



# De bepaling van de grootte der erythrocyten bij de huisdieren

<https://hdl.handle.net/1874/364195>

A. qu. 192, 1944

DE BEPALING VAN DE GROOTTE  
DER ERYTHROCYTEN BIJ  
DE HUISDIEREN

G. A. M. DE MONYÉ

ht







DE BEPALING VAN DE GROOTTE DER ERYTHROCYTEN  
BIJ DE HUISDIEREN



*Diss Utrecht 1943*

# DE BEPALING VAN DE GROOTTE DER ERYTHROCYTEN BIJ DE HUISDIEREN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN  
DOCTOR IN DE VEEARTSENIJKUNDE AAN  
DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP  
GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS  
L. VAN VUUREN, HOOGLEERAAR IN DE  
FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBE-  
GEERTE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN  
SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN DE  
BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER  
VEEARTSENIJKUNDE TE VERDEDIGEN OP  
DONDERDAG 24 AUGUSTUS 1944, DES  
NAMIDDAGS TE 3 UUR

DOOR

GUSTAAF ADOLF MARIE DE MONYÉ  
GEBOREN TE ZUTPHEN





AAN MIJNE HULPVAARDIGE VROUW

Promotor Prof. Dr D. J. KOK

Die Wissenschaft ist ewig in ihrem Quell, nicht begrenzt in  
Zeit und Raum in ihrer Wirksamkeit, unermeszlich in ihrem  
Umfang, endlos in ihrer Aufgabe, unerreichbar in ihrem Ziel.

K. E. VON BAER.



## INLEIDING

Sedert Anthony van Leeuwenhoek (1632—1723) na het midden der 17de eeuw zijn mededeelingen over bloedlichaampjes deed, zijn bijna 300 jaren verstreken. In dit tijdvak hebben vele onderzoekers zich aan het bestudeeren der erythrocyten gewijd en zijn zoowel de aard, de bouw als de functie van deze voor het leven zoo belangrijke cellen uitvoerig onderzocht en beschreven.

Het bleek, dat de bijzondere eigenschappen der roode bloedlichaampjes grootere of kleinere physiologische schommelingen kunnen vertoonen of wel meer of minder in pathologischen zin veranderd kunnen zijn. Daarbij kunnen meer- of enkeldimensionale afwijkingen der voor deze cellen normale waarden optreden.

Zoowel het haemoglobinegehalte, het volume als de lineaire afmetingen kunnen bijzonderheden vertoonen, welke blijkens daarop gericht onderzoek voor bepaalde stoornissen karakteristiek zijn.

In het genoemde tijdvak zijn vele methoden voor het vaststellen van deze gegevens ontwikkeld, waarbij die voor het bepalen van de lineaire afmetingen door hun groot aantal en hunne onderlinge afwijkingen, bijzonder opvallen.

Het onderhavige werk nu, „De Bepaling van de Grootte der Erythrocyten bij de Huisdieren“ n.l., beperkt zich tot deze laatste methoden en beoogt een critisch onderzoek naar het wezen en de waarde dezer verschillende werkwijzen te zijn.

In den loop van het onderzoek werd daarbij een bestaande apparatuur voor klinisch gebruik verbeterd en een nieuwe methode op grond van andere beginselen ontwikkeld.

### § 1. *Vorm van de erythrocyten.*

De lineaire afmetingen van de erythrocyten, welker vorm

met algemeen bekende uitdrukkingen als „schoteltjes“, „lensjes“, „napjes“ wordt aangegeven, laten zich in twee groepen indeelen. De eerste groep betreft die maten welke de dikte van het schotel- of lensvormige lichaampje beschrijven, de tweede groep geeft uitdrukking aan den vorm van de grootste doorsnede van den erythrocyt. Veranderingen in de dikte laten zich bij de geringe afmetingen waarmede men bij den erythrocyt te maken heeft, zeer moeilijk bepalen. De toe- of afname echter van den diameter der grootste doorsnede, welke meestal circelvorm bezit, soms elliptisch (Camelidae, Aves), soms veelpuntig-stervormig is, kan beter gemeten worden, bijzonderlijk de gemiddelde waarde daarvan bij een groot aantal bloedlichaampjes. In het algemeen liggen hierbij de waarden tusschen 4 en 10 duizendste millimeter, met veranderingen van enkele duizendsten, terwijl de dikte van de bloedcellen tusschen 1.5 en 2.5  $\mu$  varieert. Een toe- of afname van 10% hiervan bedraagt slechts 15 tot 25 honderd-duizendste millimeter!

Bijzondere moeilijkheden brengen de napjesvormige cellen met zich. De schotel- of lensvormige erythrocyten zijn door het aangeven van den diameter der grootste doorsnede (E.D. of  $d_E$ ) practisch in hun grootte te beschrijven. Of de erythrocyten in vivo lens- of wel schotelvormig, d.w.z. biconcaaf zijn, is een aangelegenheid, die door vele onderzoekers is bewerkt, laatstelijk door onderzoek van het bloed bij den levenden mensch (V o n w i l l e r). Een beslissend antwoord kan echter nog niet gegeven worden.

## § 2. *Nauwkeurige meting.*

Een andere vraag is deze: wat zien wij bij microscopische waarneming eigenlijk van deze eigenaardig afgeronde lichaampjes? Nemen wij werkelijk de uiterste grens van den erythrocyt waar? Wanneer hij vrijelijk in een vloeistof zweeft, zien wij wel een omtrek. Naderen enkele erythrocyten elkander, dan komen zij op een gegeven moment zoo dicht opeen, dat de omtrekken van hun beelden elkander zouden moeten raken. In het microscopisch beeld is dit echter niet het geval.

Er ontstaan op de plaatsen waar de bloedlichaampjes contact hebben afplattingen in de circelomtrekken van de beelden, terwijl er eenige ruimte tusschen blijft. Waar de passage zeer nauw is kan men waarnemen dat de erythrocyten ovaal worden, zij sluipen als het ware door de nauwte, en moeten zeer zeker tegen elkander gedrukt zijn. Hun grenzen blijven echter vrij: een lichte zône blijft tusschen de beelden bestaan. Bij het over een ander heen schuiven kan men een dergelijk verschijnsel waarnemen. Het bovenste lichaampje krijgt een min of meer ovalen vorm, het onderste lijkt hoefijzervormig te worden, hetgeen in werkelijkheid allermint het geval is.

Men moet concludeeren dat door de geringe afmetingen van de voorwerpen de brekingsverschijnselen, die het beeld van de erythrocyten vormen, geen betrouwbaren indruk van den vorm en de uiterste afmetingen geven. Men heeft hierbij immers te doen met ongeveer platte ronde of elliptische schijven, waaraan geen kant aanwezig is. De overgang van onder- tot bovenzijde verloopt vloeiend. Noch met buigingsverschijnselen of een microscopisch beeld, is met eenige waarschijnlijkheid aan te geven of de allerbuitenste rand al dan niet aan het verschijnsel medewerkt, resp. wordt afgebeeld.

Ten aanzien van de waarneming van de dikte der roode bloedcellen treft dit nog sterker. Ponder en Millar stelden de optische fouten bij het meten van den diameter op  $1 \mu$ , dus ongeveer 15 % van de werkelijke afmeting. Hierbij bedragen de mogelijke fouten 50 en meer ten honderd.

Het vergelijken van de afmetingen van de grootste doorsnede heeft het voordeel, dat deze ook in droge preparaten waargenomen kan worden. Bij het uitstrijken van bloed op een voorwerpglas leggen de biconcave of biconvexe lichaampjes zich plat neer, terwijl de napjes voor het meerendeel in een richting loodrecht op de as van het napje samengevouwen worden. De napjesvorm is echter zoo zeldzaam dat zij geen storende invloed op de metingen uitoefent.

Het is gebleken, dat de roode bloedcellen bij elk individu afmetingen bezitten, welke volgens een binomiale kromme van een bepaald minimum tot een zeker maximum zijn ver-



deeld (Price-Jones), terwijl Freerksen meent dat de bedoelde kromme tweetoppig is.

Het gemiddelde nu van de diameters van de grootste doorsneden der erythrocyten vat men als „gemiddelde diameter” of „grootte” van de roode bloedcellen samen. In het onderzochte bloed zullen dus vele cellen aanwezig zijn, die ook werkelijk dezen diameter vertoonen, zeer vele die ten naasten bij dezen diameter bezitten en weinige, in afnemend getal, die een meer van den gemiddelden diameter afwijkende maat hebben. Het verschil tusschen de diameters van de groep grootste en de groep kleinste bedraagt ongeveer  $2.6 \mu$  (Bethé), tusschen de diameters van de grootste en de kleinste cellen volgens Donelson, Leichsenring en Wall  $3.56 \mu$ , volgens Collatz  $3.15 \mu$ , terwijl Horneffer hiervoor opgeeft  $2.5 \mu$ .

Verder vertoonen de grootten bij individuen van één soort eveneens een binomiale kromme, en wel bezitten de meeste een verzameling erythrocyten waarvan de gemiddelde diameter op of bij de voor de soort normale waarde ligt, terwijl in afnemend aantal ook individuen met meer of minder sterk afwijkend gemiddelde worden aangetroffen. Kirk vond bij gezonde menschen gemiddeld een E.D. varieerend van 6.9 tot  $7.55 \mu$ .

Deze personen vertoonden een normaal haemoglobinegehalte en een normalen kleurindex (resp. 90 tot 115 % en 0.90 tot 1.10).

Verdeeling der bij 213 gezonde personen door halometrie bepaalde gemiddelde doorsnedewaarden.

| Doorsnede in $\mu$ | Aantal | %  |
|--------------------|--------|----|
| 6.9 — 6.95         | 3      | 1  |
| 7.0 — 7.05         | 20     | 9  |
| 7.1 — 7.15         | 50     | 24 |
| 7.2 — 7.25         | 61     | 29 |
| 7.3 — 7.35         | 49     | 23 |
| 7.4 — 7.45         | 22     | 10 |
| 7.5 — 7.55         | 8      | 4  |

De normale waarde van den gemiddelden diameter van de roode bloedcellen bij mensch of dier kan dus eerst uit meer-

dere metingen van bloedpreparaten van vele individuen derzelfde soort worden bepaald. Het vinden van een waarde welke van het normale afwijkt is dus op zichzelf nog geene aanwijzing voor een abnormalen toestand bij de betrokken individu.

Bijzondere moeite om de normale waarde van den E.D. bij den mensch te bepalen, gaven J ö r g e n s e n en W a r b u r g zich. Zij onderzochten de erythrocyten in met heparine onstolbaar gemaakt eigen plasma. Het gemiddelde door hen geconstateerde verschil bedroeg 0.12  $\mu$  hetgeen in de meeste gevallen binnen de foutengrenzen van de metingstechniek lag.

Om de waarde van cijfers uit afzonderlijke metingen te kunnen beoordeelen, is het noodzakelijk met behulp van de waarschijnlijkheidsrekening de middelbare fout bij de metingen te bepalen.

Wanneer wij den middelbaren fout kennen, kunnen wij voor elken gewenschten graad van zekerheid de grenzen bepalen, waartusschen de werkelijke waarde van den gemiddelden diameter moet liggen. Evenzoo de grenzen waarbuiten tot verschil met andere preparaten mag worden besloten.

Deze middelbare fout kan na het verrichten van een groot aantal metingen worden berekend met de formule  $\sqrt{\frac{\sum \delta^2}{n}}$ , waarin  $\delta$  het verschil is van elke afzonderlijke waarneming met het gemiddelde uit alle, ten getale van  $n$ , verrichte metingen. Voor een bepaalden graad van zekerheid moet volgens bekende gegevens de middelbare fout worden vermenigvuldigd met een factor, welke b.v. voor een zekerheids-grens van 90 % 1.64 bedraagt.

Bij een onderscheid dat meer dan drie maal de middelbare fout bedraagt, kan met zekerheid tot verschil tusschen de onderzochte bloedsoorten worden besloten.

Het eigen onderzoek streeft naar de ontwikkeling van een methode met een apparatuur, welke den klinischen onderzoeker in staat stelt zonder groote subjectieve waarnemingsfouten te werken, die een zoo gering mogelijke eigen foutenmarge bezit en waarmede bloedsoorten op verschillende

tijdstippen, op verschillende plaatsen en door verschillende onderzoekers op vergelijkbare wijze kunnen worden gemeten.

### § 3. *Klinische waarneming.*

Uit vele onderzoeken is gebleken, dat de diameter niet alleen varieert met de soort van de betrokken individu, met constitutioneele zoowel als pathologische toestanden (Price-Jones, Ohno, Gisevius, Schmoll, Wiechmann en Schürmeyer, Jörgensen, Warburg, Kirk, Bock en Schalm).

In de meerderheid der gevallen hebben de zoogdiererythrocyten een ronde grootste doorsnede, terwijl bij cameliden en bij verschillende niet-zoogdieren elliptische, deels kernhoudende elliptische erythrocyten voorkomen.

Soms komt ook bij den mensch een elliptocythaemie voor (Hunter, Adams) welke op een erfelijken grondslag schijnt te berusten.

Dagelijksche schommelingen bij een zelfde individu werden vastgesteld (Pijper, Price-Jones, Wiechmann en Schürmeyer), bijzondere schommelingen door abnormale omstandigheden als dorst, of wel groote vochttoevoer (Sallwey), verkleining van den diameter in hooge streken (Holler, Kudelka), toename in het zeebad (Sega), evenals vergrooting na zeer heftige arbeidsprestatie (Schmidt, Lange, Price-Jones, Wiechmann en Schürmeyer).

Een verschil tusschen arterieel en veneus bloed wordt door Wiechmann en Schürmeyer, evenals Price-Jones aangegeven, door anderen echter niet bevestigd.

Belangrijk blijkt echter de verandering van den diameter bij pathologische toestanden, welke met anaemie gepaard gaan. Pijper, Price-Jones, Wiechmann, en Schürmeyer, Schalm, Kirk, Bock, Heumüller, Sallwey, Hubacek en vele andere beschrijven bij mensch en dier de afwijkingen in de gemiddelde grootte van de erythrocyten, die regelmatig gepaard gaande met een bepaalde soort anaemie, een aanwijzing voor het stellen van de diagnose of wel, gelijk bij pernicieuze anaemie, een hulpmiddel voor het

beoordeelen van de noodzakelijkheid van verdere levertherapie vormen. Dergelijke veranderingen werden bij het paard bij influenza, Brüsseler Krankheit en bij het toedienen van neosalvarsan (borstziekte) waargenomen.

In vele gevallen, zoo schrijft Kirk, wordt zelfs de vergrootte doorsnede wel waargenomen bij megalocyttaire anaemie en de verhoogde kleurindex niet. Voor het beëindigen van de levertherapie verdient daarom de bepaling van de E.D. de voorkeur boven die van den kleurindex.

Bijzondere beteekenis krijgt de meting van den diameter der erythrocyten daardoor, dat door het regelmatig klinisch toepassen van deze methode voor het eerst de maag-carcinoomanaemie die bij 50 % van de patiënten met een macroplanie gepaard blijkt te gaan, werd ontdekt (Heumüller).

Een aanwijzing voor den graad van de verandering van den diameter der roode bloedcellen in de bloedbaan volgt uit de onderzoekingsresultaten nog niet. Oneenigheid heerscht nog over de vraag of de maten in serum en plasma onderling en met die in het droge preparaat overeenstemmen. Ponder en Millar geven b.v. aan dat de cellen in plasma 1.2  $\mu$  grooter zijn dan in het uitstrijkje. Bock en Price-Jones vonden de cellen in vochtige preparaten eveneens grooter dan in droge. Lepel, Ohno, Wiechmann en Schürmeyer, Gisevius, zien geen verschil tusschen preparaten in serum of plasma en uitstrijkjes en merken eveneens geen verandering door fixeeren en kleuren van het uitstrijkje op. Slechts Haden vermeldt dat met een bepaalde apparatuur het gekleurde uitstrijkje wel, met een andere apparatuur hetzelfde niet kleiner in diameter dan het ongekleurde wordt gevonden.

In vele tabellen met deels zeer uiteenlopende waarden zijn de resultaten der metingen door verschillende onderzoekers samengevat. Noch de vorm van den erythrocyt, noch zijn uiterste maten, evenmin als de afmetingen in vivo zijn daardoor echter bepaald. In het algemeen wordt door de schrijvers aangenomen, dat de roode bloedcel in normale omstandigheden een biconcaven, ronden vorm vertoont.

Een samenstelling van verschillende tabellen volgt hierachter.

| Doorsnede<br>der<br>erythrocyten<br>van | Gulliver | Hayem   | Formad | Bethe | Landois | Schmidt   | Wintersheim | Kleineberger<br>Carl | Wirth   | Malkmus  | Collatz   | Hubacek    |
|---|----------|---------|--------|-------|---------|-----------|-------------|----------------------|---------|----------|-----------|------------|
| Mensch                                  | 7.9      | 7.5     | 7.9    | 7.9   | 7.5     | 7.7       | 7.5         | —                    | —       | —        | 8.26—8.42 | —          |
| Aap                                     | 7.4      | 5.5—8.5 | —      | —     | —       | —         | —           | 7.1                  | —       | —        | —         | —          |
| Hond                                    | 7.1      | 7—8.    | 7.1    | 7.3   | 7.2     | 7.0       | 7.3         | 6.8                  | 7.3     | —        | —         | 6.8—6.9    |
| Konijn                                  | 7.0      | 6.6—7.5 | 6.9    | 6.6   | 7.6     | 6.4       | 6.9         | 5.7—6.9              | 5.7—6.9 | —        | —         | 6.0 en 6.8 |
| Cavia                                   | 7.1      | 6.6+7.9 | 7.5    | 7.9   | —       | —         | 7.48        | 5.0—6.7              | 4.6—5.5 | —        | —         | —          |
| Kat                                     | 5.8      | 5—7     | —      | 5.3   | 6.2     | 5.6       | 6.5         | 5.7                  | 6.5     | 6.5      | —         | —          |
| Varken                                  | 6.0      | —       | 6.0    | 6.6   | —       | 6.2       | —           | —                    | 6.2     | 6.2      | 6.5       | 6.0—6.2    |
| Rat                                     | 6.8      | —       | —      | —     | —       | 6.4       | —           | 6.2                  | —       | —        | —         | —          |
| Muis                                    | 6.7      | —       | —      | 5.9   | —       | 6.1       | —           | 5.7                  | —       | —        | —         | —          |
| Paard                                   | 5.5      | 4.9—6.6 | 5.9    | 5.9   | 5.6     | 5.7       | 5.58        | —                    | 5.6     | 5.6      | 6.0       | 5.6        |
| Rund                                    | 6.0      | —       | 6.0    | 5.9   | 8.      | 5.8       | —           | —                    | 5.6     | 5.6      | 6.1       | 5.6—5.7    |
| Schaap                                  | 4.8      | —       | 5.1    | 4.6   | 5.      | 4.5       | —           | 4.3                  | 4.4     | 5.0      | 5.2       | 5.1        |
| Geit                                    | 4.0      | —       | 4.2    | —     | 4.25    | —         | 4.25        | —                    | 4.1     | 4.1      | 4.4       | 4.5        |
| Hoën                                    | —        | 7.2 en  | —      | —     | —       | 7.6 en 7. | 7. en       | 7.3 en               | —       | 6.5—8 en | —         | —          |
| Duif                                    | —        | 11.5    | —      | —     | —       | 12.7      | 12          | 12.0                 | —       | 12—14    | —         | —          |
| Kivvorsch                               | —        | —       | —      | —     | —       | 15.4 en   | 15.7 en     | 15.7 en              | —       | —        | —         | —          |
|   |          |         |        |       |         | 21.1      | 22          | 22.8                 |         |          |           |            |

Alle waarden zijn in  $\mu$  uitgedrukt.

Goetze



PLAAT I  
Portret van Antoni van Leeuwenhoek.



Uit den: Catalogus van het vermaarde Cabinet van vergrootglazen...  
nagelaten door Anthony van Leeuwenhoek, Delft 1747.

## HISTORISCH OVERZICHT.

### § 4. Van Leeuwenhoek 1673.

In een historisch overzicht van de verschillende methoden om de grootte van de roode bloedlichaampjes te bepalen, mag een herinnering aan het werk van Malpighi, van Swammerdam en in het bijzonder van Van Leeuwenhoek (vgl. plaat I), niet ontbreken. Malpighi toch was de eerste, welke in 1665, bij de waarneming van bloed, daarin vaste deeltjes ontdekte. Hij hield deze echter voor „bolletjes van vet, welker omtrekken roodachtig eindigden en als 't ware met een kroon van rood koraal wedijverden" (De Omento, Pingaedine et Adiposis Ductibus).

Swammerdam zag evenals Malpighi den bloedsomloop onder het microscoop. In zijn Biblia Natura beschrijft hij zijn waarneming van 1673: „In et bloet sag ik een Wij, daar een oneyndig getal rondachtige deelkens in swommen, die van figuur als plat ovaal waeren, maar heel regulier: sy scheenen ook nog een vogtigheid in haar te besluyten....".

