Windpocken. Centr.bl. f. Bakt. I Orig. Bd. 50; 1909.
- BLUNCK, Zur Technik der Herstellung von Dauerzupfpräparaten des vakzinierten Kaninchenhornhautepithels. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 94; 1925.
- BÖING, W. Untersuchungen über Vaccine. Arb. Reichsgesundh. Amt Bd. 52; 1920.
- BORREL, A. Epithélioses infectieuses et épithéliomas; Ann. Inst. Pasteur T. 17 No. 2; 1903.
- BORREL, A. Virus vaccinal dans la cornée du lapin. Compt. rend. des Séances de la Soc. de Biol. T. 92; 1925.
- CALKINS, G. N. The lifehistory of cytoryctes variolae Guarnieri Journ. Med. Research Vol. 11; 1904.
- CARREL, A. et RIVERS, TH. M. La fabrication du vaccin in vitro. Compt.rend. d. l. Soc. de Biol. T. 96; 1927.

- CARREL, A. „Tissue cultures in the study of viruses” in „Filterable Viruses”. Edited by Th. Rivers, Baltimore 1928.
- CLARKE, J. J. Variola and Vaccinia; British Med. Journal Vol. II p. 869; 1894.
- CLARKE, J. J. Einige Beobachtungen über die Morphologie der Sporozoën von Variola. Centralbl. f. Bakt. Bd. 17; 1895.
- COPEMAN, M. Researches on Vaccinia. British Med. Journal Vol. II; 1894.
- COUNSILMAN, W. T., MAGRATH, G. B. and BRINCKERHOFF, W. R. The pathological anatomy and histology of variola. Journ. Med. Research Vol. XI, 1904.
- COWDRY, E. V. The supravital staining of vaccinae bodies. Journ. of Exp. Med. Vol. 36, 1922.
- COWDRY, E. V. and NICHOLSON, F. M. Inclusionbodies in experimental herpetic infection of rabbits. Journ. experim. Med. Vol. 38; N. 6; 1923.
- COWDRY, E. V. „Intracellular pathology in virus-diseases” in „Filterable viruses”. Edited by Thomas M. Rivers, Baltimore, 1928.
- CIJFER, A. Over de uniteit en dualiteit der pokken en waterpokken. Geneesk. Bladen X. 7. 1903.
- DA FANO, C. Herpetic meningo-encephalitis in rabbits. Journ. Path. and Bact. Vol. 26; 1923.
- ELBERT, B. I. und GELBERG, S. I. Ueber die biologische Kontrolle der Pockenlymphe nach Groth u.s.w. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 107, 1927.
- ELMASSIAN, M. Contribution à l'étude microsc. de la cornée chez le lapin. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 48, 1909.
- FORNET, W. Die Reinkultur des Pockenerregers. Deutsche Med. Wochenschr. No. 37; 1913.
- FORNET, W. Ueber die Reinkultur des Pockenerregers. Centr. bl. f. Bakt. I Orig. Bd. 87; 1922.
- FRIEDEMANN, V. und GINS, H. A. Experimentelle Untersuchungen über die Uebertragung der Pocken. Deutsche Med. Wochenschr. No. 37; 1917.
- FUNCK, M. Der Vaccine- und Variolaerger. Centralbl. f. Bakt. Bd. 29; 1901.
- GALLI-VALERIO, B. Observations sur les Corpuscules de la vaccine. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 63; 1912.
- GIEMSA, G. Ueber die Färbung von Feuchtpräparaten mit meiner Azur-Eosin Methode. Ref. Bull. Inst. Pasteur Tome 8, 1910.