De nieuwe theorie over den omloop van het bloed trok eerst door de beschrijvingen van Antoni van Leeuwenhoek de algemeene aandacht. Deze was niet tevreden met zijn ontdekking op 15 Augustus 1673, van den gang van de „wonderlyke ommeloop en de globulen des bloeds" in de haarvaten tusschen arterien en venen in de staart van een aaltje. Ook de afmetingen van deze „globulen" boezemden hem belang in. Het is weinig bekend, hoe van Leeuwenhoek met zijn hoogstens 270 maal vergrootende, zelf gemaakte microscoopjes met één lens, getracht heeft de grootte der bloedlichaampjes te weten te komen. Hij legde daartoe dertig zandkorrels van gelijke grootte naast elkander. Tezamen besloegen deze een lengte van een duim (25.3997 mm). Door vervolgens de erythrocyten onder zijn microscoop met een dergelijke zandkorrel te vergelijken, kon hij de afmetingen der „globulen" op  $\frac{1}{100}$  van de afmetingen der zandkorrel schatten. Hiermede is van Leeuwenhoek de eerste die ooit de grootte der roode bloedcellen bepaalde.



Zijn bevinding komt neer op een maat van  $\frac{1}{3000}$  duim, of wel  $8.5 \mu$ .

Indien wij bedenken, dat de gemiddelde doorsnede der erythrocyten thans door verschillende onderzoekers met verfijnde methoden wordt bepaald en daarbij waarden van  $6.6$  tot  $8.6 \mu$  worden gevonden, vervult dit ons eens te meer met grooten eerbied voor de genialiteit van den waarnemer *Van Leeuwenhoek*.

#### § 5. *Young 1823.*

De eerste berichten over het meten van roode bloedcellen, na die van *Van Leeuwenhoek*, dateeren uit den aanvang der 19de eeuw. *Thomas Young* construeerde omstreeks 1800 een apparaat, waarmede samengesteld licht uit een centrale opening, welke omgeven is door een cirkel kleine gaatjes, een bundel woldraden of wel een bloedpreparaat doorstroomt. Het licht wordt daardoor in kleuren gescheiden. Door toe- of afschuiven van het preparaat kan de overgang van groen naar rood op de cirkel kleine lichtpuntjes gebracht worden. Hierdoor is een meting mogelijk.

Als beginsel van het verschijnsel wordt aangenomen dat de woldraden of bloedlichaampjes als optisch rooster werken, dat afhankelijk van zijn maat het samengestelde licht in onderdeelen scheidt met buigings- of interferentiehoeken, die een maat voor de roosterconstante zijn.

De methoden, welke op dit door *Young* ontdekte verschijnsel berusten, worden halometrische- of diffractiemethoden genoemd.

De meting van de gemiddelde doorsnede van roode bloedcellen door *Young*, met zijn zgn. Eriometer dateert van 1823.

Voor met serum verdund bloed geeft hij acht eriometer-eenheden aan, overeenkomende met  $6.77 \mu$ .

#### § 6. *Price-Jones 1910.*

Gedurende den langen tijd dat de methode van *Th. Young* in het wetenschappelijk vergeetboek rustte werden door andere onderzoekers, op de eerste plaats *Price-Jones*,

met behulp van projectie bij duizendvoudige vergrooting per preparaat 500 cellen geteekend.

Door indeeling in groepen met een verschil van 0,25  $\mu$  kon Price-Jones zijn bekend geworden verdeelingskrommen opbouwen.

Hieruit volgt zoowel de gemiddelde diameter als de aard der spreiding van de afmetingen der erythrocyten.

De methode Price-Jones was vooral in de jaren 1910 tot 1921 zeer gebruikelijk.

Ponder projecteerde in 1922 het beeld van een bloedpreparaat bij duizendvoudige vergrooting op gevoelig fotografisch papier. Na ontwikkeling van de beelden mat hij op de gedroogde afdrukken een meer of minder groot aantal cellen.

Ponder en Allen pasten dezelfde werkwijze bij tweeduizendvoudige vergrooting toe.

Sander en Toony maten de erythrocyten onmiddellijk in het beeld op het matglas van een vergrootingsapparaat.

Ohno en Gisevius, Collatz, Wiechmann, en Schürmeier en meerdere anderen gebruikten den oculairschroefmicrometer om enkele honderden cellen in een preparaat te meten. Zij vonden hiermede dezelfde waarden als met de methoden van Price-Jones, Ponder en Allen. Het preparaat wordt hierbij met matig sterke vergrooting door het microscoop gezien. In het oculair is een schaalverdeeling aangebracht, waarlangs een lijn door middel van een zijdelings aangebrachte schroef kan worden bewogen. Deze lijn wordt op twee punten van een diameter van een roode bloedcel gebracht en vervolgens uit het verschil van de beide aflezingen de diameter bepaald.

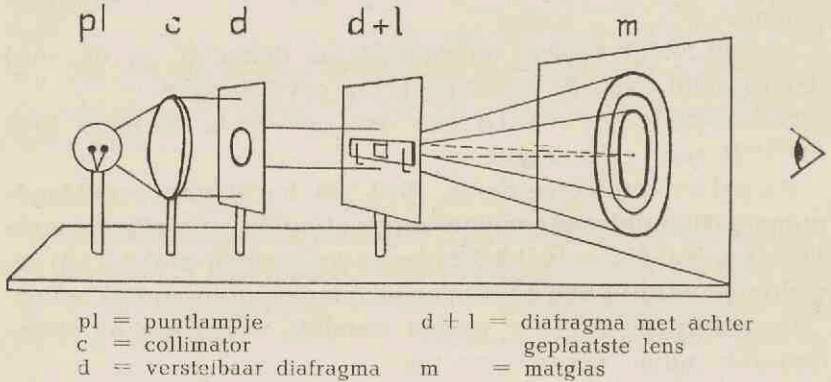
De oculairschroefmicrometer dient hiertoe te worden geijkt met objectmicrometers, welke door verschillende firma's voor ijkingsdoeleinden worden vervaardigd.

#### § 7. *Pijper 1919.*

In 1919 ontwikkelde Pijper op het beginsel van den Eriometer van Young een werkwijze voor het meten van bacteriën en bloedcellen. Hij projecteerde de gekleurde banden in de donkere kamer om deze vervolgens te meten. In 1929 ver-

beterde P i j p e r zijn apparatuur. Een evenwijdige lichtbundel werd door een bloedfilm op een matglas geworpen.

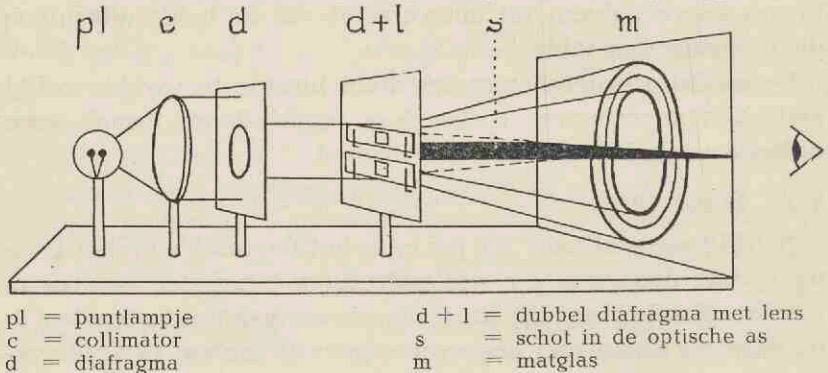
Afb. 1. Schema van de proefstelling vlg. P i j p e r.



De bloedfilm ligt daarbij op een opening van 15 mm doorsnede, zoodat meerdere millioenen lichaampjes aan het verschijnsel medewerken. Door het meten van de straal van een gekleurde kring in het beeld berekende P i j p e r den gemiddelden diameter van zeer veel lichaampjes tegelijkertijd.

Een bijzondere verbetering van het apparaat bracht P i j p e r met de toepassing van een schot tusschen twee openingen, waardoor twee preparaten tegelijkertijd konden worden onderzocht. Aan beide zijden van het schot ontstond een half „spectrum,“ telkens afkomstig van één preparaat.

Afb. 2. Schema van de proefstelling met schot vlg. P i j p e r.



Onderlinge vergelijking is hierdoor mogelijk. Pijper geeft aan door deze verbetering verschillen van  $0.1 \mu$  nauwkeurig te kunnen waarnemen.

Een practischer uitvoering werd door Edward ontworpen, terwijl Eve in 1929 een apparaat met spiegels bouwde, waardoor een verdubbeling van elken gekleurden ring tot stand werd gebracht.

Een zgn. Clinical Eriometer werd reeds in 1927 voor practisch gebruik door Emmons ontwikkeld. Twee jaar later werd deze door Pryce door het aanbrengen van een calibratie volgens een standaardpreparaat verbeterd. De ring van het onderzochte bloedpreparaat wordt door in- en uitschuiven van de apparatuur op deze kalibratie gebracht.

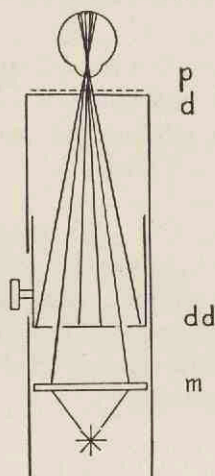
Christophers en Crayghaid combineeren in 1931 den Clinical Eriometer of wel Halometer, met het microscoop. Hun werkwijze komt neer op de methoden Pijper van 1924 en 1929. Zij meten den gelen ring met een schroefmicrometer bij microscopische waarneming. Hierdoor moeten zij zich echter beperken tot de meting van een gering aantal cellen.

#### § 8. Bock 1933.

Een aanmerkelijke vereenvoudiging in de apparatuur brengt Bock in 1933. Hij neemt met het oog door een preparaat een dubbel diafragma waar, waardoor twee „spectra” worden gezien (vgl. afb. 3). Door verandering van den afstand van oog en preparaat tot de beide lichtbronnen, kunnen bepaalde ringen tot aanraking worden gebracht. Door ijking van het apparaat met behulp van den oculairschroefmicrometer, kan een schaalverdeling voor directe aflezing van den diameter worden aangebracht.

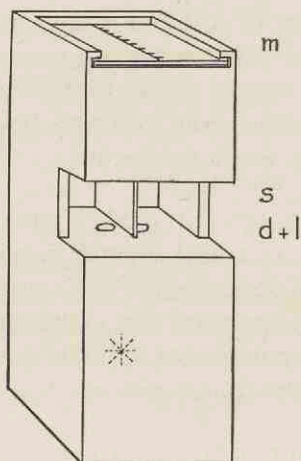
Had en brengt in 1940 een „new instrument”, dat volgens zijn beschrijving, gelijk de Eriometer van Young moet werken. Had en werkt echter met het binnenste rood, dat om de centrale lampopening zichtbaar is, en brengt dit door toe- of afschuiven op den cirkel van kleine lichtende gaatjes.

Afb. 3. Schema van den Erythrocytometer vlg. Bock.



- \* = lichtbron (gloeilamp)
- m = melkglas
- dd = dubbel diafragma
- d = diafragma
- p = preparaat

Afb. 4. Schema van den Blutzellenprüfer Zeiss-Pijper



- \* = lichtbron (gloeilamp)
- d + l = dubbel diafragma met onder geplaatste lens
- s = schot (verticaal)
- m = matglas met mm. verdeling

### § 9. Nieuwe methoden.

Op grond van de behoefte bloedlichaampjes aan het ziekbed te kunnen meten, ontwikkelden Schalm in 1931 en Keuskamp in 1943 zakapparaten voor het meten van den diameter. De eerste met aflezing door verschuiving in de lengteas van het apparaat, de tweede door vergrooing of verkleining van den afstand tusschen twee lichtbronnen, hetgeen neerkomt op een kleine modificatie van de apparatuur van Bock, door middel van een naast de centrale opening excentrisch aangebrachte verplaatsbare tweede opening.

De oculairschroefmicrometing en het meten met de microprojectie berusten op het afzonderlijk meten van de cellen. Zij hebben een groote nauwkeurigheid, maar vergen veel tijd.

De methoden Young en Pijper, en de daaruit afgeleide werkwijzen bieden gelegenheid de gemiddelde doorsnede van

meerdere honderduizenden cellen tegelijk met weinig tijd-verlies te bepalen. In de laatste jaren wordt deze diffractie-methode veel toegepast en zijn door fabrieken van optische instrumenten verschillende apparaten, ook voor klinisch ge-bruik vervaardigd.

Het beginsel, dat een aantal kleine lichaampjes, geplaatst in een bundel evenwijdige lichtstralen, als een rooster werkt en buigings- of interferentieverschijnselen opwekt waarvan de hoeken een maat voor de roosterconstante zijn, is bij alle oudere en verbeterde methoden behouden gebleven.

Deze aard van het verschijnsel vormt mede een onderwerp voor het beschreven eigen onderzoek.

Harnapp en Möbius hebben bij hun onderzoek naar het wezen van de buigingsverschijnselen den diameter der erythrocyten uit de zwarting van de fotografische plaat, waarop de ringen van monochromatisch licht werden opgenomen, berekend. Zij vinden de beste overeenstemming met deze methode door gebruik van het tweede maximum van het roode licht.

In het eigen onderzoek werd een apparaat voor klinisch ge-bruik gebouwd, berustend op het beginsel van Piper, echter met waarneming van de lichtringen op wit papier. De middellijnen van de ringen worden hierop aangeteekend en de doorsnede der cellen vervolgens buiten het apparaat afge-lezen met een schaalverdeeling.

Voor zakgebruik werd een apparaatje geconstrueerd be-rustend op de bovenomschreven wijziging in de methode Bock (vgl. afb. 6).

Tenslotte brengt het eigen onderzoek een nieuwe methode voor de bepaling van den  $d_e$  berustend op de lenswerking van deze lichaampjes. Hierbij wordt uit de kromtestraal van den erythrocyt de diameter van zijn grootste doorsnede be-paald.

## VRAAGSTELLING.

§ 10. *Hoe wordt de erythrocyt op vergelijkbare wijze waargenomen?*

In 1887 wees *Hamburger* bij zijn beschrijving van isotonische oplossingen op het feit, dat paardebloedlichaampjes in natriumchloride-oplossing kleiner schenen dan in het eigen plasma. Hun biconcave vorm verdween, zij werden min of meer kogelvormig. Andere zout- en ook suikeroplossingen veroorzaken hetzelfde verschijnsel. De verandering blijkt omkeerbaar. In eigen serum teruggebracht worden de cellen weer biconcaaf en gaan zij zelfs tot geldrollen samenklonteren. *Ponder* bemerkt dat de erythrocyten in zoutoplossingen tusschen twee vlakken bolvormig zijn, terwijl zij in serum of plasma biconcaaf blijven. De beide vormen hebben geen volumeverschil, waaruit zijn conclusie volgt dat de erythrocyten ballonachtige orgaantjes met een membraan zijn. Het vormbehoud wordt nagestreefd door krachten in het membraan, welke normaal de oppervlakte bij eenzelfde ruimteinhoud zoo groot mogelijk houden. *Emmons* heeft iets dergelijks waargenomen bij lecithinedeeltjes in water: deze nemen denzelfden vorm en afmetingen aan als roode bloedcellen en wel ronde schijfjes met dumbbell, in dwarsdoorsnede van 5 tot 10  $\mu$  metend.

*Rasi* ziet in suspensies van roode bloedcellen in plasma of serum den normalen vorm van ingedrukte schijfjes in het verloop van ongeveer 40 minuten in een kogelvorm overgaan. De doorsnede neemt daarbij gemiddeld, lineair gemeten, met 1.14  $\mu$  af.

*Ebbecke* ziet de roode bloedcel als een schijfje, of kogeltje, al naar de bijzondere toestanden welke in het lichaam of in vitro heerschen. Chemische, thermische en elektrische invloeden zijn voor den vorm bepalend, in het bijzonder kan

met hoogen druk, die zich als een goed beheerschaar middel doet kennen, de overgangsrij normocyt, poikilocyt, spherocyt, gehaemoliseerde cel als uiterlijk beeld van de voortschrijdende innerlijke vervloeiing der fijnere structuur zichtbaar worden gemaakt. Roller en Reuss zien onder invloed van vergiftiging een swelling van de cellen door permeabiliteitsstoornissen, welke door centrifugeeren weer kan worden opgeheven. Daarbij neemt de diameter weer af.

Pfuhl meent op grond van proeven met vitale kleuring, waarbij geen argyrophile stof als echte celmembraan aanwezig blijkt, te mogen besluiten dat de oppervlakte uit levend cytoplasma bestaat. Norris vindt bij de elliptische kernhoudende erythrocyten een oppervlakte die meer vast dan vloeibaar is, terwijl de inhoud geen stromata bezit, hetgeen door het duwen met fijne naalden blijkt. Na proeven met ultrageluidsgolven en druk meent hij te mogen constateeren, dat de inhoud geen gel of hoogvisceus sol is. De permeabele zg. membraan is slechts een deel van de omhullende zak.

Bij eigen waarnemingen van zeer versche bloeddruppels bleken de erythrocyten meestal een biconvexen vorm te bezitten. De erythrocyt moet worden gezien als een slappe eiwitmassa, zonder membraan, geen gel zijnde, welker vorm onder invloed van oppervlaktetensionsveranderingen biconcaaf of anderzijds kogelvormig kan worden. Biconcaviteit is of een artefact, of wel gezichtsbedrog bij de waarneming, door de optredende buigings- en brekingsverschijnselen. De normale vorm kan worden aangegeven als een ellipsoïde.

Een en ander is van belang t.a.v. het droge preparaat dat ontstaat, wanneer een druppel bloed voorzichtig op een schoon voorwerpglas wordt uitgestreken. De slappe erythrocyten zakken dan plat op het glas, waarbij de biconvexe vormen aan de onderzijde plat worden. De biconcave worden eveneens onderaan afgeplat, zij zakken in het midden sterker door. De kogelvormige ondergaan bij het uitzakken op het voorwerpglas evenzeer een afplatting. Het resultaat van het uitstrijken is dit: vrijwel alle erythrocyten komen op een vergelijkbare wijze op het objectglas te liggen, zij kleven zich zelf vast en vormen door eenvoudig drogen aan de lucht vergelijkbare



preparaten, waarin de grootste doorsneden evenwijdig aan de oppervlakte van het glas zijn gericht.

De zeldzame napjesvormen zakken over het algemeen op een zijde, worden daarbij biconvex, met een kleine uitholling dicht bij den nieuwen omtrek, als rest van de vroeger bestaande opening van het napje. Zij worden ook vergelijkbaar met de normale biconvexe, uitgezakte erythrocyten.

Om de belangrijkste afmetingen van de erythrocyten van verschillende bloedsoorten op vergelijkbare wijze ook door verschillende onderzoekers te laten waarnemen, kan alleen het droge preparaat dat op gelijke wijze uitgezakte roode bloedcellen bezit, worden gebruikt. Eenmaal volgens later te beschrijven regelen gemaakt, biedt het een onderzoekingsmateriaal, dat voor elke bloedsoort gelijke vervorming heeft ondergaan, dat een groot aantal erythrocyten voor meting biedt en voor allerlei normale omgevingsinvloeden niet meer gevoelig is. Zooals Van Walsen zegt:

„Bei einem den obrigen Regeln entsprechend angefertigtem Preparat staunt man über die Regelmäßigkeit, womit über eine gröszere Oberfläche die Blutkörperchen verteilt sind, wobei diese eine Ordnung zeigen, welche die friderizianischen Grenadiere im Sarge neidisch machen konnte.“

Voor het geheele verdere onderzoek wordt daarom met uitzondering van een in § 18 beschreven proef, met het droge uitstrijkje, lege artis paratum, gewerkt.

#### § 11. *Hoe groot worden de erythrocyten der huisdieren gemeten?*

Uit de cijfers in het tabellarische overzicht op bladzijde 8 blijkt bij acht onderzoekers eenige overeenkomst voor den diameter der roode bloedcellen van den mensch. De aangegeven waarden variëren van 7.5 tot 8.4  $\mu$  met een verschil van 0.9  $\mu$ . Voor de overige vermelde objecten wisselen de cijfers met verschillen van 0.4 tot 3.3  $\mu$  of wel van 7 tot 72 % van de kleinst aangegeven waarden.

| Doorsnede<br>erythrocyten<br>van | Kleinste<br>gemiddelde | Grootste<br>gemiddelde | Vershil<br>in de opgaven<br>in $\mu$ | Vershil<br>in % |
|----------------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------------------|-----------------|
| Mensch                           | 7.5                    | 8.4                    | 0.9                                  | 12              |
| Aap                              | 5.5                    | 8.8                    | 3.3                                  | 60              |
| Hond                             | 6.8                    | 8.                     | 1.2                                  | 16              |
| Konijn                           | 5.7                    | 7.5                    | 1.8                                  | 31              |
| Cavia                            | 4.6                    | 7.9                    | 3.3                                  | 72              |
| Kat                              | 5.3                    | 7.                     | 1.7                                  | 32              |
| Varken                           | 6.0                    | 6.6                    | 0.6                                  | 10              |
| Rat                              | 6.2                    | 6.8                    | 0.6                                  | 9               |
| Muis                             | 5.7                    | 6.7                    | 1.0                                  | 18              |
| Paard                            | 4.9                    | 6.6                    | 1.7                                  | 34              |
| Rund                             | 5.6                    | 6.0                    | 0.4                                  | 7               |
| Schaap                           | 4.3                    | 5.2                    | 0.9                                  | 21              |
| Geit                             | 4.0                    | 4.5                    | 0.5                                  | 12              |
| Hoer                             | 6.5                    | 8                      | 2.5                                  |                 |
|                                  | 11.5                   | 14                     | 2.5                                  |                 |
| Duif                             | 5.7                    | 7.1                    | 1.4                                  |                 |
|                                  | 11.8                   | 14.3                   | 2.5                                  |                 |
| Kikvorsch                        | 15.4                   | 15.7                   | 0.3                                  |                 |
|                                  | 21.1                   | 22.8                   | 0.7                                  |                 |

Er bestaat dus behoefte aan een overzicht van de diameters der erythrocyten bij de huisdieren, verkregen door een vergelijkbare meting, waaruit de vraag resulteert: Hoe groot worden de erythrocyten der huisdieren gemeten?