- GILDEMEISTER, E. und HERZBERG, K. Experimentelle Untersuchungen über Herpes, I Mitt. Deutsche Med. Wochenschr. No. 3, 1925.
- GILDEMEISTER, E. und HERZBERG, K. Experimentelle Untersuchungen über Herpes II Mitt. Deutsche Med. Wochenschr. No. 40, 1925.
- GILDEMEISTER, E. Weitere Untersuchungen über Immunitätsbeziehungen zwischen Herpes und Pocken. Deutsche Med. Wochenschr. No. 4, 1927.
- GILDEMEISTER, E. und HERZBERG, K. Experimentelle Untersuchungen über Herpes. Klin. Wochenschrift No. 13, 1927.
- GILDEMEISTER, E. und HILGERS, P. Bestehen zwischen Herpes und Vakzine Immunitätsbeziehungen? Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 114, 1929.
- GILDEMEISTER, HAAGEN, und SCHEELE. Ueber das Verhalten des Herpesvirus in der Gewebekultur. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 114, 1929.
- GINS, H. A. Erfahrungen mit der experimentellen Pockendiagnose n. Paul; Deutsche Med. Wochenschr. No. 37; 1916.
- GINS, H. A. Ueber experimentelle Vaccine und Vaccineimmunität. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 82; 1916.
- GINS, H. A. Ueber histologische Veränderungen und bisher unbekannte Zelleinschlüsse in der mit Windpockeninhalt geimpften Kaninchenhornhaut. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86; 1918.
- GINS, H. A. Neue mikroskopische Befunde bei Variola. Centralbl. f. d.ges. Hyg. Bd. II; 1923.
- GINS, H. A. Mitteilungen über experimentelle Vaccine. Verhandlungen der Berliner Mikrobiol. Gesellsch. 1925.
- GORINI, C. Ueber die bei der mit Vaccine ausgeführten Hornhautimpfung vorkommenden Zelleinschlüsse. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 28; 1900.
- „ „ „ „ „ Bd. 29; 1901.
- „ „ „ „ „ Bd. 32; 1902.
- GRÜBER, W. Kritische u. experimentelle Studien über die Vaccineimmunität des Auges u.s.w. Archiv f. Augenheilk. Bd. 70; 1912.
- GUARNIERI, Mitteilungen aus dem XI Intern. Med. Kongress. Centralbl. f. Bakt. Bd. 16; 1894.
- HAAGEN, E. Ueber das Verhalten des Variola-vaccinevirus in der Gewebekultur. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 109; 1928.

- HACK, I. W. Gewebekulturen als Methode zum Studium des Vaccinevirus. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 94; 1925.
- HALLENBERGER, Beitrag zur Aetiologie der Variola. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 80; 1918.
- HALLENBERGER, Bemerkungen zu der Arbeit Pauls: Entwicklungsgang der Pockenepitheliose der Kaninchen-hornhaut. Deutsche Med. Wochenschr. No. 3, 1918.
- HARDE, E. Some observations on the virus of vaccinia. Ann. Inst. Pasteur, Tome 30, 1916.
- HERXHEIMER, G. Krankheitslehre der Gegenwart. Theodor Steinkopff 1927, Dresden u. Leipzig.
- HOTORI WATANABE, Ueber Einschlusskörperchen bei Herpes simplex. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 116; 1930.
- HOTORI WATANABE, Beiträge zur Färbung der Paschenschen Körperchen. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 116; 1930.
- HUECKEL, A. Die Vaccinekörperchen. Ziegler's Beiträge 2 Suppl. Heft 1898.
- HUNTEMÜLLER, Kritische Studien über Morphologie und Züchtung von filtrierbaren Virusarten. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 79; 1917.
- JORGE, RICARDO. Alastrim et Variole etc. Lisboa; 1927.
- KOOS, J. M. Ueber das Virus des fieberhaften Herpes. Klinische Monatsblätter für Augenheilk. Bd. 66; 1921.
- LIPSCHÜTZ, B. in Handbuch der pathogenen Protozoen. Bd. I. Heft 2, 1911.
- LIPSCHÜTZ, B. Filtrierbare Infektionserreger und maligne Tumoren. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 68; 1913.
- LIPSCHÜTZ, B. Ueber die Aetiologie des Herpes genitalis. Dermatol. Wochenschr. Bd. 73, No. 30, 1921.
- LIPSCHÜTZ, B. Untersuchungen über die Aetiologie der Krankheiten der Herpesgruppe. Archiv f. Dermatol. u. Syph. Bd. 136, 1921.
- LIPSCHÜTZ, B. Der Zellkern als Virusträger. Centralbl. f. Bakt. Bd. 87; 1922.
- LIPSCHÜTZ, B. Herpetischer Zoster? Kerneinschluss oder Kerndegeneration. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 93, 1924.
- LIPSCHÜTZ, B. Kritik u. Diagnose der Zelleinschlussbildung. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 96, 1925.
- LIPSCHÜTZ, B. Chlamydozoen-Strongyloplasmenbefunde bei Infektionen mit filtrierbaren Erregern. Handbuch der