Ter beantwoording van deze vraag worden uitstrijkjes van huisdierbloed in den loop van het onderzoek volgens verschillende methoden onderzocht. De uitkomsten zijn in een Tabel op bladzijde 63 samengevat.

## § 12. *Bestaat de mogelijkheid tot waarneming van klinische verschillen?*

Naast de beantwoording van de vraag naar de normale waarden bij de huisdieren, is een onderzoek van belang of met de beschikbare apparatuur ook kleine verschillen in de diameters der bloedcellen kunnen worden gemeten, waardoor de bepaling van den E.D. bij huisdieren een klinische waarde zou kunnen verkrijgen.

Afgezien van de afmetingen der elliptische bloedcellen bij de vogels, blijken de in de literatuur aangegeven waarden bij huisdieren te loopen van 4.0  $\mu$  bij de geit, tot 8.0  $\mu$  bij den hond.

De klinisch bruikbare methoden zullen dus een bereik van omstreeks  $3\mu$  tot  $9\mu$  moeten bezitten en een nauwkeurigheid, waarmede niet alleen de soortverschillen, tusschen deze waarden gelegen, kunnen worden waargenomen, maar ook fijne veranderingen in het bloedbeeld, gelijk deze bij den mensch bij verschillende pathologische omstandigheden optreden.

In het laatste geval kunnen tevens onderzoekingen worden ingesteld naar de aanwezigheid van dagelijksche schommelingen in den diameter, veranderingen onder invloed van het verrichten van arbeid, verschillen tusschen arterieel, capillair en veneus bloed.

Ten einde het onderzoek niet noodeloos te compliceeren wordt geen pathologisch materiaal onderzocht, maar bloed van vele diersoorten, dat onderling zeer kleine verschillen vertoont. Daarnaast worden kunstmatig de verschillen nog kleiner gemaakt door bloedlichaampjes van twee weinig verschillende soorten te vermengen.

Een nadere bespreking hiervan volgt in het Hoofdstuk Eigen Werk.

De uitkomsten worden in een Tabel op bladzijde 56 vermeld.

### § 13. *Heeft de verbeterde methode Pijper nog bestaansrecht tegenover de moderne apparatuur?*

Uit de veelvuldigheid van apparaten en methoden, welke in de voorgaande paragrafen reeds is belicht, moet een keuze gedaan worden, om bij huisdieren in de verschillende klinieken en praktijken onderling vergelijkbare gegevens te kunnen verzamelen. Er werd reeds op gewezen, dat de overigens zeer nauwkeurige oculairschroefmicrometing voor praktisch gebruik te tijdroovend is. De clinicus hecht waarde aan een apparaat dat volgens een eenvoudige methode bediend kan worden en een overzicht geeft over vele cellen. Het mag slechts in geringe mate aan subjectieve en uiterlijke schommelingen onderhevig zijn.

Het onderzoek dient zich daarom uit te strekken over een vergelijking van de waarde der verschillende praktische

methoden en de betrouwbaarheid der apparaten, met bijzonderlijk een vergelijking van het Pijper-Zeiss-apparaat, de methode Bock en de verbeterde, oorspronkelijke meting volgens Pijper.

De vergelijking met een nieuwe methode volgens andere beginselen van eigen vinding is hierbij betrokken. De uitkomsten zijn in een grafiek neergelegd. Een tabel op bladzijde 63, met uitbeelding van de gevoeligheid van de verschillende methoden, antwoordt op de vraag of de verbeterde methode Pijper nog bestaansrecht heeft tegenover de moderne apparatuur.

#### § 14. *Op welke physische grondslagen berust de zgn. halometrische of diffractiemethode?*

Uit de bespreking der methodiek zal blijken, dat de eigenlijke aard van het halometrisch bepalen der grootte van lichaampjes door de verschillende onderzoekers nog niet is vastgesteld.

Pijper heeft het door Young ontdekte verschijnsel tot diffractie, dwz. buiging aan de randen van de woldraden of den omtrek van de erythrocyten, verklaard en op grond hiervan een formule gegeven voor de betrekking tusschen de buiging der lichtstralen en de afmetingen van het „rooster.“

Bergansius critiseert deze verklaring en meent dat de onderlinge afstand der lichaampjes van grootere beteekenis is dan hun omtrek. Tot een juist inzicht omtrent het verschijnsel is hij ook niet gekomen.

Ook Harnapp en Möbius hebben in een poging met de modernste fotografische methoden den aard van het verschijnsel te benaderen nog geen afdoende physische verklaring van de zgn. diffractie kunnen geven.

Het methodisch onderzoek naar de waarde der onderscheidene werkwijzen is daarom tevens uitgebreid tot een poging een oplossing voor dit natuurkundige raadsel te geven.

In het eigen werk worden de proeven en metingen beschreven, welke dienen om een antwoord te geven op de vraag: Op welke physische grondslagen berust de zgn. halometrische of diffractiemethode?

## METHODIEK

### § 15. *Oculairschroefmicrometrie en microprojectiemethode.*

Het meten van de diameters met den oculairschroefmicrometer geschiedde o.a. door Ohno en Gisevius, Col-latz, Wiechmann en Schürmeyer. De gebruikte micrometer wordt geijkt met een objectmicrometer, een glazen plaatje, waarop een in honderdsten verdeelde millimeter is ingekrast. Hiermede wordt vastgesteld welke waarde in  $\mu$  een schaaldeel van de oculairschroefmicrometer bezit.

Wiechmann en Schürmeyer gebruikten voor hun uitvoerige metingen een Leitz-micrometer, gecombineerd met een 1/12 olie-immersieobjectief. Bij het eigen onderzoek bleek echter de immersie-olie de uitstrijkjes dusdanig te veranderen in hun optische eigenschappen, dat deze naderhand voor de diffractiemethode niet meer bruikbaar waren. Toegepast werd daarom de combinatie Zeiss-oculairschroefmicrometer met Busch  $F = 0.85/60$ , waarbij de schaaldeelen een waarde bleken te hebben van  $0.145 \mu$  of wel met Zeiss  $F = 0.65/40$ , waarmede de schaaldeelwaarde  $0.238 \mu$  bedroeg.

Voor overzichtsmetingen werd ook wel een zwakker objectief gebruikt, Zeiss A, waardoor de schaaldeelwaarde tot  $0.961 \mu$  toenam.

Nauwkeurige metingen werden verricht met de combinatie Zeiss-oculairschroefmicrometer  $15 \times$  met Zeiss-apochroomaat 2mm/90 waarbij één schaaldeel de geijkte waarde van  $0.106 \mu$  had.

Met deze combinatie werd ten eerste vastgesteld of bij herhaalde metingen van een zelfde plaats in een uitstrijkje dezelfde waarde voor den diameter wordt gevonden. Herhaaldelijk werden een zelfde 200-tal cellen gemeten. De waar-

den voor den gemiddelden diameter vertoonden onderlinge verschillen van maximaal  $0.09 \mu$ .

Vervolgens werden de gemeten preparaten terzijde gelegd en na 6 maanden en 1 jaar wederom op dezelfde, gemerkte plaatsen met gelijke combinatie gemeten. Enkele uitkomsten worden hieronder als voorbeeld van de resultaten vermeld:

| Preparaat  | 1ste meting<br>in $\mu$ | na 6 mnd.<br>in $\mu$ | na 1 jaar<br>in $\mu$ | na 10 jaar<br>in $\mu$ |
|------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| Mensch 1.  | 7.91                    | 7.84                  | —                     | 7.97                   |
| Mensch 2.  | 8.88                    | —                     | 8.96                  | 8.98                   |
| Paard 43.  | 6.14                    | 6.05                  | —                     | —                      |
| Paard 47.  | 6.48                    | —                     | 6.47                  | —                      |
| Schaap 97. | 4.30                    | 4.36                  | —                     | —                      |

De waargenomen verschillen met de uitkomsten der eerste meting bedragen maximaal  $0.1 \mu$  in toenemenden of afnemenden zin. Dit verschil blijft, evenals dat bij meerdere metingen van dezelfde plaats onmiddellijk na elkander, binnen de aan de methode klevende nauwkeurigheidsgrens ( $0.1 \mu$ ).

Mitsdien kan in de oculairmicrometrie een werkwijze worden gezien, welke in staat stelt den diameter van bloedlichaampjes in een uitstrijkje tot op  $0.1 \mu$  nauwkeurig te bepalen. Verder kunnen de met den oculairschroefmicrometer gemeten preparaten als proefmateriaal voor de halometrische en diffractiemethoden dienen, waarbij indirect met behulp van een physische formule of een empirisch verkregen schaalverdeling de diameter moet worden berekend of afgelezen.

De microprojectie volgens Price-Jones, Ponder en Allen en anderen werd bij het eigen onderzoek een enkele maal toegepast. De duizend- of tweeduizendvoudig vergrootte beelden van de erythrocyten worden hierbij gefotografeerd of wel nagetrokken op een teekenscherm en naderhand met een millimetermaatje gemeten.

Een verbetering bracht het meten van de 1000-voudige vergrootte beelden op het matglas met behulp van een doorzichtig plaatje waarop genummerde cirkels van verschillende maat zijn gegraveerd.

Voor het werken met olie-immersie golden de reeds eerder genoemde bezwaren ten aanzien van optredende veranderingen in het preparaat. Met droogsystemen bleek een betrouwbare instelling voor 1000-voudige vergrooting niet wel mogelijk. De beeldcontouren worden daarbij te dik, zoowel bij directe waarneming op een projectiescherm van fijn teekpapier, waarop de omtrekken moeten worden nagetrokken, als bij opname van het beeld op een fotografische plaat of op fotogevoelig papier.

De methode is daarom voor het verdere onderzoek niet meer gebruikt.

Dat verschillende onderzoekers met deze methode voor den diameter in het natief preparaat grootere waarden vonden dan in het uitstrijkje van hetzelfde bloed, moet worden toegeschreven aan de Brownsche beweging, welke de omtrekken van de beelden vergroot. Overigens zijn volgens de metingen van Rasi de erythrocyten in een vochtig preparaat slechts gedurende de eerste 5 minuten in grootte onveranderd.

De methode van Price-Jones eischt overigens een goed verduisterde kamer hetgeen bezwaren met zich brengt.

## § 16. Halometrie.

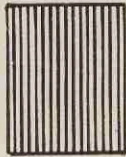
Als bekend verschijnsel, geeft een in één richting symmetrisch buigingsrooster dat in een evenwijdige lichtbundel wordt geplaatst, een serie in één richting op elkander volgende minima en maxima van het licht. Bij gebruik van samengesteld, wit licht geschiedt dit voor elke in het licht aanwezige golflengte in bepaalde mate. Een ronde opening, of wel een rond schijfje, doet dit in alle richtingen, zoodat concentrische ringvormige minima en maxima elkander afwisselen. Wordt ook hierbij met samengesteld licht gewerkt, dan volgen om het centrum een aantal gekleurde ringen, in volgorde van hunne toenemende golflengte (vgl. plaat II). Bij de toepassing van het verschijnsel op een verzameling openingen of schijfjes moet zorg gedragen worden de van ieder afzonderlijk afkomstige beelden nauwkeurig op het scherm of matglas tot dekking te brengen. Dit vertoont dan onder meer een helder ver-





PLAAT II

Buigingskleuren bij het lijnenrooster met samengesteld licht.



Fijn rooster en samengesteld licht, meerdere opeenvolgende spectra.  
(1e, 2e, 3e enz.).

licht centrum met daaromheen achtereenvolgens een gele, een oranje, een roode ring. Daarbuiten volgt een volledig stel kleuren, dat niet geheel rechtmatig spectrum genoemd wordt, met het violet binnen en het rood buiten. Een derde, vierde en eventueel volgend z.g. spectrum valt ten deele over een voor- gaand heen, zoodat meestal het violet van het derde spectrum reeds niet meer zuiver zichtbaar is.

P i j p e r geeft dit natuurkundige verschijnsel als een ver- klaring voor de werking van den Eriometer van Y o u n g, en van zijn eigen apparaten. Hij geeft de voorkeur aan het meten van het tweede spectrum, dat zich door een sterkere verzadi- ging van de kleuren van de andere onderscheidt. Volgens P i j p e r is de middellijn van elk maximum van een kleur in verband met zijn golflengte, rangorde van het spectrum en de brandpuntsafstand van de in het apparaat gebruikte lens een maat voor de grootte van het „buigingsrooster”, dat is voor het geval erythrocyten gebruikt worden, de afstand tusschen twee tegenover elkander aan den omtrek van de bloedcellen gelegen punten, welke gelijk den diameter is.

Als uitdrukking voor de onderlinge verhouding van de stralen der kleuren en den diameter der lichaampjes neemt

P i j p e r de formule voor de buiging van het licht:  $d = \frac{n\lambda}{\sin\alpha}$

waarin  $d$  de grootte van het rooster,  $\alpha$  de buigingshoek van een lichtstraal der golflengte  $\lambda$  voorstelt, terwijl  $n$  is het rang- getal voor het spectrum, van het midden uit gerekend. De sinus van de hoek is te bepalen uit de halve middellijn van het maxi- mum en den afstand van rooster tot dit maximum. Deze laatste afstand is op zijn beurt weer gelijk aan de wortel uit de som van de kwadraten van den brandpuntsafstand van de gebruikte lens en de straal van het betreffende maximum. Dus  $\sin\alpha =$

$\frac{r}{\sqrt{f^2 + r^2}}$ , waarin  $f$  en  $r$  resp. brandpuntsafstand en straal

voorstellen. Substitueert men deze betrekking in  $d = \frac{n\lambda}{\sin\alpha}$

dan krijgt men  $d = \frac{n\lambda\sqrt{f^2 + r^2}}{r}$ . Gewapend met deze laatste

kan men uit de meting van enkele lineaire afstanden ( $r$ ), de grootte van het rooster  $d$  of wel den diameter van de bloedlichaampjes  $d_E$  berekenen, eventueel in een daarvoor vervaardigde tabel aflezen.

De bepaling heeft betrekking op het zeer groote, in het rooster aanwezige aantal deeltjes, dat bij de door P i j p e r gebruikte opening eenige millioenen kan bedragen.

Men kan een indruk van het verschijnsel krijgen, wanneer men door een uitstrijkje naar een kleine lichtbron kijkt. Het oog werkt daarbij zelf als deel van een diffractie-apparaat: op het netvlies ontstaan vele gekleurde ringen. Brengt men nu achter de lichtbron een scherm aan met een zwak verlichte schaal of wel een cirkel met lichtende puntjes (Y o u n g, E v e, H a d e n) dan kan men de buigingshoek van de kleuren bepalen en zodoende den diameter van de bloedlichaampjes meten.

De methode P i j p e r, het meten van de kleuren op een matglas, omgaat grootendeels de bezwaren die aan het gebruik van een donkere kamer verbonden zijn. Toch blijkt het licht in de omgeving van het apparaat storend op de zuiverheid der meting te werken. Een ander bezwaar, dat echter gemakkelijker ondervangen kan worden, is aan het werken met openingen van 15 millimeter verbonden. Uitstrijkjes met oppervlakken van  $2.25 \text{ cm}^2$  waarop gave bloedcellen liggen, behooren tot de zeldzaamheden. Het voordeel van de werkwijze volgens P i j p e r ligt echter in het tegelijkertijd bepalen van het gemiddelde bij een buitengewoon groot aantal cellen.

De wijziging door P i j p e r aangebracht met een schot tusschen twee openingen (vgl. afb. 2 en plaat V), waardoor links en rechts van een dunne zwarte lijn twee halve stellen van spectra onderling kunnen worden vergeleken, is zeer belangrijk.

P i j p e r meent hiermede tegemoet te komen aan de veelvuldige bezwaren tegen zijn methode wegens de daaraan verbonden subjectiviteit.

Hiermede bestaat ook de mogelijkheid, onbekende bloed-

soorten met een nauwkeurig gemeten standaardpreparaat te vergelijken, waardoor, volgens P i j p e r, zeer kleine verschillen waargenomen kunnen worden. De firma Zeiss heeft volgens deze methode den Blutzellenprüfer nach Dr P i j p e r (vgl. afb. 4) in den handel gebracht, waarmede vergelijkenderwijze de serie preparaten, welke in den loop van het onderzoek werd vervaardigd kon worden bekeken. Het licht in de omgeving werkt bij dit apparaat minder storend, hoewel voor nauwkeurige waarneming van de flauwe spectra op het matglas, het gebruik van het apparaat in de donkere kamer aanbeveling verdient. Voor een absolute meting is het toestel niet bruikbaar, omdat bij zeer geringe zijdelingsche verplaatsingen van het schot de gemeten afstanden niet meer met den diameter van de kleuren overeenstemmen. Het bezwaar aan de groote openingen verbonden, geldt ook voor dezen toestel. Zeer geschikt is het apparaat om in het verloop van een ziekteproces van dag tot dag nieuwe preparaten met het aanvankelijk vervaardigde te vergelijken en zodoende een indruk te krijgen van de verandering van den gemiddelden diameter der cellen.

De Clinical Eriometer van H a d e n heeft het bezwaar, dat zeer moeilijk een kleur op de zwarte lijn in den toestel is te brengen. Door het werken met een microscoop volgens C h r i s t o p h e r s en C r a y g h a i d kan met een schroefmicrometer daarentegen de straal van een kleur gemakkelijker worden bepaald. Hierbij worden echter slechts zeer weinig cellen in het diffractieproces betrokken.

Overeenkomstig aan de gedachte van E m m o n s, het kleurenbeeld met spiegels te verdubbelen en dan te meten door twee bepaalde kleurbanden tot raken te brengen, construeerde B o c k een apparaat, waarmede met het bloote oog door een uitstrijkje een dubbele lichtbron wordt gezien. Door het vergrooten of verkleinen van den afstand tot de lichtbron wordt, volgens B o c k, het paar oranjeroode ringen van twee spectra tot samenvallen gebracht. Op een zijdelings aan den toestel, den z.g. Erythrocytometer van B o c k aangebrachte

empirische schaalverdeling kan dan onmiddellijk de gemiddelde diameter van de cellen in het betrokken preparaat worden afgelezen.

Het toestel van B o c k is aanvankelijk geconstrueerd voor het meten van menschenbloed, echter door een kleine wijziging en het aanbrengen van een andere schaalverdeling ook voor het gebruik bij huisdieren passend gemaakt. Voor zeer groote en zeer kleine cellen is het apparaat echter niet toereikend. Een bezwaar aan den Erythrocytometer verbonden, is het niet met zekerheid kunnen waarnemen of men bij bepaalde preparaten het tweede of een ander spectrum meet, waardoor aanmerkelijke fouten in de uitkomst kunnen optreden.

Voor gebruik aan het ziekbed construeerden S c h a l m in 1933 en K e u s k a m p in 1943 zakapparaten, welke het voordeel hebben gemakkelijk transportabel te zijn. Deze munten echter niet uit door bijzondere nauwkeurigheid. Zij berusten op de methode P i j p e r en werken resp. volgens de constructie van Y o u n g en van B o c k. K e u s k a m p verandert den afstand tusschen de waargenomen lichtpunten echter niet door verkorting of verlenging van den toestel, maar door onderlinge verplaatsing der lichtpunten met behulp van een excentriek. De aflezing geschiedt op deze apparaatjes door middel van een empirisch aangebrachte schaalverdeling.

Indien het diffractieverschijnsel wordt toegepast op een uitstrijkje van bloed, wordt de aangelegenheid nog gecompliceerder, dan in de beschrijving der methodiek aangegeven werd. Het preparaat bevat een aantal ronde schijven, waarvan de diameters niet gelijk zijn, maar volgens een binomiale kromme uiteenloopen. Het grootste aantal heeft ongeveer den gemiddelden diameter: dit geeft dus een bepaald stel banden. De in het preparaat aanwezige cellen van iets grootere afmeting doen kleuren ontstaan, welke, zooals uit de formule blijkt, kleinere stralen hebben dan die welke van de gemiddelde groep afkomstig zijn. De kleinere cellen daarentegen geven gekleurde ringen welke grooter zijn en alle meer naar buiten een plaats vinden.

Aangezien in een uitstrijkje van bloed een steeds afnemend aantal cellen voorkomt van groteren diameter dan den gemiddelden, wordt binnen de maxima welke afkomstig zijn van de cellen van gemiddelde grootte een in verzadiging afnemend aantal spectra geprojecteerd; de middellijnen hiervan nemen levens in grootte af. Hetzelfde, echter in omgekeerden zin, heeft plaats in verband met die cellen welke kleiner zijn dan de gemiddelde waarde. Met beperking tot de spectra van de tweede orde, kan een en ander schematisch worden weergegeven gelijk in de plaat IV.

In werkelijkheid doen zich aan den waarnemer spectra voor welke iets breder zijn, dan overeenkomt met spectra afkomstig van een even groote hoeveelheid cellen, welke allen wel den gemiddelden diameter bezitten.

Pijper gaf in 1924 aan, dat toch ook in het meer samengestelde geval het maximum geel gebruikt zou mogen worden voor de berekening van de grootte van het rooster, d.i. hier de gemiddelde grootte van alle aan het verschijnsel medewerkende cellen.

Het verst naar buiten liggend rood, dat afkomstig moet zijn van een aantal cellen van zeer kleinen diameter, zou volgens hem beschouwd mogen worden als maatstaf voor de doorsnede van die kleine cellen, welke naar verhouding tot het totaal aantal nog in aanmerkelijke hoeveelheid aanwezig zijn. Hetzelfde zou gelden voor de binnenste grenzen van het violet, waarvan de middellijn door een aantal cellen van grooten diameter, in aanmerkelijke hoeveelheid aanwezig, zou worden bepaald (vgl. plaat IV).

Hieruit volgt de conclusie van Pijper, dat de waarden van het binnenste violet en van het buitenste rood van één stel kleuren een maatstaf voor de anisocytose der bloedcellen in het preparaat moet zijn.

Volgens de theorie van Pijper zou dus op vrij eenvoudige wijze, en wel door het meten van de stralen der drie kleuren, violet, geel en rood, de gemiddelde grootte der erythrocyten, en de anisocytose bij één tot twee millioen cellen te bepalen zijn.

Verschillende onderzoekers voeren hiertegen aan, dat de methode te subjectief is. Het blijkt, dat elkeen welke de methode toepast voor zichzelf eerst moet vaststellen, wat als binnenst violet aangemerkt dient te worden. De grens is flauw en grijsig. Het bepalen van de straal van het geel, geflankeerd door groen en oranje, gaat beter.

Het rood brengt de minste moeilijkheden mede, wanneer men zich houdt aan P i j p e r's voorschrift: het rood daar te meten, waar het groen van het volgende spectrum zuiver wordt. Zijn de stralen der kleuren eenmaal bepaald, dan doet zich nog slechts één moeilijkheid voor. Het blijkt n.l. dat bij het gebruik van de factoren der formule, 1, 2 en 3 resp. voor de stralen van het eerste, tweede of derde spectrum, de uitkomst der berekening niet overeenstemt met de waarden der diameters, zooals deze door nauwkeurige meting met de methode P r i c e-J o n e s, of met de oculairschroefmicrometer zijn vastgesteld.

P i j p e r geeft in zijn desbetreffende publicatie aan, de factoren te verminderen, en wel bij toepassen van de meting bij het tweede spectrum, dat zeer brilliant is, van 2 tot 1.7. Hij vermeldt echter niet, op grond van welke metingen of langs welken theoretischen weg of experiment, hij tot dit cijfer 1.7 is gekomen.

De door hem toegepaste formule luidt daardoor:

$$d_E = \frac{1.7 \lambda \sqrt{f^2 + r^2}}{r}$$

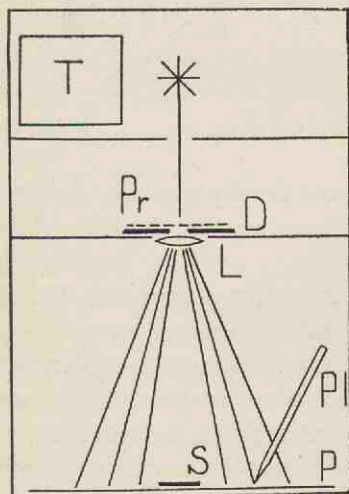
P i j p e r kan bij menschenbloed met zijn methode nog verschillen van  $0.1 \mu$  in de gemiddelde doorsnede der cellen waarnemen, bijzonderlijk met zijn apparaat met twee openingen. Ook de verschillen in anisocytose tusschen twee bloedsoorten of van bloed van een patient op verschillende tijdstippen, leest hij, met deze „vergelijkende diffractiemethode” onmiddellijk af. Dagelijksche schommelingen stelde hij vast, en wel tot een waarde van  $0.2 \mu$ .

§ 17. *Eigen methoden.*

Teneinde de verschillende genoemde bezwaren te onder-  
vangen, werd bij de eigen experimenten een toestel samen-  
gesteld, waarbij de spectra op wit papier geworpen, op den  
bodem van een aan de voorzijde open kastje, gemakkelijk  
met de scherpe punt van een potlood kunnen worden aan-  
geteekend. Naderhand kan op eenvoudige wijze de afstand  
tusschen de aangestreepte twee eindpunten van een middel-  
lijn van een kleur, met een passend meetinstrument worden  
gemeten. Hierbij kan door het aanbrengen van een doelmatige  
schaalverdeeling onmiddellijk de  $d_E$  worden afgelezen. Het  
papier kan voor een latere vergelijking met een nieuw prepa-  
raat worden bewaard.

De opening in het apparaat is verkleind tot een van 8 mm  
afmeting. Bij deze maat blijkt in vrijwel alle goed vervaar-  
digde uitstrijkjes een zône aanwezig te zijn, waarin gave cel-  
len liggen. Het aantal cellen, dat dan gelijktijdig wordt ge-  
meten, bedraagt bij deze opening nog meerdere honderd-  
duizenden.

Deze methode wordt verder aangeduid als verbeterde  
methode Pijper, (De Monyé 1931<sup>1)</sup>, vgl. afb. 5).



Afb. 5. Schema van het eigen  
apparaat.

- T = transformator  $220/125: 6$  V.
- \* = lampje met klein gloeilichaam
- Pr = preparaat
- D = diafragma 8 mm
- L = lens
- S = schijfje op licht centrum
- P = wit papier
- Pl = potlood

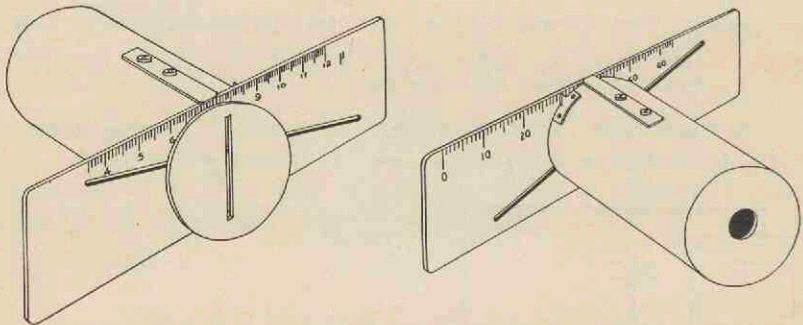
1) Niet gepubliceerd.



Het bovenbeschreven toestel kan zonder moeilijkheden, door het inbrengen van een natriumlampje, ook voor metingen met monochromatisch licht worden gebruikt. Op het witte papier verschijnt dan een helder centrum, omgeven door afwisselende minima en maxima van geel licht.

Voor gebruik buiten het laboratorium werd tijdens het eigen onderzoek een vereenvoudigd zakapparaatje ontwikkeld, dat berust op de methoden P i j p e r e n B o c k. Hierin wordt door het uitstrijkje met het bloote oog een tweetal lichtpunten waargenomen. Deze zijn onderling verplaatsbaar door middel van een schuifplaat met schuine zaagsnede. De aflezing kan in  $\mu$  geschieden of wel, door omkeeren van de schuifplaat, in cijfers, een en ander met een nauwkeurigheid van  $0,25 \mu$ .

Afb. 6. Schema van het eigen zakapparaat

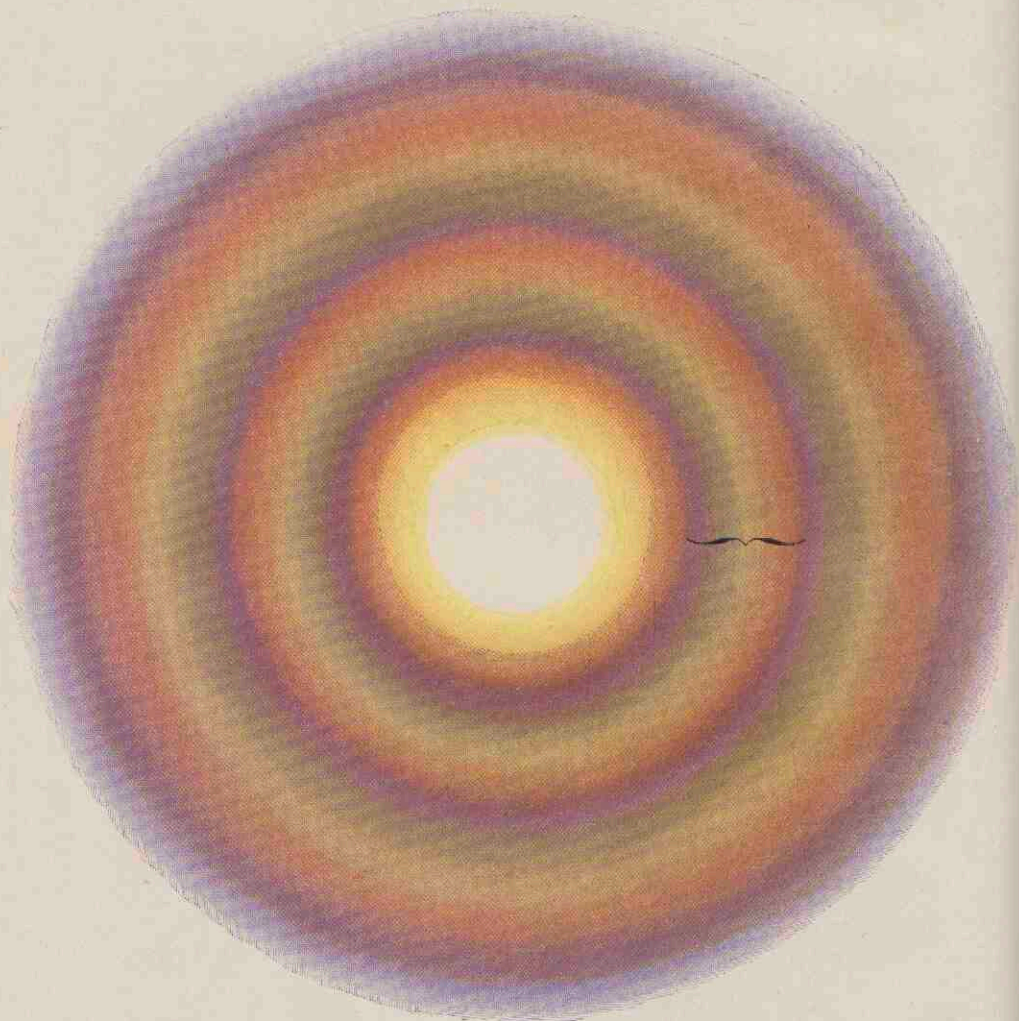
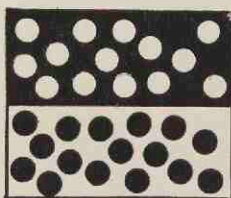


Volledigheidshalve moet hier, vooruitlopend op de beschrijving in de laatste paragraaf, de eigen methodiek voor het meten van den diameter op geheel nieuwe beginselen worden vermeld. Hierbij wordt in het microscopische beeld door middel van de heffing van den tubus van het microscoop de brandpuntsafstand van den als lens werkenden erythrocyt bepaald. Deze brandpuntsafstand staat door de plasticiteit van den erythrocyt in een zekere verhouding tot de doorsnede, zoodat hij een maat voor den diameter is. In het microscopisch beeld kan bij eenige honderden cellen tegelijkertijd de gemiddelde diameter worden gemeten, tevens de diameter van



PLAAT III

Buigingskleuren bij een rond rooster (erythrocyten).



Fijn rond rooster en samengesteld licht, meerdere concentrische spectra.  
Het spectrum van de tweede orde is met een accolade aangegeven.

de groep grootste en die van de groep kleinste cellen worden afgelezen. Een bijzondere apparatuur is voor deze methode niet benodigd. Een puntvormige lichtbron en een microscoopstatief met zeer betrouwbare fijninstelling zijn voldoende.

Het grootste gedeelte van de onderhavige arbeid werd verricht met den bovenomschreven toestel van P i j p e r, welke gedurende het onderzoek geleidelijk werd ontwikkeld tot een voor klinisch gebruik toepasselijk apparaat. De brandpuntsafstand welke aanvankelijk 40 cm bedroeg, werd hierbij teruggebracht tot 25 cm, hetgeen voldoende bleek om ook de grootste en de kleinste cellen van huisdieren nog halometrisch te kunnen onderzoeken. De verzadiging van de kleuren is bij den kleineren brandpuntsafstand sterker. Dit komt aan de betrouwbaarheid en het gemak bij het onderzoek zeer ten goede.

## EIGEN WERK.

### § 18. *Vervaardiging van betrouwbare bloedpreparaten.*

Als grondslag voor een onderzoek naar de betrouwbaarheid van verschillende methoden en voor een vergelijkende meting van verschillende bloedsoorten, dient het vervaardigen van uitstrijkjes te staan, die aan strenge eischen voldoen.

Goed geslaagde uitstrijkjes laten zich bij oppervlakkige beoordeeling met het bloote oog reeds onderkennen door een dun gedeelte, dat een zijdeachtige glans vertoont, waarin men de zgn. kleuren in dunne vliezen, Newtonsche interferentieverschijnselen, waar kan nemen.

Bij microscopisch onderzoek van dit gedeelte, de zgn. „Seidenfläche“, blijken de hier gelegen erythrocyten vrijwel alle rond te zijn en bijna aaneengesloten te liggen. Aan den uitersten rand worden de onderlinge afstanden veel grooter, naar het dikkere gedeelte toe kleiner. Daar liggen de erythrocyten gedeeltelijk overelkander. Men vindt hier vele misvormde of wel regelmatig in vorm veranderde roode bloedcellen, gelijk den doornappelvorm.

Een bruikbaar preparaat vertoont een zône van tenminste 10 mm breedte, waarin de gave ronde cellen naast elkander liggen. Zulke preparaten worden verkregen door het uitstrijken van een kleine druppel bloed over een zorgvuldig gereinigd glaasje. Het uitstrijken dient te geschieden in een matig warme omgeving die niet met waterdamp verzadigd is. Bij droge vrieslucht blijkt het eveneens mogelijk goede preparaten te vervaardigen. In het bijzonder dient er tegen te worden gewaakt, bij het uitstrijken in de richting van de glaasjes te ademen.

Kirk gebruikt rondom geslepen voorwerp-glaasjes, die volmaakt droog zijn, nadat zij tevoren met zeepwater, gedistilleerd water en alcohol zijn gezuiverd. Van Walsem

wijst op het belang van een mechanische verwijdering van het vuil, dat naar zijne meening geen vet is, met schuurmiddelen als krijt, bicarbonas natricus en dergelijke.

De eigen preparaten werden vervaardigd op glaasjes welke in een geconcentreerde oplossing van kaliumbichromaat en zwavelzuur waren voorbehandeld en vervolgens met alcohol en daarna aether, met gebruikmaking van een schoone, niet pluizende doek werden afgewreven.

Met een platinaoogje of wel met den rand van een voorwerp glas wordt een druppeltje bloed met een doorsnede van ongeveer 3 mm op het voorwerp glas gebracht. De mededeeling van Kirk, dat preparaten met verschillende druppelgrootte niet bruikbaar zijn, kan ik niet bevestigen. Het glaasje waarmede uitgestreken zal worden, wordt onder een hoek van 30 graden op den bloeddruppel geplaatst. Na even gewacht te hebben, tot de druppel zich langs de raaklijn der glaasjes heeft verdeeld, wordt het van het bloed af over het objectglas geschoven, waarbij de overdwars uitgetrokken druppel bloed in den scherpen hoek tusschen de beide glaasjes wordt medegenomen. De firma Zeiss brengt een apparaatje in den handel volgens Schiller, waarmede een en ander automatisch geschiedt. Indien men over een rustige hand beschikt is het maken van aan de eischen voldoende uitstrijkjes ook zonder technische hulpmiddelen mogelijk.

Kirk beveelt een scherperen hoek, n.l. van 20 graden, aan. Het voordeel dat hieraan verbonden moet zijn, heb ik niet kunnen waarnemen.

Na het uitstrijken wordt het preparaatje zacht gezwenkt en na enkele seconden gedurende eenigen tijd snel door de lucht gewaaid om het droogproces te versnellen. De erythrocyten kleven daarbij aan het schoone glas en fixeeren zelf in het dunne gedeelte hunnen ronden vorm.

Enige andere behandeling ter fixatie blijkt niet noodig te zijn. De preparaten blijven, mits stofvrij bewaard en niet gedurende langen tijd aan scherp licht blootgesteld, meerdere jaren onveranderd (vgl. § 15).

Het te onderzoeken bloed wordt afgenomen uit oppervlak-kige vaatjes, met behulp van een gewone of wel van een

Frank'sche naald. Wanneer men niet, gelijk gebruikelijk is, voor uitgebreider bloedonderzoek een hoeveelheid uit de vena jugularis, de vena saphena of wel uit een arterie afneemt, komt bij het paard de laterale rand van het neusgat en de mondhoek (van Walsen-Kok) in aanmerking. De eerste druppel wordt, om veranderingen door het weefselvocht te vermijden, niet gebruikt.

Indien de omstandigheden, b.v. de groote vochtigheid in een stal, of wel, gelijk Thijn beschrijft, de aanwezigheid van een groot aantal vliegen die intusschen het bloed opzuigen, het maken van preparaten bemoeilijken, kan bloed afgetapt en opgevangen worden in een reservoir waarin tevoren een stollingsremmende vloeistof, en wel 1 tot 2 % van de te nemen bloedhoeveelheid, is gegoten. Als zoodanig heeft een oplossing van kaliumoxalaat (20 %) met een kleine toevoeging van natriumfluoride (2½ %) voldaan. De pH van deze oplossing bedraagt 7.38.

Het dusdanig opgevangen bloed laat zich in een geschikte omgeving na korteren of langeren tijd op gelijke wijze uitslijken. Zodoende kunnen de agglutinatie en de schrompeling van de cellen, welke in een vochtige atmosfeer optreedt (Kirk), hetgeen men immer in het langzaam drogende dikkere gedeelte van het preparaat kan waarnemen, worden onderzocht.

De preparaten van dit oxalaatbloed blijken met zorgvuldige

| Preparaat  | Diffractiemeting (violet, geel, rood) en ocul. micr. m. ( $\mu$ ) |                         |                           |
|------------|---|-------------------------|---------------------------|
|            | vena saphena<br>oxalaat   | vena saphena<br>normaal | normaal<br>oorcapillairen |
| Hond 243   | 27—46—60 mm   | 27.24—45.50—60.25 mm    | 27—46—60 mm               |
|            | vena jugularis<br>oxalaat   | mondhoek<br>normaal     |                           |
| Paard 355  | 31.5—55—72.5 mm   | 33—55 —73 mm            |                           |
| 357        | 31 —54—68 mm  | 31—52.5—68 mm           |                           |
|            | vingertop<br>oxalaat  | vingertop<br>normaal    |                           |
| Mensch 125 | 26.5—45.5—59 mm   | 27—45.5—60 mm           |                           |
|            | 24 —42.5—58 mm  | 24—43 —58 mm            |                           |
|            | 8.20 $\mu$  | 8.18 $\mu$              |                           |

meting der diffractie, met den schroefmicrometer en bij vergelijking in den Blutzellenprüfer volgens P i j p e r, in uiterlijk en afmetingen der cellen niet met die van onvermengd uitgestreken bloed te verschillen.

Het met oxalaat vermengde bloed behoeft niet zeer snel te worden verwerkt. De houdbaarheid met geringe of zelfs zonder verandering van den celdiameter blijkt uit onderstaande cijfers:

| Preparaat  | eerste preparaten | preparaten van bloed dat vier dagen bewaard werd bij kamertemperatuur |
|------------|-------------------|---|
| Rund 162   | 34 —59 —78 mm     | 31—59 —79 mm  |
| Varken 167 | 31.5—53.5—69 mm   | 30—51.25—68.5 mm  |

Om een indruk te krijgen van den aard van de verandering der diffractieverschijnselen door vergrooting of verkleining van den gemiddelden diameter der cellen van een bloedsoort, werden de bloedlichaampjes uitgecentrifugeerd en in natriumchloride-oplossingen van verschillende concentratie gebracht. Druppels van deze suspensies werden tusschen objecten dekglas in den lichtbundel van een diffractieapparaat geplaatst. Het bleek dat geschrompelde cellen in de hypertotonische oplossingen een verschijnsel met grootere, daarentegen gezwollen cellen in hypotonische oplossingen een diffractie met kleinere afmetingen veroorzaakten. Daarbij werd waargenomen, dat onregelmatig geschrompelde cellen een minder brillant spectrum wierpen. Wanneer echter in de onregelmatigheid bij microscopisch onderzoek over het geheele preparaat een zekere regelmatigheid viel te constateeren, bleek bij deze regelmatige onregelmatigheid wel een brillant spectrum te verschijnen, een merkwaardigheid welke eerst later werd opgehelderd (vgl. § 30).

#### § 19. *Verbetering van de apparatuur.*

De experimenten met de methode P i j p e r werden aanvankelijk verricht met een laboratoriumtoestel, bestaande uit een



puntlampje met collimator en diafragma, welke een bundel evenwijdige lichtstralen onder een rechten hoek op een uitstrijkje werpen. Het preparaat ligt op een lens van 2.5 diopter. Op 40 cm afstand, dus in het brandvlak van de lens, is een matglas geplaatst. Een en ander is in afbeelding 1 weergegeven.

Ter vergelijking wordt een proefopstelling gemaakt waarbij het matglas wordt vervangen door wit papier waarop de kleuren ook zeer duidelijk zijn te zien. Deze opstelling heeft het voordeel, dat met een meetpasser de stralen op het papier gemakkelijker kunnen worden bepaald dan op het gladde matglas. Bij deze methode met opvallend licht vervalt het nadeel dat de korreling van het matglas bij het bekijken der kleuren hindert.