- pathogenen Mikroorganismen Kolle-Kraus-Uhlenhuth. Bd. VIII; 1930.
- LOEWENTHAL, W. Erfahrungen mit der biologischen Pockendiagnose nach Paul. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. krankh. Bd. 103; 1924.
- LOEWENTHAL, W. Geflügel- und Säugetierpocken. Klin. Wochenschrift 1925. S. 264.
- LOEWENTHAL, W. Mikroskopische Befunde bei Herpes. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 97; 1926.
- LOEWENTHAL, W. Zur Frage der Herpesaetiologie. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 101; 1927.
- LUGER, A. und LAUDA, E. Herpetischer Zoster? Kerneinschluss oder Kerndegeneration. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 93; 1924.
- LUGER, A. und LAUDA, E. Zur Frage der sogenannten Kerneinschlüsse bei der herpetischen Infektion. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 97; 1926.
- LUKSCH, F. Gibt es beim Menschen eine Vakzine-Encephalitis? Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 96; 1925.
- MACCALLUM, W. G. and OPPENHEIMER, E. H. Differential centrifugalization. A method for the study of filtrable viruses, as applied to vaccina. Journ. Amer. Med. Ass. Vol. 78-I-1922.
- MÖLLENDORFF, W. VON. Bemerkungen zur Beurteilung gefärbter Kernstrukturen in fixierten Präparaten. Münch. Med. Wochenschr. No. 29; 1923.
- MÖLLENDORFF, W. VON. Untersuchungen zur Theorie der Färbung fixierter Präparaten. Archiv. f. Mikrosk. Anat. Bd. 97; 1923.
- MOROSOW, M. Die Färbung der Paschensche Körperchen durch Versilberung. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 100; 1926.
- MOROSOW, M. Beitrag zur Frage der Variola-Vakzine. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 103; 1927.
- MÜHLENS, P. u. HARTMANN, M. Zur Kenntnis des Vaccineerregers. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 41; 1906.
- OLITSKY, P. K. and LONG, P. H. The relation of streptococci to herpesvirus-encephalitis. Journ. Exp. Med. Vol. 48; 1928.
- OLITSKY, P. K. and LONG, P. H. The action of the Levaditi-strain of herpesvirus, and of vaccinevirus in the guineapig. Journ. Exper. Med. Vol. 48; 1928.