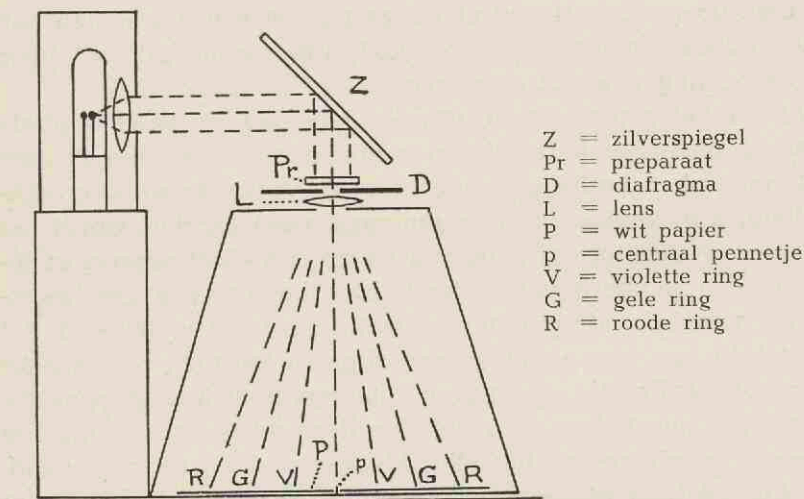
De uitkomsten van metingen met opvallend of doorvallend licht blijken praktisch niet in grootte te verschillen.

| Gemiddelde van 50 metingen | violet | geel | rood    |
|----------------------------|--------|------|---------|
| Op matglas                 | 37.2   | 64   | 81.3 mm |
| Op papier                  | 37     | 64   | 81 mm   |

Voor het vervolg wordt daarom aan de methode met opvallend licht de voorkeur gegeven.

Een schema van de apparatuur welke na eenige experimenteren voor opvallend licht bevredigende resultaten gaf, wordt in afb. 7 gegeven. Een horizontale lichtbundel wordt door een onder een hoek van  $45^\circ$  opgestelden zilverspiegel verticaal naar beneden gericht. Hij doorloopt vervolgens de as van een koker in welks bovenvlak een lens van 2,5 diopter is bevestigd. De koker heeft den vorm van een afgeknotte pyramide waaraan een breed voorvlak ontbreekt. Midden in den bodem staat in het brandpunt van de lens een dun pennetje, waarop het voor de meting te gebruiken papier wordt geprikt. Op de lens bevindt zich verder nog een diafragma. Eigen ervaring heeft geleerd dat het in de meeste uitstrijkjes niet mogelijk is,

Afb. 7. Schema van de proefopstelling met koker



een zône te vinden met gave cellen, die zoo groot is dat een opening van 15 mm geheel kan worden gevuld. Een diafragma van 8 mm stelde mij daartoe wel in staat.

Ik heb bij verschillende preparaten bepaald hoeveel bloedcellen bij het gebruik van een diafragma van 8 mm aan het verschijnsel kunnen medewerken. Deze aantallen variëren van 400.000 tot 800.000, hetgeen ruim voldoende kan worden geacht voor het verkrijgen van een betrouwbare uitkomst.

Het uitstrijkje kan bij de beschreven proefopstelling gemakkelijk met het gewenschte dunne deel, de zgn. „Seidenfläche“ op het horizontale diafragma worden gelegd. Het wordt dan onder zuiver rechten hoek door de lichtstralen getroffen.

Op het witte papier worden nu de concentrische kleurbanden waargenomen. De gewenschte kleur kan langs den rechten kant van een dun kartonnetje, dat tegen het pennetje is geschoven, met een scherp gepunt potlood worden aangestreept. Op deze manier worden links en rechts van het pennetje twee stipjes aangebracht, welke op een middellijn zijn gelegen. De afstanden van het gaatje in het papier, dat bij het afnemen hiervan door het pennetje wordt achtergelaten, tot de aanstrepingen betreffen nu bij elkaar behorende stralen van één kleur.

Later wordt steeds links en rechts de grens van een kleur aangestreept. De afstand van deze punten wordt gemeten met een dubbele maat, waardoor reeds een gemiddelde uit twee waarnemingen wordt afgelezen.

Door het papier iets te draaien kan men desgewenscht de stipjes onder het karton laten verdwijnen, zoodat men de aanstreeping kan herhalen zonder door de vorige te worden beïnvloed. Zijn voldoende aanstrepingen verricht, dan wordt het papier uit het toestel genomen en op een plaat waarin eveneens een pennetje zit, gelegd. Met behulp van een meetlatje, waarin op de nullijn een gaatje dusdanig is geboord, dat het latje om het pennetje kan draaien, worden de aangestreepte stralen tot op halve millimeters nauwkeurig gemeten. Daar het aanstrepen en meten op deze wijze vrij weinig tijd neemt, wordt gewoonlijk elke kleur vier maal aangeteekend.

Als resultaat van een meting wordt daarom verder verstaan het uit vier aanstrepingen bepaalde gemiddelde van een straal van één der kleuren.

§ 20. *Onderzoek naar de oorzaken van afwijkingen en het voorkomen daarvan.*

Veelvuldig herhaalde metingen bij één preparaat leveren een stel waarden op dat schommelingen vertoont tot 6% van de kleinst aangetroffen waarde. Ik heb getracht de oorzaken van deze afwijkingen op te sporen. In de eerste plaats komen in aanmerking veranderingen in de lichtsterkte. Ik heb deze kunstmatig voortgebracht door het diafragma achter den collimator opzettelijk te vergrooten of te verkleinen.

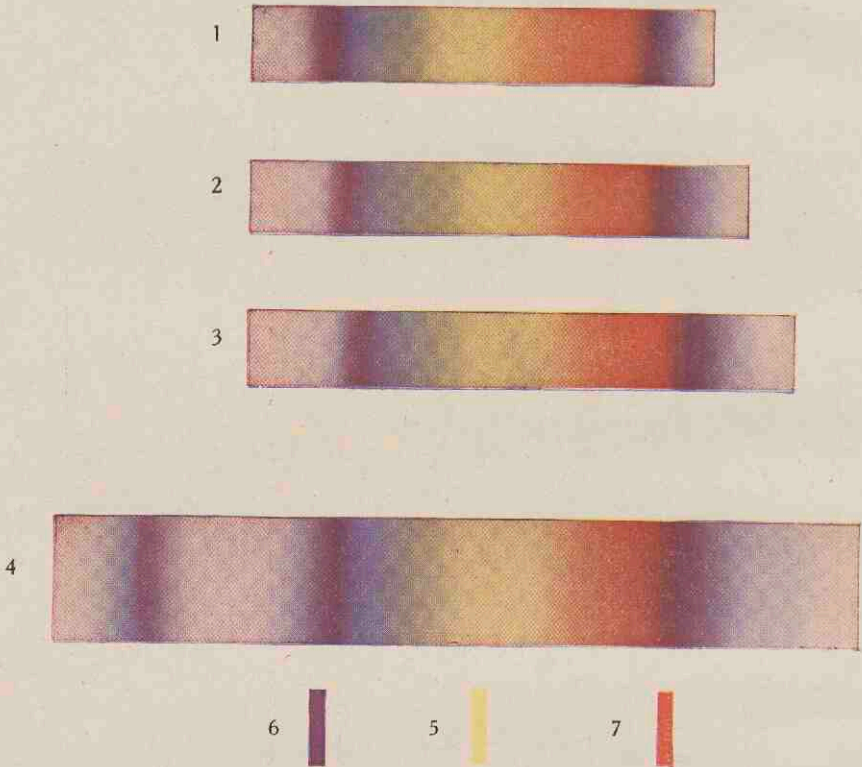
Hierbij bleek het volgende. Begint men te meten met een kleine opening en vergroot men deze langzaam, zoodat de intensiteit van het licht geregeld toeneemt, dan blijken de metingen steeds grooter uit te vallen. Wanneer de lichtsterkte zoo groot geworden is dat de kleuren er brillant uitzien, blijkt verdere toename géén gevolg meer te hebben t.a.v. de grootte van de stralen.

De waargenomen verschillen beloopt tot 9% van de kleinste waarden.



PLAAT IV

Betrekking der kleuren en doorsnede (Pijper)



1. Kleuren afkomstig van grootste cellen.
2. Kleuren afkomstig van middelbare cellen.
3. Kleuren afkomstig van kleinste cellen.
4. Resultante van de over elkander vallende kleuren van alle cellen.
5. Resulteerend geel: maat voor het gemiddelde van alle cellen.
6. Binnenste violet: maat voor een groep grootste cellen.
7. Buitenste rood: maat voor een groep kleinste cellen.

Ter vereenvoudiging is op de strooken uit de kleurringen slechts het spectrum van de 2de orde weergegeven.

Naast vergrooting van de lichtsterkte door versterking van de opvallende lichtbundel bestaat de mogelijkheid bij gebruik van eenzelfde hoeveelheid licht, het gebogen gedeelte te vergrooten door meer lichaampjes aan de verstrooiing te laten deelnemen.

Hierbij verkreeg ik dezelfde uitkomsten. Het verzadigde kleurverschijnsel van een grootere hoeveelheid cellen blijkt grootere stralen te leveren dan een zwakker, dat van een kleiner aantal cellen afkomstig is.

Tegenover het vergrooten van de lichtsterkte staat het verkleinen van de lichtsterkte met het omgekeerde resultaat ten opzichte van de grootte der stralen. Schijnbare verkleining van de lichtsterkte treedt op door fouten in de lichtafsluiting van de gebruikte laboratoriumruimte of door onvoldoende afscherming van de lichtbron.

De hierbij optredende verschillen bedroegen 3 tot 5%.

Bij uitschakeling van bovengenoemde oorzaken blijken herhaalde metingen series gemiddelden op te leveren met veel kleinere schommelingen. Deze metingen worden, om optredende vermoeienis te niet te doen, met tusschenpoozen van tien minuten verricht.

|        |   |      |      |    |      |      |      |      |      |         |
|--------|---|------|------|----|------|------|------|------|------|---------|
| Violet | : | 33   | 33.3 | 33 | 33.5 | 34   | 32.5 | 32.5 | 33.5 | 33.5 mm |
| Geel   | : | 60.5 | 59.5 | 61 | 62   | 61.5 | 60.5 | 61   | 61.5 | 63 mm   |
| Rood   | : | 76.5 | 76.5 | 76 | 76   | 75.5 | 76.5 | 78   | 77.5 | 77.5 mm |

Gemiddeld werden de drie kleuren als volgt gemeten:

|        |   |         |
|--------|---|---------|
| Violet | : | 33.3 mm |
| Geel   | : | 61.5 mm |
| Rood   | : | 76.6 mm |

Na enkele dagen met dezelfde proefopstelling en dezelfde voorzorgen blijken de gemiddelden over een zelfde aantal metingen bij hetzelfde preparaat:

|        |   |         |                          |   |        |
|--------|---|---------|--------------------------|---|--------|
| Violet | : | 33.3 mm | Verschil met voorgaande: |   |        |
| Geel   | : | 59.1 mm | Violet                   | : | 0.1 mm |
| Rood   | : | 79.7 mm | Geel                     | : | 3.4 mm |
|        |   |         | Rood                     | : | 3.3 mm |

Ongetwijfeld hebben wij hier te maken met de gevolgen van een afwijking in de persoonlijke gevoeligheid voor kleuren,

die begrijpelijkerwijze niet te voorkomen zijn. Zij toch wordt beïnvloed door omstandigheden als voeding, arbeid en in het bijzonder door de voorafgaande belichting.

Miller heeft daarom aangegeven, te werken met monochromatisch licht, bijv. het licht van een kwikbooglampje. Hierbij ontstaan slechts lichte en donkere streepen op het scherm. Een breedte van de kleuren kan men hieraan niet meten. Wel geeft P o n d e r aan, dat uit de verhouding van de lichtintensiteit van het eerste maximum en het eerste minimum de spreiding van de diameters zou kunnen worden bepaald. Daardoor zou men ook bij het gebruik van monochromatisch licht omtrent de anisocytose een indruk kunnen krijgen. Hiervoor is het echter noodzakelijk de buigingsverschijnselen fotografisch op te nemen. Voor klinische doeleinden komt deze werkwijze door haar bijzondere ingewikkeldheid niet in aanmerking.

Enkele onderzoekers keuren het werken met wit, dus samengesteld, licht af op grond van de bewering, dat het violet géén maatstaf zou zijn voor het meten van de grootte der erythrocyten. Zij geven aan, dat het binnenste violet in werkelijkheid niet aanwezig is, maar slechts door een contrastwerking van de andere kleuren in het oog van den waarnemer wordt opgewekt.

Ik heb dit op de volgende eenvoudige wijze onderzocht. Door het gebruik van een dof zwart papier, waarin een gaatje is geknipt en dat boven het witte papier, waarop gewoonlijk gemeten wordt, wordt geplaatst, kunnen achtereenvolgens verschillende plaatsen van de kleuren op een klein oppervlak van het witte papier worden onderzocht. Wanneer het gaatje klein genoeg gekozen is, kunnen de verschillende kleuren worden waargenomen, zonder dat de naburige het oog bij deze waarneming kunnen beïnvloeden. Het bleek mij daarbij, dat het binnenste violet werkelijk aanwezig is.

Wij hebben gezien, dat door doelmatige opstelling, door het gebruik van een vaste lichtbron, een vast diafragma en de voorzorgen van de zijde van den onderzoeker zooals het laten intreden van ruime donkeradaptatie, grootere afwijkingen in de uitkomsten kunnen worden voorkomen. De storingen ver-

oorzaakt door de van dag tot dag veranderde gevoeligheid van den onderzoeker blijven steeds over.

Door een groot aantal proeven, welke in den loop van enkele weken na verblijf in verschillend buitenlicht, werden genomen, heb ik bepaald binnen welke grenzen de laatst bedoelde schommelingen in de resultaten blijven.

Het preparaat Nr. 55 van paardenbloed heb ik daartoe 500 maal aan een meting onderworpen. Een overzicht volgt in de onderstaande tabel waarin de cijfers de gemiddelden voorstellen van groepen van 6 metingen, elk van 4 waarnemingen. Tevens is telkens de bijbehorende gemiddelde breedte van het tweede spectrum aangegeven, waarbij alle cijfers millimeters betreffen.

| Datum   | Gemiddelde<br>straal<br>Violet | Gemiddelde<br>straal<br>Geel | Gemiddelde<br>straal<br>Rood | Gemiddelde breedte<br>van het 2e spectrum |
|---------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|---|
| Sept. 9 | 43.5                           | 72.9                         | 94.2                         | 50.7                                      |
| —       | 43.4                           | 73.                          | 94.3                         | 50.9                                      |
| —       | 43.7                           | 74.                          | 93.                          | 49.3                                      |
| —       | 43.5                           | 72.2                         | 93.2                         | 49.7                                      |
| 10      | 43.1                           | 73.                          | 94.                          | 50.9                                      |
| —       | 40.8                           | 71.6                         | 94.2                         | 53.9                                      |
| 12      | 41.                            | 71.4                         | 94.3                         | 53.3                                      |
| —       | 42.                            | 72.5                         | 93.8                         | 51.8                                      |
| —       | 41.7                           | 74.4                         | 94.7                         | 53.                                       |
| 14      | 40.8                           | 69.2                         | 91.7                         | 50.9                                      |
| —       | 40.1                           | 72.3                         | 94.3                         | 54.2                                      |
| 16      | 40.5                           | 70.7                         | 93.1                         | 52.6                                      |
| —       | 42.3                           | 74.                          | 96.                          | 53.7                                      |
| 17      | 44.2                           | 75.1                         | 96.4                         | 52.2                                      |
| 19      | 42.2                           | 73.8                         | 95.5                         | 53.3                                      |
| —       | 42.1                           | 73.4                         | 94.9                         | 52.8                                      |
| 21      | 43.5                           | 74.5                         | 96.5                         | 53.                                       |
| —       | 42.4                           | 73.2                         | 96.                          | 53.6                                      |
| —       | 42.                            | 72.5                         | 95.2                         | 53.2                                      |
| 23      | 42.2                           | 74.                          | 94.4                         | 52.2                                      |
| —       | 42.9                           | 72.                          | 95.8                         | 52.9                                      |

Hieruit worden de volgende gemiddelde waarden berekend.

42.6                      72.9                      94.5                      51.9 mm

Over het algemeen komen afwijkingen van 4 % voor. Statistische bewerking levert voor een zekerheid van 90 % bij de waarnemingen met zestallen metingen voor de kleuren en de breedte eveneens een variatie van bijna 4 %.



Dit zou volgens de door P i j p e r aangegeven formule overeenkomen met  $0.35 \mu$  voor de grootte,  $0.25 \mu$  voor de gemiddelde en  $0.1 \mu$  voor de kleine diameters van de roode bloedcellen. Het stelt ons in staat onderscheid te maken tusschen twee preparaten waarvan de gemiddelde doorsnede van de erythrocyten meer dan  $0.5 \mu$  verschilt.

§ 21. *Meting van een standaardpreparaat.*

Overzicht van de metingen van het violet van het preparaat Nr. 55.

| Datum   | meting              | gemiddelde | afgerond<br>gemiddelde<br>van 24-tal | dagelijksch<br>gemiddelde | laagste<br>viertal | hoogste<br>viertal |
|---------|---------------------|------------|--------------------------------------|---------------------------|--------------------|--------------------|
| Sept. 9 | 1043                | 43.46      | 43.5                                 |                           |                    |                    |
| —       | 1041                | 43.375     | 43.4                                 |                           |                    |                    |
| —       | 1048.5              | 43.69      | 43.7                                 | 43.55                     |                    |                    |
| —       | 1044                | 43.5       | 43.5                                 |                           |                    |                    |
| 10      | 1034                | 43.08      | 43.1                                 | 41.95                     |                    |                    |
| —       | 979.5               | 40.81      | 40.8                                 |                           |                    |                    |
| 12      | 985                 | 41.04      | 41                                   |                           |                    |                    |
| —       | 1013.5              | 42.23      | 42                                   | 41.36                     |                    |                    |
| —       | 999.5               | 41.66      | 41.7                                 |                           |                    |                    |
| 14      | 979                 | 40.79      | 40.8                                 | 40.46                     |                    |                    |
| —       | 963                 | 40.125     | 40.1                                 |                           | 39.5               |                    |
| 16      | 973                 | 40.54      | 40.5                                 | 41.44                     | 39.5               |                    |
| —       | 1016                | 42.33      | 42.3                                 |                           |                    |                    |
| 17      | 1059.5              | 44.145     | 44.2                                 | 44.15                     |                    | 45.75              |
| 19      | 1012                | 42.17      | 42.2                                 | 42.14                     |                    |                    |
| —       | 1010.5              | 42.10      | 42.1                                 |                           |                    |                    |
| 21      | 1043.5              | 43.48      | 43.5                                 | 42.63                     |                    |                    |
| —       | 1018                | 42.42      | 42.4                                 |                           |                    |                    |
| —       | 1008                | 42.00      | 42.0                                 |                           |                    |                    |
| 23      | 1011.5              | 42.145     | 42.2                                 | 42.5                      |                    |                    |
| —       | 858.5 <sup>1)</sup> | 42.93      | 42.9                                 |                           |                    |                    |

Gemiddelde van het violet  $21300.5 : 500 = 42.6$ .

De middelbare fout bij gemiddelden van viertallen 1.07.

Het gemiddelde van de dagen loopt van 40.5 tot 44.2.

Het gemiddelde van 24-tallen van 40.1 tot 44.2.

Het gemiddelde van 4-tallen van 39.5 tot 45.75.

Het gemiddelde van enkele metingen van 39 tot 46.5.

Voor 90% zekerheid bedraagt de middelbare fout  $1.64 \times 1.07 = 1.76$ . De grenzen loopen daarbij van 40.9 tot 44.4.

1) Dit betreft een 20-tal metingen.

Overzicht van de metingen van het geel van het preparaat Nr. 55.

| Datum   | meting               | afgerond<br>gemiddelde<br>van 24-tal | deviatie | dagelijksch<br>gemiddelde | laagste<br>viertal | hoogste<br>viertal |
|---------|----------------------|--------------------------------------|----------|---------------------------|--------------------|--------------------|
| Sept. 9 | 1748.5               | 72.85                                | 1.35     |                           |                    |                    |
| —       | 1752.0               | 73                                   | 1.44     | 73                        |                    |                    |
| —       | 1777.0               | 74                                   | 1.23     |                           |                    |                    |
| —       | 1732.5               | 72.2                                 | 2        |                           |                    |                    |
| 10      | 1755.0               | 73                                   | 1.53     |                           |                    |                    |
| —       | 1718.0               | 71.6                                 | 2.39     | 72.3                      |                    |                    |
| 12      | 1714.5               | 71.4                                 | 1.08     |                           |                    |                    |
| —       | 1740.0               | 72.5                                 | 1.1      | 72.8                      |                    |                    |
| —       | 1785.0               | 74.4                                 | 1.65     |                           | 68.25              | 76.75              |
| 14      | 1776.5               | 69.8                                 | 1.46     | 71                        |                    |                    |
| —       | 1736.0               | 72.3                                 | 1.2      |                           |                    |                    |
| 16      | 1696.0               | 70.7                                 | 1.76     |                           |                    |                    |
| —       | 1778.0               | 74.0                                 | 1.5      | 72.4                      |                    |                    |
| 17      | 1803.5               | 75.1                                 | 1.48     | 75.1                      |                    |                    |
| 19      | 1770.5               | 73.8                                 | 1.4      | 73.6                      |                    |                    |
| —       | 1742.0               | 73.4                                 | 1.25     |                           |                    |                    |
| 21      | 1791.5               | 74.5                                 | 0.9      |                           |                    |                    |
| —       | 1757.5               | 73.2                                 | 1.8      | 73.4                      |                    |                    |
| —       | 1742.0               | 72.5                                 | 1.7      |                           |                    |                    |
| 23      | 1775.5               | 74                                   | 1.5      | 73                        |                    |                    |
| —       | 1447.5 <sup>1)</sup> | 72                                   | 0.9      |                           |                    |                    |

Gemiddelde van het geel 36439 : 500 = 72.87.