- PASCHEN, E. Zur Aetiologie der Variola und Vakzine. Deutsche Med. Wochenschrift No. 44; 1913.
- PASCHEN, E. Vergleichende Untersuchungen von Varizellen, Variola u.s.w. Deutsche Med. Wochenschrift No. 24; 1917.
- PASCHEN, E. Technik zur Darstellung der Elementärkörperchen, u.s.w. Deutsche Med. Wochenschr. No. 33; 1917.
- PASCHEN, E. Ueber Hühnerpocken. Klin. Wochenschrift, No. 4; 1926.
- PASCHEN, E. Pocken. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen Kolle-Kraus-Uhlenhuth, Bd. VIII; 1930.
- PAUL, G. Ueber Aufschlieszung, Isolierung und Einengung von reinem vakzinalen Virus. Deutsche Med. Wochenschr. No. 44; 1913.
- PAUL, G. Zur Differentialdiagnose der Variola und der Varizellen. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 75; 1915.
- PAUL, G. Zur histologischen Technik des Kornealversuches bei der Pockendiagnose. Deutsche Med. Wochenschr. No. 29; 1917.
- PAUL, G. Entwicklungsgang der Pockenepitheliose u.s.w. Deutsche Med. Wochenschr. No. 45; 1917.
- PAUL, G. Ueber Mischinfektionen auf der Kaninchenhornhaut, u.s.w. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 80; 1918.
- PAUL, G. Zur Naturgeschichte der Einschlusskörper bei der Pockenepitheliose. Centralbl. f. d. ges. Hyg. Bd. 2; 1923.
- PERKINS, R. G. and PAY, G. O. Studies on the etiology and pathology of variola. Journ. Med. Research, Vol. II, 1904.
- PFEIFFER, E. Ueber die Züchtung des Vaccineerregers in dem Corneaepithel u.s.w. Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 18; 1895.
- PROWAZEK, ST. Untersuchungen über Vaccine I. Arb. a. d. Kais. Gesundh.amt.; Bd. 22; 1905.
- PROWAZEK, ST. Untersuchungen über Vaccine II. Arb. a. d. Kais. Gesundh.amt.; Bd. 23; 1906.
- PROWAZEK, ST. Bemerkungen zur Spirochaeten- und Vaccinefrage. Literaturnachlese. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 46; 1908.
- PROWAZEK, ST. Vaccine. Variola. Handb. der path. Protozoën. Bd. I. 1911.
- PROWAZEK, ST. Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus. Centralbl. f. Bakt. I Orig. Bd. 72; 1914.
- PROWAZEK, ST. und MIYAJI, S. Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 75; 1915.

- RIVERS, T. M. and TILLET, W. S. Studies on varicella; the susceptibility of rabbits to the virus of varicella. *Journ. Exper. Med.* Vol. 38, 1923.
- RIVERS, T. M. and TILLET, W. S. Further observations on the phenomena encountered in attempting to transmit varicella to rabbits. *Journ. Exper. Med.* Vol. 39; 1924.
- RIVERS, T. M. and TILLET, W. S. The lesions in rabbits experimentally infected by a virus encountered in the attempted transmission of varicella. *Journ. Exper. Med.* Vol. 40, 1924.
- RIVERS, T. M. Nuclear inclusions in the testicles of monkeys injected with the tissue of human varicellalesions. *Journ. Exper. Med.* Vol. 43; 1926.
- RIVERS, T. M., HAAGEN, E., and MUCKENFUSS, R. S. A Study of vaccinal immunity in tissueculture. *Journ. Exper. Med.* Vol. 50, 1929.
- DA ROCHA—LIMA, H. Die Chlamydozoën. *Handbuch der pathogenen Protozoën.* Bd. II; 1920.
- SAITO, T. Geflügelpockenkörperchen und Guarnierischen Körperchen. *Centralbl. f. Bakt. I. Orig.* Bd. 98; 1926.
- SALMON, P. Recherches sur l' infection dans la vaccine et la variole. *Ann. Inst. Pasteur, T. II*; 1897.
- SALMON, P. Conjunctive et Vaccine. *Compt.rend. d. l. Soc. de Biol. T. 88*; 1923.
- SANFELICE, F. Ueber einige nach der Mannschen Methode färbbare und Parasiten vortäuschende Gebilde. *Centralbl. f. Bakt. I. Orig.* Bd. 70; 1913.
- SCHILLING, V. Ueber die feinere Morphologie der Kurlofkörper der Meerschweinchen, u.s.w. I. *Centralbl. f. Bakt. I. Orig.* Bd. 58; 1911.
- SCHILLING, V. Ueber die mögliche Verwandlung von Strukturen zu Pseudoparasiten, u.s.w. *Centralbl. f. Bakt. I. Orig.* Bd. 63; 1912.
- SCHILLING, V. Ueber die feinere Morphologie der Kurlofkörper, u.s.w. II. *Centralbl. f. Bakter. I. Orig.* Bd. 69; 1913.
- SKLAWUNOS, TH. G. Experimentell-histologische Studien über Entzündung bei möglichst leukozytenfrei gemachten Kaninchen. *Krankheitsforschung*, Bd. I; 1925.
- SOBERNHEIM, G. Die neueren Anschauungen über das Wesen der Variola- u. Vakzineimmunität. *Ergebn. d. Hyg.* Bd. VII; 1925.

- SÖRENSEN, S. T. und SÖRENSEN, E. Mikroskopische Studien über Vaccine u. Variola. Virchow's Archiv Bd. 258; 1925.
- STEINHARDT, E., ISRAELI, C und LAMBERT, R. A. Studies on the cultivation of the virus of vaccinia I. Journ. Inf. Diseases; p. 294; 1913.
- STEINHARDT, E. and LAMBERT, R. A. Studies on the cultivation of the virus of vaccinia II. Journ. Inf. Diseases p. 87; 1914.
- SWELLENGREBEL, N. H. Ueber Zelleinschlüsse die bei der Hornhautimpfung mit Varizellen auftreten. Archiv f. Hyg. Bd. 74; 1911.
- SCHÜTZ, V. Beiträge zur Kenntnis der Guarnierischen Körperchen. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krankh. Bd. 105; 1925.
- TENDELOO, N. PH. Allgemeine Pathologie. Julius Springer, Berlin, 1919.
- TENDELOO, N. PH. Krankheitsforschung. Krankheitsforschung, Bd. I, 1925.
- TENDELOO, N. PH. Entartung, Entzündung und Zellbildung. Zell-Gewebs-und Reizeigenschaften. Krankheitsforschung, Bd. I. 1925.
- TERNI, C. Contribution à l' étude de la variole et du vaccin et des autres maladies similaires. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 50; 1909.
- TOOMEY, J. A. and GAMMEL, J. A. The Paul-test in the diagnosis of small-pox. Journ. Infect. Dis. Vol. 41; 1927.
- UNGERMANN, E. u. ZUELZER, M. Beiträge zur experimentellen Pockendiagnose u.s.w. Arb. a. d. Reichsgesundh.amt. Bd. 52; 1920.
- VEIT, B. „Entzündungsvorgänge“ bei Kaninchen, die durch Benzol aleukocytär gemacht worden sind. Ziegler's Beiträge. Bd. 68; 1921.
- WASIELEWSKI, TH. VON. Ueber die Form und Färbbarkeit der Zelleinschlüsse bei Vaccineimpfungen. Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 21; 1897.
- WASIELEWSKI, TH. VON. Ueber infektiöse Epithelerkrankungen und ihre Beziehungen zu den Epitheliomen. Deutsche Med. Wochenschr. No. 28; 1904.
- WASIELEWSKI, TH. VON. Vakzinenachweis durch Frischfärbung abgeschabtes Hornhautepithels. Münch. Med. Wochenschr. No. 17; 1925.
- WASIELEWSKI, TH. VON. und WINKLER, W. F. Das Pockenvirus. Ergebn. der Hyg. Bd. VII. 1925.

WINKLER, W. F. Vaccineimmunitätsversuche an der mit Dionine behandelten Kaninchenhornhaut. Klin. Wochenschr. No. 19; 1923.

ZOELLER, CHR. et BASTOUIL. Kératite éberthienne et immunité. Comp.rend. d. l. Soc. de Biol. T. 90; 1924.

ZURUKZOGLU, ST. Experimentelle Untersuchungen über Vaccine u. Herpes. Klin. Wochenschr. No. 2; 1927.

VERKLARING DER FIGUREN.

Figuur 1. Hoornvlies van konijn 9 F, geënt met herpesstam S. Hoofdzakelijk op celzwellings berustende epitheelverdikking. Rondom de kernen „hofjes”. Vooral in de linker helft van het gezichtsveld zijn aan de kernen te onderscheiden een smal chromatinerandje en, daarvan door een lichte zoom gescheiden, de z.g. lichaampjes van Lipschütz.