De middelbare fout bij gemiddelden van viertallen 1.62.

Zulks berekend voor het gemiddelde genomen op 72.9.

Het gemiddelde van de dagen loopt van 71 tot 75.1.

Het gemiddelde van 24-tallen van 69.8 tot 75.1.

Het gemiddelde van 4-tallen van 68.25 tot 76.75.

Het gemiddelde van enkele metingen van 66 tot 78.

Voor 90 % zekerheid bedraagt de middelbare fout  $1.64 \times 1.62 = 2.63$ . De grenzen loopen daarbij van 70.2 tot 75.6.

1) Dit betreft een 20-tal metingen.

Overzicht van de metingen van het rood van het preparaat Nr. 55.

| Datum   | meting             | gemiddelde | afgerond<br>gemiddelde<br>van 24-tal | dagelijksch<br>gemiddelde | laagste<br>vieraal | hoogste<br>vieraal |
|---------|--------------------|------------|--------------------------------------|---------------------------|--------------------|--------------------|
| Sept. 9 | 2260.5             | 94.19      | 94.4                                 |                           |                    |                    |
| —       | 2263.5             | 94.31      | 94.3                                 | 93.6                      |                    |                    |
| —       | 2231               | 92.96      | 93                                   |                           |                    |                    |
| —       | 2235.5             | 93.15      | 93.2                                 |                           |                    |                    |
| 10      | 2255               | 93.96      | 94                                   | 94.1                      |                    |                    |
| —       | 2261               | 94.21      | 94.2                                 |                           | 90                 | 98.25              |
| 12      | 2262               | 94.25      | 94.3                                 |                           |                    |                    |
| —       | 2250               | 93.75      | 93.8                                 | 94.2                      |                    |                    |
| —       | 2271.5             | 94.65      | 94.7                                 |                           |                    |                    |
| 14      | 2201               | 91.67      | 91.7                                 | 93.2                      |                    |                    |
| —       | 2262               | 94.25      | 94.3                                 |                           |                    |                    |
| 16      | 2233.5             | 93.06      | 93.1                                 | 94.5                      |                    |                    |
| —       | 2304               | 96.00      | 96                                   |                           |                    |                    |
| 17      | 2313               | 96.38      | 96.4                                 | 96.4                      |                    |                    |
| 19      | 2291.5             | 95.48      | 95.5                                 | 95.2                      |                    |                    |
| —       | 2278.5             | 94.94      | 94.9                                 |                           |                    |                    |
| 21      | 2319.5             | 96.53      | 96.5                                 |                           |                    |                    |
| —       | 2303               | 95.95      | 96                                   | 95.6                      |                    |                    |
| —       | 2283               | 95.17      | 95.2                                 |                           |                    |                    |
| 23      | 2266.5             | 94.44      | 94.4                                 | 95.1                      |                    |                    |
| —       | 1915 <sup>1)</sup> | 95.75      | 95.8                                 |                           |                    |                    |

Gemiddelde van het rood  $47258.5 : 500 = 94.52$ , afgerond 94.5.

De middelbare fout bij gemiddelden van 4-tallen 1.81, zulks berekend voor het gemiddelde 94.5.

Het gemiddelde van de dagen loopt van 93.2 tot 96.4.

Het gemiddelde van 24-tallen van 71.7 tot 96.5.

Het gemiddelde van 4-tallen loopt van 90. tot 98.25.

Het gemiddelde van enkele metingen van 87.5 tot 100.

Voor 90 % zekerheid bedraagt de middelbare fout  $1.64 \times 1.81 = 2.97$ . De grenzen lopen daarbij van 91.55 tot 97.49.

<sup>1)</sup> Dit betreft een 20-tal metingen.

Overzicht van de metingen van de breedte van het spectrum van Nr. 55.

| Datum   | meting | deviatie | Datum    | meting | deviatie |
|---------|--------|----------|----------|--------|----------|
| Sept. 9 | 50.7   | 1.6      | Sept. 16 | 52.6   | 0.3      |
| —       | 50.9   | 1.4      | —        | 53.7   | 1.4      |
| —       | 49.3   | 3.0      | 17       | 52.2   | 0.1      |
| —       | 49.7   | 2.6      | 19       | 53.3   | 1.0      |
| 10      | 50.9   | 1.4      | —        | 52.8   | 0.5      |
| —       | 53.4   | 1.1      | 21       | 53     | 0.7      |
| 12      | 53.3   | 1.0      | —        | 53.6   | 1.3      |
| —       | 51.8   | 0.5      | —        | 53.2   | 0.9      |
| —       | 53     | 0.7      | 23       | 52.2   | 0.1      |
| 14      | 50.9   | 1.4      | —        | 52.7   | 0.6      |
| —       | 54.2   | 1.9      |          |        |          |

Gemiddelde van de breedte van het spectrum  $1097.6 : 21 = 52.3$ . De gemiddelde deviatie bedraagt 1.34, voor een gemiddelde van 52.

Het gemiddelde van de dagen loopt van 50.2 tot 53.3.

Het gemiddelde van 24-tallen loopt van 49.3 tot 54.2.

Het gemiddelde van 4-tallen loopt van 46.6 tot 55.75.

Het gemiddelde van enkele metingen loopt van

54.5 tot 59.0.

Voor 90 % zekerheid bedraagt de middelbare fout  $1.64 \times 1.34 = 2.33$ .

De grenzen lopen daarbij van 50 tot 54.6.

Samenvattend kan worden vastgesteld, dat de volgende schommelingen bestaan:

Door verandering van vaag tot brillant licht 9 %;

Door valsche belichting 3—5 %;

Door wijziging in de individueele gevoeligheid 6 %;

Bij 24-tallen metingen 4 %; d.i.

$0.1 \mu$  bij kleine,  $0.25 \mu$  bij middelbare en  $0.35 \mu$  bij groote erythrocyten.

## § 22. Bepaling van de constante.

Zoals reeds werd medegedeeld veranderde P i j p e r de constante 2 voor het tweede spectrum in 1.7, zonder nadere gegevens over het verkrijgen van dit laatste cijfer te ver-

strekken. Ik heb getracht uit verschillende waarnemingen zelf tot een vaststelling van de constante te komen.

Voor het bepalen van den factor welke in de omrekeningsformule moet worden gebruikt, is het noodzakelijk met behulp van andere methoden een of meer preparaten nauwkeurig te meten. Ik heb hiertoe ten eerste de methode van Price-Jones beproefd en de methode Ponder. Na een onderzoek met den oculairschroefmicrometer van Zeiss heb ik aan dit instrument de voorkeur gegeven. Door ijking met een objectmicrometer bleken de schaaldeelen in combinatie met een Busch  $F = 0.85/60$ ,  $0.145 \mu$  te bedragen.

De persoonlijke gevoeligheid speelt bij de methode geen of een te verwaarlozen rol, aangezien wit licht wordt gebruikt. Ik heb de nauwkeurigheid, waarmee de cellen worden gemeten, bepaald door dezelfde preparaten na verloop van korteren of langeren tijd met den oculairmicrometer te onderzoeken.

Als voorbeeld geef ik de uitkomsten bij 3 preparaten, welke met een tijdsverloop van 6 en 12 maanden werden verkregen.

|               |                     |              |                          |
|---------------|---------------------|--------------|--------------------------|
| Preparaat 1:  | gemiddelde diameter | 7.91 $\mu$ ; | na 6 maanden 7.84 $\mu$  |
| Preparaat 12: | "                   | 8.88 $\mu$ ; | na 12 maanden 8.96 $\mu$ |
| Preparaat 47: | "                   | 6.48 $\mu$ ; | na 12 maanden 6.47 $\mu$ |

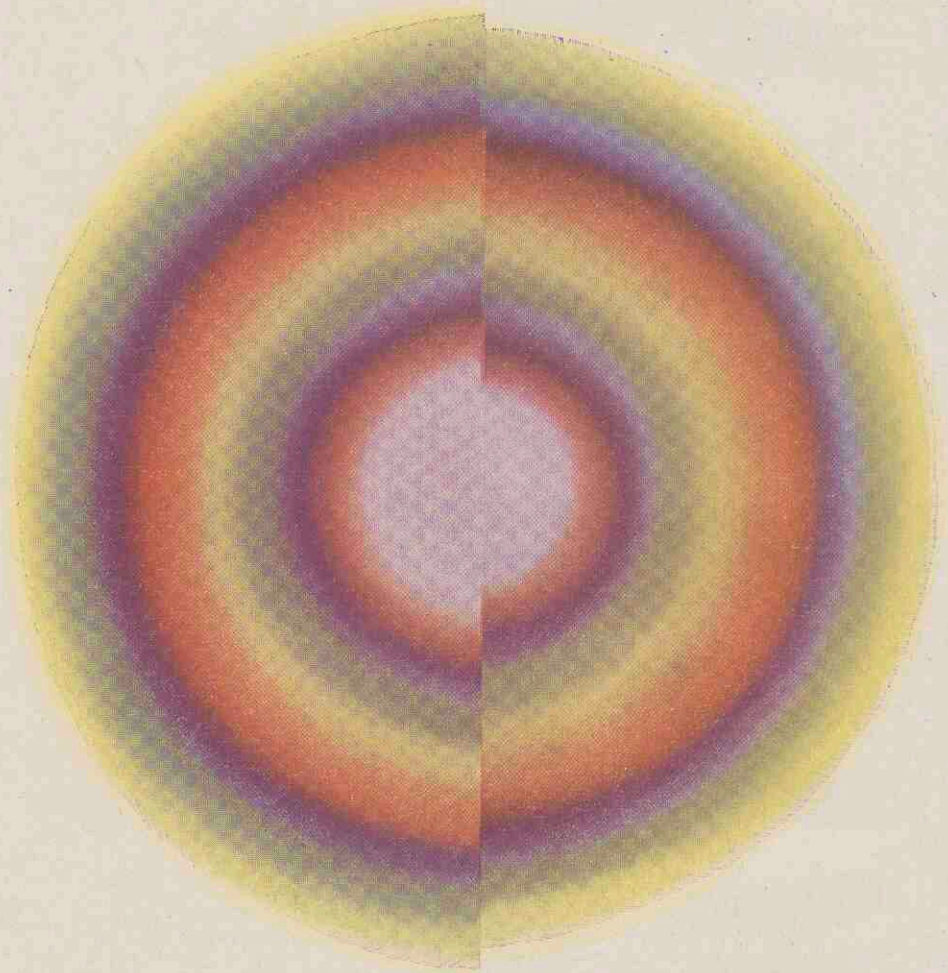
Zoals uit de tabel blijkt, bedragen met het Zeiss-apparaat, dat iets grover is dan het door Wichmann en Schürmeyer gebruikte, de verschillen niet meer dan 1% en wel hoogstens  $0.08 \mu$ .

Ik acht de resultaten hiermede verkregen voldoende betrouwbaar om er de uitkomsten van de diffractiemethode mede te mogen vergelijken. Uit de getallen door de beide methodes verkregen, kan met de formule  $d = \frac{n\lambda}{r} \sqrt{r^2 + r'^2}$ , de  $n$  voor kleuren van de tweede orde berekend worden.

| Preparaat              | Straal geel | Oculairschroefmicrometer in $\mu$ | en berekend uit r.d.f. |
|------------------------|-------------|-----------------------------------|------------------------|
| Mensch 1               | 58.8        | 7.88                              | 1.94 (1.939)           |
| Mensch 2<br>(Anaemie)  | 49.7        | 8.92                              | 1.86 (1.864)           |
| Mensch 11<br>(Anaemie) | 53.3        | 8.39                              | 1.88 (1.878)           |
| Paard 55               | 72.9        | 6.28                              | 1.91 (1.905)           |



PLAAT V  
Vergelijking van verschillende bloedsoorten.



Vergelijking van twee halve diffractiebeelden van een normaal -  
bloedpreparaat en een macrocytisch bloedpreparaat (rechts).

Voor de gebruikte opstelling en de eigen gevoeligheid van den waarnemer kan bij dit onderzoek de factor  $n$  op 1.9 gesteld worden.

Deze waarde stemt goed overeen met de uitkomst bij preparaat 55, waarbij juist het aantal van 500 metingen een waarborg is voor de groote nauwkeurigheid. Het spreekt dat een andere onderzoeker met bijv. iets kleinere gevoeligheid voor rood, andere, kleinere uitkomsten zal verkrijgen. Hij dient dus bij eventueel gebruik van deze werkwijze voor het meten van de absolute grootte der erythrocyten eerst voor zich zelf vast te stellen, hoe de factor in zijn geval moet worden gewijzigd.

### § 23. *Waarneembaarheid van kleine verschillen.*

Een opstelling van den toestel met twee openingen in het diafragma voor de lens en een zwart tusschenschot in de optische as (vgl. afb. 2), gaf mij de gelegenheid, op een eenvoudige wijze te bepalen welke verschillen met behulp van de vergelijkende diffractiemethode nog kunnen worden waargenomen. Ik heb daartoe een zestal preparaten van een bepaalde bloedsoort herhaalde malen naar de grootte van de stralen gerangschikt. Hierbij werden de merken van de preparaten tijdelijk onzichtbaar gemaakt. Bij meerdere herhalingen treden geen verschillen in de oorspronkelijk bepaalde volgorde op. Het grootste verschil, nl. dat tusschen de kleinste en de grootste stralen, wordt nu zorgvuldig gemeten. Het blijkt 3 mm te bedragen (vgl. plaat V).

De opeenvolgende verschillen tusschen de spectra van de 6 preparaten liggen dus om en bij de 0.6 mm.

Een volgende groep van 7 in grootte verschillende preparaten werd regelmatig in een bepaalde volgorde gerangschikt, waarvan de verschillen tusschen de uitersten 3.5 mm bleken te bedragen. Hierbij bedragen de onderlinge verschillen der spectra dus eveneens ongeveer 0.6 mm.

Het blijkt dus mogelijk te zijn met behulp van de vergelijkende diffractiemethode, verschillen tusschen spectra vast te leggen, welke kleiner zijn dan 1 mm (bij de proeven 0.6 mm).



Deze opgemerkte verschillen komen volgens de theorie van Pijper overeen met kleine verschillen in de gemiddelde grootte van de erythrocyten. De op deze manier bepaalde verschillen in den  $d_E$  bedragen:

|  |         |
|--|---------|
| bij het bloed van mensch, hond en kat, (gem. grootte 7.5 $\mu$ ) | 0.12 mm |
| bij het bloed van paard en rund (gem. grootte 6.0 $\mu$ )        | 0.08 mm |
| bij het bloed van geit en schaap (gem. grootte 4.0 $\mu$ )       | 0.04 mm |

In de begrenzing van het violet en het rood zijn kleine afwijkingen van dezelfde grootteorde op even gemakkelijke wijze te bepalen.

Toe- en afname van de anisocytose zouden evenzeer als toe- en afname van de gemiddelde grootte, zij het dan alleen ten opzichte van belangrijkheid en richting, behoorlijk afgelezen kunnen worden.

Bij vergelijking van deze proefopstelling met den Blutzellenprüfer van Zeiss-Pijper blijkt met de laatste niet een dergelijk klein verschil met zekerheid te kunnen worden waargenomen. Bij den eigen toestel is dan ook voor elke waarneming een zorg aan de juiste instelling van de lichtbron en het verloop van de stralen volgens de optische as van het apparaat besteed, welke bij het eenvoudige handelsapparaat niet mogelijk is.

Wanneer van het bloed van één dier meerdere preparaten onmiddellijk na elkander worden vervaardigd en microscopisch gecontroleerd op den ronden vorm van de erythrocyten, kunnen deze aan een vergelijkend onderzoek worden onderworpen. Bij de meting van deze preparaten valt een zekere schommeling op. De grootte hiervan valt in belangrijke mate buiten de in den aanvang vermelde, aan de apparatuur inherente schommeling tot 6%. De verschillen blijken te varieren tusschen 1.5 en 9%, bij onmiddellijk op elkander volgende metingen. Een overzicht van de uiteenlopende waarden door meting van preparaten van een bloedhoeveelheid van één dier verkregen, volgt hieronder.

| Preparaat van | Gemiddelde kleinste straal spectrum | van het geel grootste spectrum | Aantal metingen |
|---------------|-------------------------------------|--------------------------------|-----------------|
| rat           | 60.8                                | 65.4                           | 8               |
| rat           | 60.25                               | 62.6                           | 4               |
| paard         | 70.75                               | 71.75                          | 4               |
| paard *       | 65.5                                | 71.6                           | 8               |
| paard         | 69.25                               | 73.1                           | 16              |
| konijn        | 54.75                               | 56.5                           | 16              |
| mensch        | 52.9                                | 54.2                           | 24              |

De preparaten met de sterk uiteenloopende waarden van paard \* heb ik met den oculairschroefmicrometer onderzocht. De gemiddelde waarden van de afmetingen van 300 cellen van elk der preparaten bedragen 6.21 en 6.49. Hierbij is het verschil eveneens aanmerkelijk. Bij het onderzoek van een bepaald individu kunnen wij dus niet volstaan met de meting van één preparaat maar dienen enkele uitstrijkjes te worden onderzocht.

#### § 24. Niet-ronde bloedcellen.

Zoowel met de enkelvoudige als met de vergelijkende diffractiemethode kunnen verschillen in de gemiddelde grootte van 2 bloedpreparaten worden waargenomen. Het is daarnaast ook mogelijk gebleken, verschillen in de afmetingen van één preparaat waar te nemen indien wij te maken hebben met cellen welke geen ronden vorm bezitten. H u b a c e k deelt mede, dat al zijn pogingen om uitstrijkjes van dergelijk bloed, nl. vogelboed, met de diffractiemethode te onderzoeken, zijn mislukt. Vogelbloedcellen hebben, zooals bekend is, een elliptischen vorm. H u b a c e k meent, dat bij deze diersoorten wegens den anderen aard van den erythrocyt een groottebepaling met den erythrocytometer niet mogelijk is.

Ik ben er bij mijn onderzoek in geslaagd druppels vogelbloed dusdanig uit te strijken, dat praktisch alle cellen met de lange assen der ellipsen in één richting zijn gerangschikt. V o n D o m a r u s wees reeds in 1925 op de mogelijkheid, kunstmatige poikilocytose te herkennen, doordat de lengteas van alle poikilocyten in gelijke richting loopt, en wel eene die

overeenkomt met de bewegingsrichting van de bij het vervaardigen van het preparaat van elkander getrokken dekglasjes.

Hierdoor heb ik een soort buigingsrooster gekregen, dat niet gelijk bij ronde erythrocyten in alle richtingen als een spleet van denzelfden aard werkt, maar dat in twee loodrecht op elkander staande richtingen in hoofdzaak met een nauwe en een wijde spleet overeenstemt. Het gevolg daarvan is, dat bij het onderzoeken van een dergelijk uitstrijkje met den erythrocytometer een spectrum ontstaat, dat in twee richtingen hoofdzakelijk een groote en een kleine afmeting bezit, dus een elliptischen vorm heeft (vgl. plaat VI). De kleine as van de kleur stemt overeen met de groote as van de cellen, loodrecht op beide staat de lange as van de kleur, welke overeenkomt met de korte as van de bloedcellen. Terugrekenend uit de afmetingen van het geel van het tweede spectrum kom ik tot de volgende afmetingen voor de gebruikte duivenbloedcellen:

14  $\mu$  bij 8  $\mu$

16  $\mu$  bij 7.8  $\mu$

Zoals in § 30 nader zal worden beschreven, is deze verklaring volgens de theorie Pijper echter niet als geheel steekhoudend te betrachten, hoewel dit aan de mogelijkheid tot meten dezer elliptische cellen géén afbreuk doet.

#### § 25. Voorwaarden aan het preparaat te stellen.

Bij de toepassing van de diffractie-methode dient op het volgende te worden gelet. Een spectrum ontstaat door het gebruik van samengesteld licht en een buigingsrooster. Het spectrum blijkt des te fraaiër, wanneer het rooster symmetrisch is opgebouwd. Uit de proef met de vogelbloedcellen is gebleken, dat bepaalde eigenschappen van het rooster volledig in de eigenschappen van de kleurbanden terug te vinden zijn. Ik heb eveneens reeds vermeld, dat de helderheid van het spectrum toeneemt bij vergroting van het aantal medewerkende cellen. Uit een en ander volgt, dat lichaampjes van

gecompliceerden vorm eveneens in staat zullen zijn een bepaald helder spectrum te ontwerpen, indien zij aan twee voorwaarden voldoen. Ten eerste moeten zij in bepaalde richtingen een overeenstemmenden vorm bezitten. Ten tweede dienen deze overeenkomstige eigenschappen in voldoende mate en wel regelmatig in het geheele werkzame deel van het preparaat aanwezig te zijn.

Aan bovengenoemde voorwaarden voldoet behalve een preparaat met gave ronde cellen, ook een uitstrijkje met moerbeivormige bloedcellen, ook wel doornappelcellen, welke door onjuiste vervaardiging van de preparaten kunnen ontstaan. Deze afwijkende celvormen vertoonen een regelmatig onregelmatige vorm. Zij blijken een rond spectrum te geven, hetgeen op grond van de eerder genoemde beginselen begrijpelijk is.