(Celloïdine-snede. Haematoxyline-eosine. Vergrooting: 370 maal).

Figuur 2. Hoornvlies van konijn 70 F, geënt met herpesstam P. Laat de intranucleaire lichaampjes bij sterke vergrooting zien. Links boven reuscel. Ook hier rondom vele kernen hofjes.

(Celloïdine-snede. Haematoxyline-eosine. Vergrooting: $\pm$ 1300 maal. Foto „Multifilm” Haarlem).

Figuur 3. Rechterhoornvlies van konijn 91 F, geënt met bac. *bipolaris* „Groningen”. „Schachtelzelle”: in een holte van een epitheelcel met een halvemaaanvormige, ter zijde gedrukte kern, ligt een andere epitheelcel, waarvan voornamelijk de kern, aan de bovenzijde ook het celprotoplasma te zien zijn.

(Celloïdine-snede. Van Gieson—Weigert. Vergrooting: 850 maal).

Figuur 4. Linkerhoornvlies van konijn 91 F, geënt met bac. *bipolaris* „Groningen”. In een epitheelcel van de basale laag ligt een, vrij groot, lichaampje in een hofje; de celkern is op die plaats ingebocht.

(Celloïdine -snede. Van Gieson—Weigert. Vergrooting: 850 maal).

Figuur 5. Linkerhoornvlies van konijn 91 F, geënt met bac. *bipolaris* „Groningen”. Rond, intens zwart gekleurd insluitsel, met een hofje omgeven en de kern indrukkend.

(Celloïdine-snede. Van Gieson—Weigert. Vergrooting $\pm$ 900 maal. Foto „Multifilm” Haarlem).

Figuur 6. Rechterhoornvlies van konijn 90 F, geënt met bac. *bipolaris* „Hamburg”. „Schachtelzelle”, waarbij de ingesloten cel een ovaal, intens zwart gekleurd insluitsel bevat, dat in een diepe nis van de celkern ligt.

(Celloïdine-snede. Van Gieson—Weigert. Vergrooting: 850 maal).

Figuur 7. Linkerhoornvlies van konijn 2 F, geënt met Japansche koepokstof. Lichaampjes van Paschen.

(Volgens de door Paschen aangegeven methode behandeld en gekleurd. Phocu „Zeiss” Apochrom. Immersie 1/12. Oculair H).