Ik heb de grootte van het spectrum door moerbeivormige cellen veroorzaakt, met de grootte van het spectrum van ronde cellen van eenzelfde dier afkomstig, vergeleken. Na omrekening in  $\mu$  blijken b.v. bij rattenbloedpreparaten 35 en 39 de volgende maten te bestaan:

|           | Deel met<br>ronde cellen, | deel met<br>moerbeivormige cellen. |
|-----------|---------------------------|------------------------------------|
| Prep. 35: | 6.9 $\mu$                 | 6.6 $\mu$                          |
| Prep. 39: | 6.7 $\mu$                 | 6.2 $\mu$                          |

Hierbij valt op, dat de diameter bij de veranderde erythrocyten aanmerkelijk is afgenomen. Dit stemt overeen met het spraakgebruik waarbij zulke cellen „geschrompelde cellen” worden genoemd.

Bij het vergelijken van de deelen met moerbeivormige cellen en ronde cellen, is het volgende opgevallen. De eene maal blijkt een deel met gave cellen de brillantste kleuren te geven, een ander maal het deel met misvormde cellen. Zoo-  
wel P o n d e r als P i j p e r geven aan, dat het microscopisch sorteeren van de uitstrijkjes, dat wil zeggen het uitzoeken van gedeelten met mooie ronde cellen, kan worden vermeden

door die gedeelten op het diafragma van het diffractieapparaat te schuiven, welke het helderste spectrum geven. Uit mijn vergelijkende proeven blijkt, dat misvormde cellen in bepaalde omstandigheden een fraaier kleurverschijnsel geven, dan gave cellen. Aan den eisch tot het werken met gave cellen moet worden voldaan. De preparaten dienen dus te voren microscopisch te worden gecontroleerd, omdat slechts daardoor onderling vergelijkbare resultaten kunnen worden verkregen. Kirk, Bock en Lepel wijzen er op, dat een plek moet worden gezocht met ronde cellen, die zoo gesloten liggen, dat aldaar het gezichtsveld voor minstens een vijfde gedeelte door erythrocyten wordt ingenomen. Merkwwaardigwijze geeft Kirk aan, dat het onmiddellijk naast den oorspronkelijken druppel gelegen gedeelte aan de voorwaarden voldoet en dat slechts uiterst zelden het dunne einde de voorkeur verdient. Dit is echter in strijd met eigen en anderer waarnemingen. Het is juist de „Seidenfläche“ waar de gave cellen mannetje aan mannetje liggen, zoodat daarvoor de reeds aangehaalde uitspraak van Van Walssem betreffende de „friderizianische Grenadiere“ van toepassing is.

Het is immers noodzakelijk te werken met preparaten welke evensterk verzadigde kleuren geven, dat wil zeggen, welke ongeveer gelijke aantallen cellen per oppervlakte-eenheid bezitten. Het ware te omslachtig hiervoor cijfers te geven. Men kan volstaan met het uitzoeken van die plaatsen, waar de cellen ten naaste bij tegen elkander liggen, zoodat het veld goed gevuld lijkt.

Om zeer regelmatige preparaten te verkrijgen, beveelt Van Walssem zijn centrifugeermethode voor het uitstrijken en drogen van den bloeddruppel aan. Deze steekt echter naast de resultaten welke men met vaste hand bij lege artis uitstrijken verkrijgt, niet gunstig af.

Het verdient aanbeveling tijdens de contrôle van het preparaat bij niet te sterke vergrooting, met een potloodstreep de scheiding tusschen het gave en dikkere gedeelte aan te geven, en in het bijzonder, om een plek met ronde cellen, met de grootste dichtheid van ongeveer 9 mm doorsnede, met een kring te merken.

§ 26. *Kunstmatige anisocytose.*

De theorie van Pijper legt een verband tusschen de breedte van een stel kleuren en de spreiding van den E.D. Inderdaad heeft de anisocytose invloed op het diffractieverschijnsel. Bij rattenbloed, met zijn naar verhouding geringe anisocytose ontstaan zeer brillante kleuren.

Uit de theorie volgt, dat de gelijkvormigheid van de lichaampjes grootere verzadiging van de kleuren teweegbrengt. Ik onderwierp dit aan een drietal proeven, n.l.:

1. het vergelijken van de kleuren van een enkelvoudige hoeveelheid cellen met die van een dubbele hoeveelheid lichaampjes;
2. het over elkander werpen van twee stel kleuren door gebruik van twee preparaten welke op de twee openingen in het apparaat, echter zonder tusschenschot, worden gelegd;
3. het mengen van erythrocyten van dieren met verschil van gemiddelden diameter.

Uit de eerste proef blijkt, hetgeen reeds verwacht werd, dat het aanvankelijke zwakke spectrum wordt versterkt.

Bij de tweede proef ontstaat uit de beide heldere spectra een zeer vaag, nauwelijks in afzonderlijke kleuren te scheiden buigingsverschijnsel.

Hieruit kan reeds worden besloten, dat de spreiding in de maat der cellen in de verzadiging van de spectra tot uiting komt. De derde proef echter geeft nader inzicht in het onderstelde verband tusschen grootte en maat, anisocytose en verzadiging.

Door het mengen wordt de anisocytose ook tot het midden-gedeelte van de binomiale verdeeling, waar de meeste bloedlichaampjes een ten naaste bij met het gemiddelde overeenstemmende doorsnede hebben, uitgebreid.

Op de eerste plaats werden uitgecentrifugeerde cellen van rat en kat gemengd. Het spectrum van de rattenbloedcellen alleen had in het geel een straal van 61 mm. De straal van het geel in het kattenbloedspectrum was 68 mm. Het resulterende geel vertoonde een halve middellijn van 61 mm. Bij het

mengen van rattenbloedlichaampjes met paardenerythrocyten wordt de straal van het geel bij het mengsel 65, terwijl de oorspronkelijke stralen resp. 63.5 en 69.5 mm bedroegen.

Een overzicht van enkele mengproeven volgt hieronder<sup>1)</sup>.

| Preparaat van: | Straal Violet | Straal Geel | Straal Rood | Breedte |
|----------------|---------------|-------------|-------------|---------|
| Rat            | 31            | 61          | 82          | 51      |
| Mengsel        | 30            | 61          | 81          | 46      |
| Kat            | 35            | 68          | 92          | 62      |
| Paard I        | 40            | 70          | 90.5        | 50.5    |
| Mengsel        | 41            | 69          | 90.5        | 49.5    |
| Paard II       | 42            | 69          | 90          | 48.5    |
| Paard          | 32            | 56          | 72.5        | 40      |
| Mengsel        | 29.5          | 52          | 66.5        | 35      |
| Hond           | 27            | 46          | 60          | 33      |

Hierbij blijken de afmetingen van de cellen van het rattenbloed met de bijbehorende kleuren een overwegenden invloed te hebben. Bij het mengen van het bloed van de paarden I en II zoowel als van paard en hond hebben de stralen van de resulterende spectra afmetingen welke ongeveer het midden houden tusschen die van de afzonderlijke kleuren.

Verwacht kon worden dat de breedte van de spectra der mengsels de volgende afmetingen had:

|                |                |                    |
|----------------|----------------|--------------------|
| Rat + Kat      | Paard I + II   | Paard + Hond       |
| $31 - 92 = 61$ | $40 - 90 = 50$ | $27 - 72.5 = 45.5$ |

Het is echter duidelijk dat de kleuren van naast lagere en naast hogere orde het verschijnsel storen, doordat zij deels over de andere vallen.

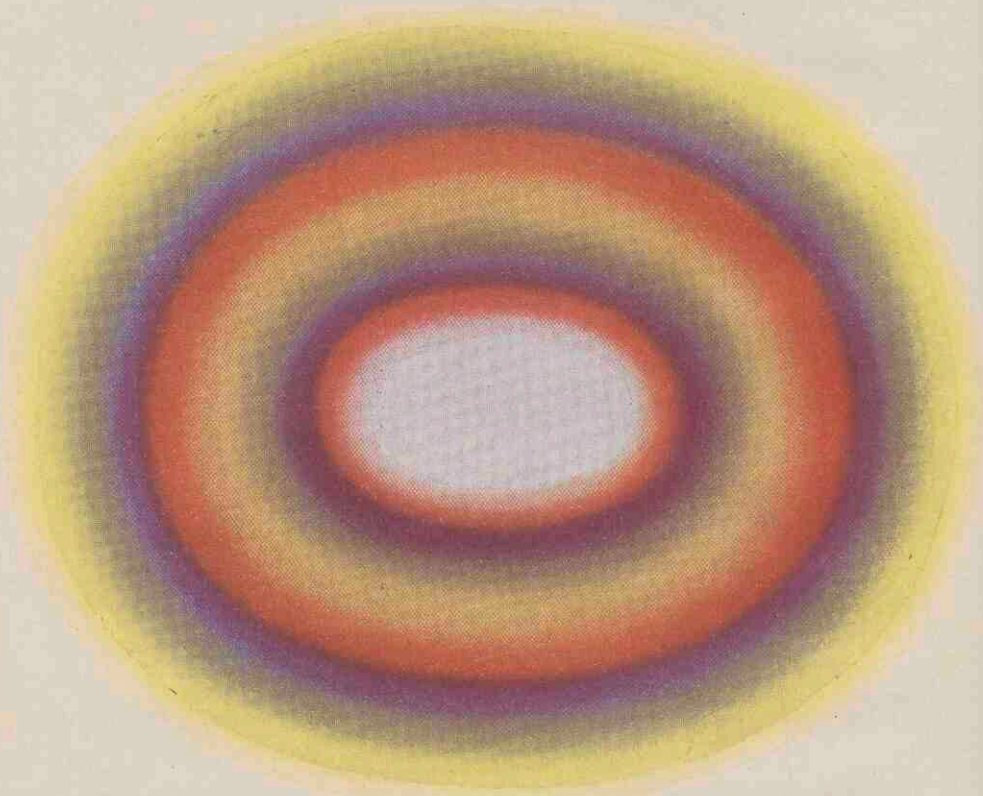
Het mengen van rattenbloed met zeer kleine bloedlichaampjes, welke b.v. bij de geit voorkomen, heeft geen bruikbaar gevolg. De afmetingen van de oorspronkelijke spectra loopen zoo zeer uiteen, dat een zeer flauw beeld ontstaat, waarin met eenige moeite iets van de kleuren overeenkomende met die door rattenbloedcellen en door geitebloedcellen afzonderlijk, kunnen worden gezien.

1) Deze metingen geschieden op een lateren datum met het voor klinische doeleinden verbouwde apparaat dat een kleineren brandpuntsafstand bezit.





PLAAT VI  
Interferentiekleuren bij elliptocyten.



Bij elliptischen vorm van het buigende voorwerp (een vogelbloedpreparaat)  
elliptisch gevormde spectra.  
Lange as rooster: korte as kleuren.  
Korte as rooster: lange as kleuren.

De resultaten van deze proeven zijn geen ondersteuning van de theorie van Pijper, dat de gemiddelde doorsnede van een groep kleinste en die van een groep grootste cellen uit de breedte van de spectra, resp. uit de stralen van het binnenste violet en het buitenste rood, zouden kunnen worden afgelezen.

§ 27. *Meting van de kleine en de groote cellen.*

Ten einde een indruk te krijgen van de door Pijper aangegeven waarde van het binnenste violet en het buitenste rood voor de afmetingen van „aanmerkelijke hoeveelheden” groote en kleine cellen, heb ik in verschillende preparaten met de oculairschroefmicrometer de grootste en de kleinste cellen afzonderlijk gemeten. De uitkomsten hiervan werden met de maten, berekend uit de spectra, vergeleken. De doorsneden volgens de oculairschroefmicrometing zijn volgens oplopende waarden in de onderstaande tabel gerangschikt. Daarachter wordt de straal van de kleur en de berekende waarde van de gemiddelde doorsnede der bijbehorende „aanmerkelijke hoeveelheid” lichaampjes aangegeven. Uit de gegevens is telkenmale de factor  $n$  berekend en in de laatste kolom vermeld.

Kleine cellen:

| Preparaat    | $d_E$<br>ocul. m. met.<br>in $\mu$ | r rood<br>in mm | $d_E$ berekend uit<br>r met $n = 1.7$<br>in $\mu$ | $n$ berekend uit<br>$d_E$ en r. |
|--------------|------------------------------------|-----------------|---|---------------------------------|
| Rat 17       | 4.37                               | 81.5            | 5.96  | 1.25                            |
| Paard 55     | 4.64                               | 94.5            | 5.18  | 1.52                            |
| Konijn 35 I  | 5.95                               | 75.8            | 6.40  | 1.58                            |
| Konijn 35 II | 6.09                               | 79.6            | 6.10  | 1.7                             |
| Mensch 1     | 6.09                               | 77.4            | 6.25  | 1.7                             |
| Mensch 2     | 6.96                               | 66              | 7.31  | 1.62                            |
| Mensch 11    | 6.96                               | 70              | 6.90  | 1.72                            |

Groote cellen:

| Preparaat    | $d_E$<br>ocul. m. met.<br>in $\mu$ | r rood<br>in mm | $d_E$ berekend uit<br>r met $n = 1.7$<br>in $\mu$ | $n$ berekend uit<br>$d_E$ en r. |
|--------------|------------------------------------|-----------------|---|---------------------------------|
| Rat 17       | 7.89                               | 31.5            | 8.66  | 1.55                            |
| Paard 55     | 8.27                               | 42.6            | 6.43  | 2.19                            |
| Konijn 35 II | 8.70                               | 32.4            | 8.41  | 1.76                            |
| Konijn 35 I  | 9.14                               | 32.4            | 8.41  | 1.85                            |
| Mensch 1     | 9.43                               | 33.4            | 8.16  | 1.97                            |
| Mensch 11    | 9.57                               | 31.8            | 8.60  | 1.89                            |
| Mensch 2     | 10.44                              | 29.2            | 9.4   | 1.89                            |

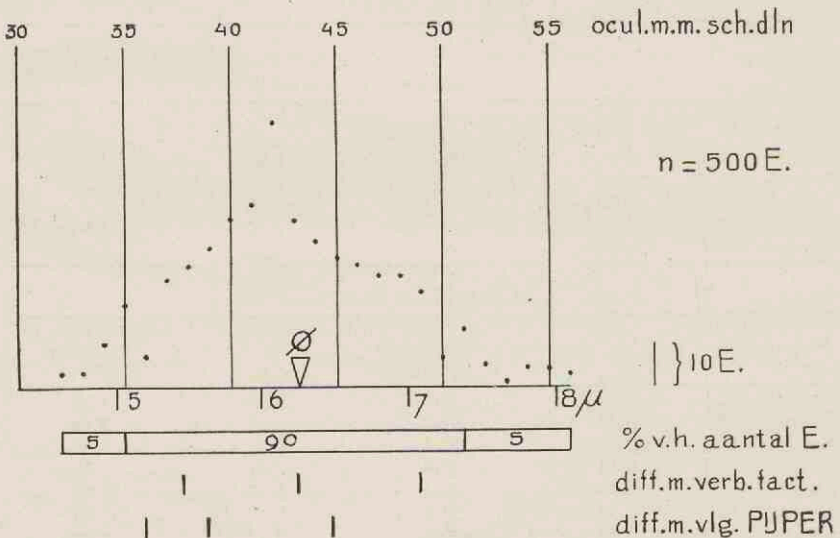
Uit de cijfers in de vijfde kolom blijkt, dat de grenzen van de spreiding, dus van de kleinste tot de grootste cellen, niet met een halometrische of diffractie-methode, ook niet na correctie van den factor  $n$ , zijn te bepalen. De  $n$  toch loopt uiteen van 1.25 tot 1.72 voor de kleine cellen en op onregelmatige wijze, van 1.55 tot 2.19 voor de groote cellen.

Kiest men nu een grens bij 90% van de cellen, dan vindt men voor de groote cellen:

| Preparaat      | $d_E$<br>ocul. m. met.<br>in $\mu$ | $r$ violet<br>in mm | $d_E$ berekend uit<br>$r$ met $n = 1.7$<br>in $\mu$ | $n$ berekend uit<br>$d_E$ en $r$ . |
|----------------|------------------------------------|---------------------|---|------------------------------------|
| Mensch 1       | 8.70                               | 33.4                | 8.16  | 1.8                                |
| Mensch 2       | 9.96                               | 29.2                | 9.4   | 1.77                               |
| Mensch 11      | 9.28                               | 31.75               | 8.6   | 1.85                               |
| en<br>Paard 55 | 7.45                               | 42.6                | 6.43  | 1.97                               |

Hierbij wordt voor de preparaten van menschenbloed een eenigermate overeenstemmende  $n$  gevonden. Bij preparaat 55 valt echter de  $n$  zoowel voor de groote, als ook voor kleine cellen geheel anders uit.

Afb. 8. Vergelijking der Price-Jones-meting met de diffractie.



Berekeningen welke worden uitgevoerd ten opzichte van de kleuren door bloedpreparaten van andere dieren geworpen, geven eveneens zeer uiteenlopende waarden. Zou men voor metingen bij menschenbloedpreparaten de factoren 1.9 voor het geel, en 1.8 voor het rood en het violet kunnen kiezen, bij het in grootte uitlopende dierenbloed bestaat deze mogelijkheid niet.

Bij het leggen van de grens bij 80% van het aantal bloedlichaampjes kon evenmin een onderlinge overeenstemming bereikt worden. Bij het onderzoek van dierenbloed zal men zich bij de diffractiemethode dus moeten beperken tot het waarnemen van de gemiddelde grootte met behulp van de straal van het geel.

Nauwer dan 80% kan de grens niet gelegd worden. Dan komt men reeds bij de groote groep erythrocyten van ongeveer gemiddelde doorsnede terecht. Daarbij zou men vrijwel een groep bloedlichaampjes onderzoeken, welke ongeveer gelijke grootte hebben, zooals dit van nature bijna in de bloedpreparaten van de rat het geval is. Juist bij deze valt de buitengewone helderheid van het spectrum op.

De opvatting is gewettigd, dat sterkere anisocytose een afnemen van de verzadiging der kleuren tengevolge heeft, met als overtreffende trap de zeer flauwe spectra welke met een uitstrijkje van bloed met vele poikilocyten ontstaan.

De normale anisocytose wordt als een isocytose beschouwd. Dat wil zeggen dat de beide beenen van de binomiale verdeelingskromme gelijk zijn. P i j p e r neemt daarom voor de factoren voor het rood en het violet een gelijk getal, n.l. 1.7.

Een onderzoek van enkele preparaten levert de volgende cijfers:

| Preparaat |    | Breedte binnen het geel<br>in mm | Geel<br>in mm | buiten het geel<br>in mm |
|-----------|----|----------------------------------|---------------|--------------------------|
| Mensch    | 1  | 25.5                             | 58.8          | 21                       |
| Mensch    | 2  | 20.5                             | 49.7          | 16                       |
| Mensch    | 11 | 21                               | 53.3          | 17                       |
| Rat       | 17 | 33                               | 63.3          | 23                       |
| Paard     | 55 | 30                               | 72.9          | 21.5                     |

De waarden voor de breedte binnen het geel zijn alle groo-

ter, dan die voor de breedte buiten het geel. Hieruit volgt, dat voor het rood en het violet verschillende factoren berekend moeten worden. De gevoeligheid voor kleuren en dientengevolge het aanstrepen van deze kleuren of juist gezegd van hun uiterste grenzen, is veel meer dan met geel het geval is, aan subjectieve invloeden onderhevig.

De cijfers uit eigen metingen verkregen stemmen evenmin met de opvatting van P i j p e r overeen.

| Preparaat |    | Vershil kleine cellen<br>en gemiddelde | Gemiddelde<br>diameter | Vershil groote<br>cellen en gemid-<br>delde |
|-----------|----|--|------------------------|---|
|           |    | in $\mu$                               | in $\mu$               | in $\mu$                                    |
| Mensch    | 1  | 1.3                                    | 7.7                    | 0.6   |
| Mensch    | 2  | 1.3                                    | 9.1                    | 0.8   |
| Mensch    | 11 | 1.1                                    | 8.5                    | 0.3   |
| Rat       | 17 | 0.9                                    | 7.2                    | 0.7   |
| Paard     | 55 | 0.8                                    | 6.3                    | 0.4   |

Dit wettigt eveneens de conclusie, dat voor rood en violet, of wel voor kleine en groote cellen een afzonderlijke factor diende te worden gekozen. Overigens zouden deze ook berekend kunnen worden uit de vergelijking met oculairschroefmicrometingen. Aangezien wij niet weten waar de grens van „aanmerkelijke hoeveelheden“, waarvan in P i j p e r's theorie van het verschijnsel sprake is, ligt en probeeren met 90, 80 en 70 % der cellen geen enkele overeenkomst toont, blijkt wederom de onmogelijkheid een verband tusschen de breedte van het spectrum en de spreiding der cellen te leggen.

Slechts voor menschenbloed werd een overeenkomst gevonden bij het leggen van de grens bij 90 %, zoodat daarbij een factor voor violet van 1.87 en voor rood van 1.8 bruikbaar zou zijn.