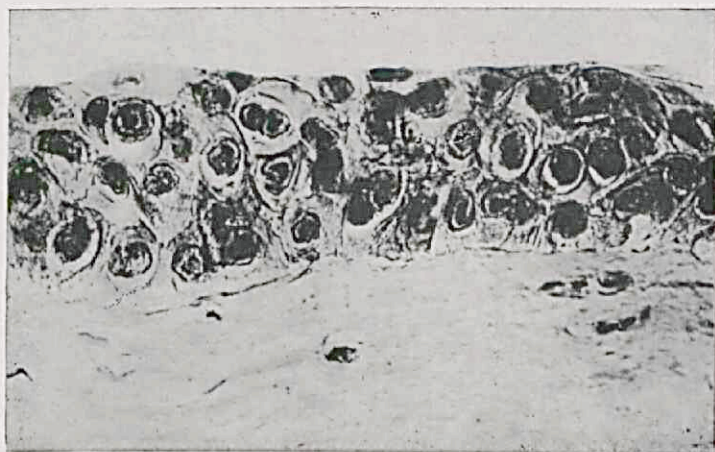


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

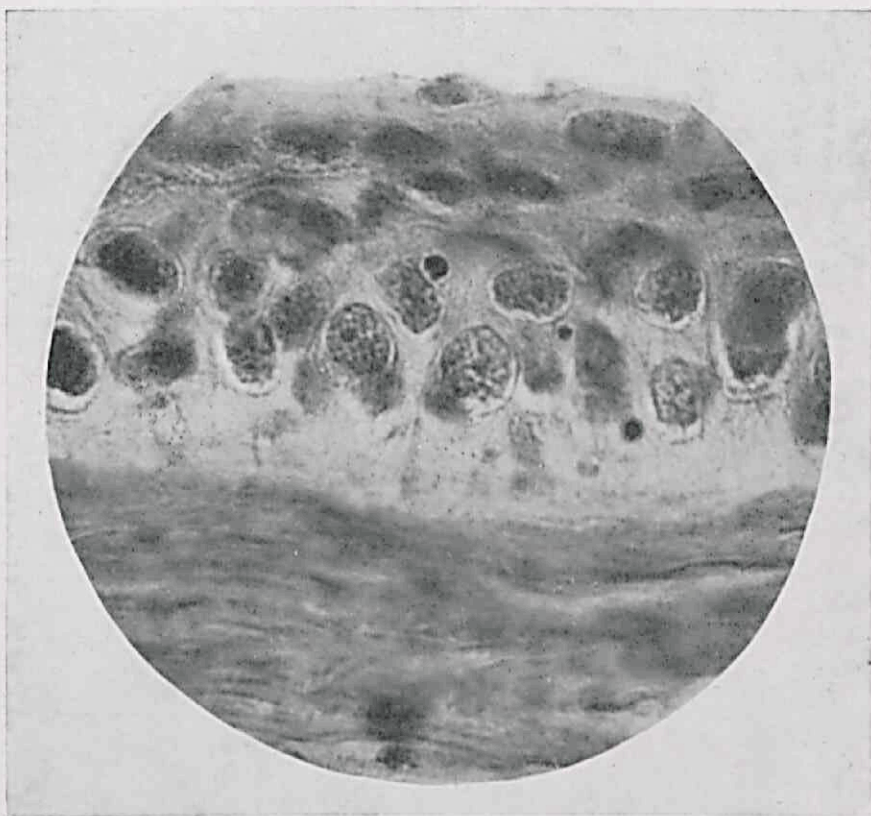


Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 7.

STELLINGEN.

I.

Bij voorbehoedende inentingën vermijde men, zoo mogelijk, de toepassing van gemengde entstoffen.

II.

De sterkte van de vloeistof voor de reactie van Schick worde niet in kleinste doodelijke doses voor de cavia, maar in „L_†”-doses uitgedrukt.

III.

Aan het „vitamineeren” van voedings- en genotmiddelen bestaat hier te lande géén behoefte.

IV.

Naast plaatselijke behandeling verdienen bij gonorrhoe intraveneuze trypaflavineïnspuitingen toepassing, indien de mogelijkheid bestaat, dat de lijder zich hoede voor langere durende zonnebestraling.

V.

Asthmasigaretten en z.g. rookpoeders zijn gebrekkige en verouderde middelen om den aanval van asthma bronchiale te bestrijden.

VI.

Alvorens kinderen, lijdende aan nierbekkenontsteking volgens Thomson met citras kalicus te behandelen, is een nauwkeurig onderzoek naar het bestaan eener latente tetanie noodzakelijk.

VII.

Indien klinisch onderzoek niet de gewenschte zekerheid geeft omtrent het al- of niet bestaan van graviditeit, verdient de zwangerschapsreactie van Zondek en Aschheim toepassing.

VIII.

Noch het ontbreken van „groei-eigening” bij moedervlekken, noch de waarneming, dat fibromyomen van de baarmoeder met den stijgenden leeftijd soms belangrijk in omvang kunnen afnemen, zijn voldoende redenen om aan de goedaardige blastomen een autonomen groei te ontzeggen.

(Zie Ned. Tijdschr. v. Gen. II 1930 blz. 5242).

IX.

Het door Tendeloo opgestelde schema der localisatie van emphyseem bij verschillende vormen van dyspnoe wordt door Loeschke op ondeugdelijke gronden verworpen.