#### § 28. *Ontwikkeling van een apparaat voor klinische waarneming van den gemiddelden diameter.*

Voor de beoordeeling van het verloop van een ziekte bij den mensch wordt in de kliniek gewoonlijk niet de absolute grootte van de cellen van belang geacht, maar wel de richting

van de verandering in den gemiddelden diameter. Wanneer dit het geval is, kan de opstelling van een apparaat met twee openingen en een tusschenschot, in de kliniek van waarde zijn. Door het gebruik van deze z.g. vergelijkende methode kan van dag tot dag een nieuw preparaat van het bloed van een patient met een vorig of met het eerste worden vergeleken. Met de hiervoor door Zeiss ter beschikking gestelde Blutzellenprüfer volgens P i j p e r bleken echter meermalen verschillen van 4% bij eenzelfde preparaat op te treden.

De methode met opvallend licht, waarbij de metingen door aantekening worden vastgehouden steekt hiertegen niet ongunstig af. Duidelijk is hiermede het verschil tusschen paarden- en runderbloed waar te nemen. Opvallender verschil bestaat er tusschen het bloed van hond en konijn eenerzijds en schaaap en geit anderzijds. Eerste hebben de grootste gemiddelden, laatste de kleinste, met resp. de kleinste en de grootste afmetingen in de kleuren.

Als uiterste waarden werden in het experiment de diameter in olifantenbloed, n.l.  $9.2 \mu$  en die in geitenbloed t.w.  $3.6 \mu$  vastgesteld.

Een apparaat voor klinische toepassing dient voor het meten van deze uiterste waarden ruimschoots geschikt te zijn, aangezien bij afwijkingen in den gemiddelden diameter bij de genoemde dieren, de hoogste en de kleinste maat nog iets boven en beneden  $9.2$  en  $3.6 \mu$  komen te liggen.

Gedurende het onderzoek werd geleidelijk een toestel samengesteld met een lichtbron van 30 Watt en een brandpuntsafstand van 25 cm. Deze toestel heeft een bodembreedte van 30 cm. hetgeen toereikend is voor de spectra door de kleinste geitenbloedcellen geworpen. Een en ander is gebouwd in een kastje zonder voorwand, waarin op den bodem een wit papier ter aantekening van de waarnemingen kan worden gelegd, echter zonder gebruik van een centraal pennetje.

De kleuren worden links en rechts van het met een zwart schijfje bedekte brandpunt op een middellijn aangeteekend, welke loodrecht op de gezichtsas van den waarnemer staat.

De helft van den afstand tusschen twee aangeteekende pun-

ten gemeten, is juist de straal der kleur, welke in een daartoe vastgestelde tabel den  $d_E$  van het onderzochte bloed aanwijst. De straal wordt hierbij reeds als een gemiddelde uit twee waarnemingen bepaald. Twee van de vier punten welke voor het waarnemen van twee stralen noodig zijn, vervallen omdat de beide stralen in elkanders verlengde gekozen zijn en twee punten mitsdien in het, overigens afgeschermd centrum liggen, op elkander vallen en niet behoeven te worden vastgesteld. Hierdoor wint de methode aanmerkelijk aan nauwkeurigheid.

Het apparaat wordt, behalve in de afbeelding 5, op plaat VIII voldoende duidelijk weergegeven. De 6 volts transformator welke de lichtbron voedt is hier buitenop gemonteerd.

Een berekening van den factor  $n$  levert voor deze opstelling de waarde 1.6.

#### § 29. *Vergelijking van de metingen volgens Bock en Pijper met de eigen methodiek.*

Met het in de vorige paragraaf beschreven apparaat werden de bloeditstrijkjes der huisdieren onderzocht. Tevens werden deze met den oculairschroefmicrometer gemeten en met de toestellen van Bock en Zeiss-Pijper op hun buigingsvermogen beoordeeld.

Nadat eenmaal uit vele preparaten het gemiddelde voor een diersoort was bepaald, werd één preparaat uitgekozen voor elk dezer diersoorten, en wel een dat overeenkomt met den bepaalden gemiddelden diameter. Een overzicht van de resultaten der metingen van deze serie preparaten met de verschillende toestellen, volgt hieronder.

De groote bloedlichaampjes van den olifant bleken met de methode Bock niet meetbaar, terwijl anderzijds met het ter beschikking zijnde apparaat Zeiss-Pijper de uitstrijkjes van kattenbloed en runderbloed onduidelijk, die van schapen- en geitenbloed niet konden worden gemeten.

Er kon geen verschil in tijd tusschen het meten van alle preparaten met den eigen toestel en dat van Bock worden vastgesteld. Wel valt een eigenaardig verschil met de apparatuur

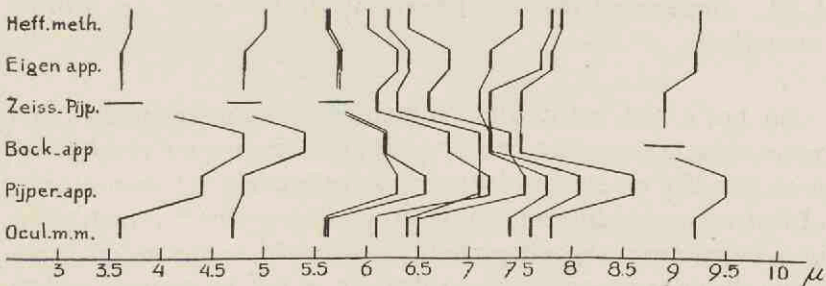
Bock op, wat de uitkomsten betreft: deze zijn bij de grootste cellen te klein, bij de kleinste cellen te groot. Door het verkleinen van de beide openingen in het apparaat van Bock kon de nauwkeurigheid niet worden verbeterd. Wel wordt door het smaller worden van de gekleurde banden de aflezing iets gemakkelijker. Deze toch zijn bij het gebruik van een breede lichtbron breed en omgekeerd bij een kleine lichtbron zelf ook smaller.

Bij den Erythrocytometer kan de aanwijzing echter op een eenvoudige manier door het overplakken van een nieuwe schaalverdeling worden verbeterd. Dit laatste zal elke onderzoeker voor zich moeten verrichten, omdat de waarneming van de kleuren immer aan subjectieve verschillen onderhevig blijft.

| Cellen van  | Ocul. m. met. | Spreiding bij verschillende individuen | Eigen app. | Erythrocytometer Bock | Blutzellen-prüfer |
|-------------|---------------|--|------------|-----------------------|-------------------|
| Olifant     | 9.2           | —.—                                    | 9.2        | onmogelijk            | 8.9               |
| Mensch      | 7.8           | 1.55                                   | 7.8        | 7.5                   | 7.5               |
| Hond        | 7.6           | 1.2                                    | 7.7        | 7.2                   | 7.2               |
| Konijn      | 7.4           | 0.85                                   | 7.2        | 7.2                   | 7.1               |
| Rat         | 6.5           | 1.15                                   | 6.8        | 7.4                   | 6.6               |
| Varken      | 6.4           | 1.05                                   | 6.4        | 7.1                   | 6.3               |
| Paard       | 6.1           | 1.3                                    | 6.3        | 6.8                   | 6.1               |
| Kat         | 5.6           | 1.45                                   | 5.7        | 6.2                   | onduidelijk       |
| Rund        | 5.6           | 1.15                                   | 5.7        | 6.2                   | onduidelijk       |
| Schaap      | 4.7           | 1.4                                    | 4.8        | 5.4                   | onmogelijk        |
| Manenschaap | 4.1           | —.—                                    | 4.2        | 5.0                   | onmogelijk        |
| Geit        | 3.6           | 1.3                                    | 3.6        | 4.8                   | onmogelijk        |

In afbeelding 14) wordt een en ander aanschouwelijk voorgesteld.

Afb. 9. Grafiek der verschillende uitkomsten.





Ter vergelijking wordt in de tabel en de afbeelding ook het bloed van den mensch opgevoerd.

Als bijzonderheid kan nog worden vermeld, dat bloed van het manenschaap, het dier met zijn geitachtig uiterlijk, met den  $d_e$  het midden houdt tusschen schaaap en geit.

De nauwkeurigheid van het eigen apparaat ( $f = 25$  cm,  $n = 1.6$ ) werd onderzocht door het meten van verschillende preparaten met tusschenpoozen van enkele dagen.

De verkregen cijfers volgen hieronder:

| Olifant: | violet | geel  | rood | Mensch:  | violet | geel | rood |
|----------|--------|-------|------|----------|--------|------|------|
|          | 17.5   | 26.5  | 34.5 |          | 19     | 31.5 | 39   |
|          | 17     | 26    | 34   |          | 19     | 32   | 38.5 |
|          | 17     | 26.5  | 34   |          | 19.5   | 31   | 40.5 |
|          | 17.5   | 26    | 33.5 |          | 19.5   | 32   | 40.5 |
|          | —      | —     | —    |          | 19.5   | 31.5 | 41   |
|          | —      | —     | —    |          | 19     | 31.5 | 40.5 |
| gemidd.: | 17.25  | 26.25 | 34   | gemidd.: | 19.3   | 31.6 | 40   |
| $\pm$    | 0.25   | 0.25  | 0.5  | $\pm$    | 0.3    | 0.6  | 1    |
| Paard:   | 24.5   | 39.75 | 52.5 | Manen-   | 39     | 59   | 76   |
|          | 24.5   | 39.75 | 25.5 | schaap:  | 39     | 57   | 76   |
|          | 25     | 40.5  | 52.5 |          | 39     | 57   | 73   |
|          | 24     | 40.5  | 52.5 |          | 39     | 56   | 74   |
|          | 24.5   | 40.75 | 52   |          | 39     | 57   | 76   |
|          | 24.5   | 40.25 | 50.5 |          | —      | —    | —    |
| gemidd.: | 24.5   | 40.4  | 52   | gemidd.: | 38.8   | 57.4 | 75   |
| $\pm$    | 0.5    | 0.65  | 1.5  | $\pm$    | 0.8    | 1.6  | 2    |

De waarneming van het geel wijkt af van 0.25 tot 1.6 mm, d.i. in den E.D.  $0.1 \mu$  terwijl deze schommelingen op het matglas van het apparaat volgens P i j p e r  $\pm 4$  mm, of wel van 0.5 tot  $0.9 \mu$  belooopen.

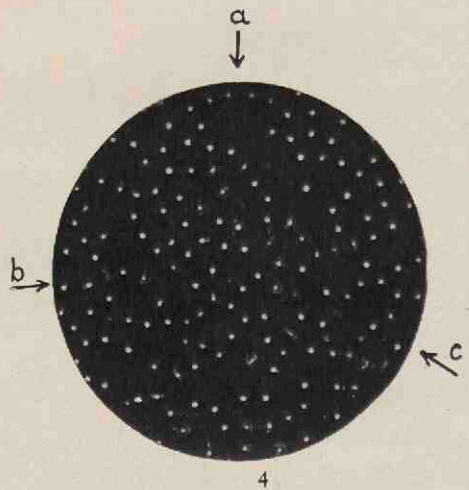
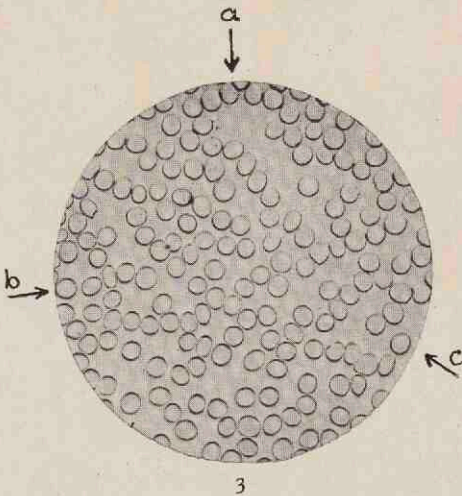
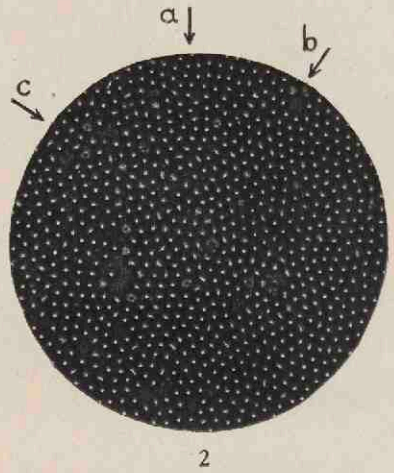
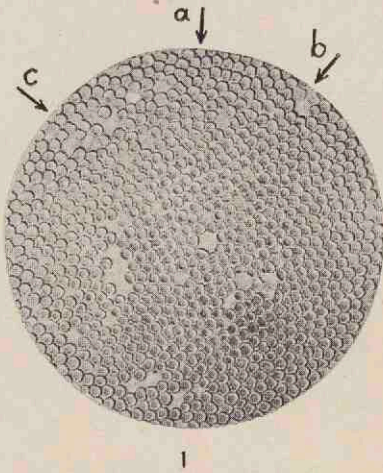
### § 30. *Onderzoek naar de physische grondslagen der diffractiemethode.*

Bij het eigen werk zijn verschillende aanwijzingen naar voren gekomen welke een grondslag vormen voor een bestrijding van P i j p e r's opvattingen, betreffende het halometrische of diffractieverschijnsel. Bij de beschrijving van de eigen proeven werd deze aangelegenheid voorloopig in het midden gelaten. In deze paragraaf moet daarom in het kort op de inzich-



PLAAT VII

Beelden van uitstrijkjes bij instelling op den omtrek en bij heffing.



Linker foto's bij instelling op den omtrek van de erythrocyten.  
 Rechter foto's bij instelling na voldoende heffing van den tubus.  
 Men vergelijke de ligging van de cellen en de lichtpunten bij a, de groote cellen bij 1b en 2b, de groote 5de cel volgens pijltjes 3b en 4b, de heldere lichtpunten boven cellen van gemiddelde grootte, op 1, 2, 3 en 4 bij c.

ten van verschillende onderzoekers ten aanzien van de fysieke grondslagen van de diffractiemethode worden ingegaan.

Bock meende met Piper dat de erythrocyten als ondoorzichtige schijfjes een in alle richtingen symmetrisch buigingsrooster vormen. Voor dit rooster gebruikte Piper als roosterconstante een waarde gelijk aan den diameter der erythrocyten.

Bergansius meende in tegenstelling tot Piper en Bock dat de erythrocyten als lichtpunten in een donker veld werken omdat elke cel als convexe lens op een afstand van  $30 \mu$  een brandpunt geeft. Wanneer de erythrocyten aaneengesloten liggen komt de afstand hunner centra, d.i. de afstand der lichtpunten, met hun diameter overeen (vgl. plaat VII, 1 en 2 bij a).

Harnapp en Möbius hebben getracht in een uitvoerig onderzoek o.a. met verfijnde fotografische methoden een beslissing ten aanzien van dit vraagstuk te geven. Wanneer de afstand der lichtpunten zoo zeggen zij, bepalend is voor de maten van het verschijnsel, moet een verdunning van de bloedcelsuspensie een aanmerkelijke verandering in de kleuren teweeg brengen. Hun bevindingen vielen negatief uit, zoodat zij zich niet bij de opvattingen van Bergansius aansluiten. Bock gebruikt den diameter als roosterconstante hoewel hij de lichaampjes als ondoorzichtige schijfjes beschouwd.

Een roosterconstante is echter gelijk aan den afstand van de rand van een opening of schijfje langs een middellijn hiervan gemeten, tot aan een overeenkomstig punt aan den rand van de volgende opening of het volgende schijfje. Bock kan daarom voor zijn apparaat niet de formule voor de buiging van het licht gebruiken maar moet zijn schaalverdeeling empirisch ijken. Ook dan nog zijn de waarden met zijn apparaat bepaald bij een afwijkende maat der cellen niet juist.

Ook Bayer en Hauer zien geen invloed der afstand.

Harnapp en Möbius verrichtten het volgende experiment om de vraag of bloedlichaampjes als ondoorzichtige schijfjes werken, te beantwoorden. Zij kleurden een preparaat met fuchsine helder rood en onderzochten het met monochro-

matisch groen licht. Hierbij verschenen de erythrocyten als zwarte schijfjes in een helder groene omgeving. Het buigingsverschijnsel door dit preparaat ontworpen, bestond uit brilante groene ringen. Zij meenen daarom te mogen vaststellen, dat de refractie der erythrocyten die de roode bloedcellen als donkere punten op een helderen ondergrond doet zien, de oorzaak is van de optische inhomogeniteit.

Om het wezen van de buigingsverschijnselen te onderzoeken fotografeerden Harnapp en Möbius deze met lichtgevoelige platen. De zwarting van deze platen werd bij het gebruik van verschillende preparaten en verschillende kleuren door hen grafisch uitgebeeld. Hierbij bleek, dat de zichtbare maxima van een kleur niet met de fotografisch vastgestelde maxima overeenstemmen. Integendeel wordt bijv. het maximum rood daar gezien waar van het centrum uit gerekend het groen reeds, eerder dan het rood, in een minimum overgaat. Ook met een spectroscop kon worden vastgesteld, dat de kleuren in het verschijnsel geen spectrale kleuren zijn, maar kleurmengsels. Het betreft dus Newtonsche ringen die door den ongelijken diameter der erythrocyten en de regelooze verdeling op het objectglas gedeeltelijk over elkander vallen.

Op grond van de overeenkomst tusschen de waargenomen verschijnselen en het buigingsbeeld van een enkel buigend lichaam, t.w. breed centrum en breede maxima, besluiten Harnapp en Möbius dat de diffractie bij het bloedpreparaat de wetten der buiging aan eenvoudige buigings-elementen volgt. Zij gebruiken daarom de formule uit de

$$\text{theoretische natuurkunde } \sin \alpha = \frac{n \lambda}{d}$$

waarin  $\alpha$  de buigingshoek,  $\lambda$  de golflengte,  $d$  den diameter en  $n$  den coëfficiënt voorstelt. Voor de eerste drie minima bedraagt de laatste 1.220, 2.233 en 3.238; voor de eerste drie maxima 1.638, 2.666 en 3.694.

Harnapp en Möbius vatten hun resultaten samen in dezen zin, dat het bloedpreparaat een buigingsooster met ronde elementen in ideale onregelmatigheid vormt, waardoor geen zuivere spectrale kleuren, maar Newtonsche kleur-

mengsels ontstaan. Het dient daarom bij microscopisch onderzoek aan strenge eischen betreffende vorm en verdeeling der cellen te voldoen. Ook dan nog is echter het maximum van een kleur geen bruikbare maatstaf voor de verdeelingskromme der erythrocytendiameters. Het minimum achten zij op grond van theoretische overweging voor de meting ten eenen male ongeschikt. Het voorstel van Pijper, zich te beperken tot een vergelijkend onderzoek van de buigingsverschijnselen van pathologisch en normaal bloed achten zij gegrond.

In mijn experimenten heb ik getracht alsnog een nader inzicht in de werking van het preparaat als buigingsrooster te verkrijgen. Uitgaande van het feit, dat de cellen als convexe of concave lenzen werken en daardoor achter of voor het preparaat een aantal op bepaalde wijze verspreide lichtpunten vormen, doet zich de vraag voor of de verdeeling der cellen geheel of gedeeltelijk een zekere regelmatigheid kan vertoonen, welke door bepaalde onderlinge afstanden op meetbare wijze kan worden gekenmerkt en ten tweede of tusschen deze afstanden en de waargenomen kleurverschijnselen een verband is te leggen.

Het dikkere gedeelte van een preparaat waar vele erythrocyten gedeeltelijk over elkander liggen, geeft een zeer groote straal van de kleuren, in het bijzonder van het rood. Bij controle der heffing van den tubus blijken boven deze bloedcellen lichtpunten te worden gevormd, die zeer dicht bij elkander gelegen zijn, hetgeen uit de onderlinge verhouding der cellen duidelijk is. Hier blijkt reeds een verband tusschen den genoemden afstand en de straal der kleuren. Vervolgens worden in de serie uitgezochte preparaten der verschillende diersoorten de onderlinge afstanden der bij heffing zichtbare lichtpunten onder het microscoop en gedeeltelijk bij 400voudige vergrooting op fotografisch materiaal gemeten (paalt VII). Deze afstanden worden vergeleken met de theoretische waarden die met behulp van het minimum van het monochromatisch licht van een natriumlampje bij de preparaten met de interferentieformule met den theoretischen factor  $n = 1.5$  werden bepaald. Uit den aard der zaak blijken de

gemiddelden der afstanden immer iets grooter dan de gemiddelde doorsnede der betreffende bloedcellen (zie plaat VII, 3 en 4). Slechts in een ideaal preparaat waar de cellen alle tegen elkander liggen is de gemiddelde afstand gelijk aan den E.D.

De opvatting van Harnapp en Möbius, dat de cellen regelloos op het objectglas zijn verspreid moet daarom worden tegengesproken. Immers hebben de cellen van ongeveer den gemiddelden diameter, die gezien de binomiale verdeling, het allergrootste aantal vormen, verreweg de meeste kans elkander juist of ten naaste bij te raken. Eenige praktische berekeningen van de verdeling der gemeten afstanden in de preparaten bevestigen deze onderstelling en wel blijken in 400 gevallen 270 en in 287 gevallen 218 maal de gemiddelde hartsafstanden voor te komen. In snel afnemend aantal volgen daarnaast de afstanden van groote en kleine cellen onderling en van groote en kleine cellen met een van gemiddelden diameter. De verzadiging der kleuren in het buigingsverschijnsel dient daarom n.m.m. ook te worden toegeschreven aan de interferentie van de lichtpunten, die door de cellen van ongeveer gemiddelden diameter worden gevormd.

Ook Bayer en Hauer namen dit niet waar.

Meting der afstanden en der doorsneden van erythrocyten, in het uitstrijkje:

| Preparaat | r min. geel<br>in mm. | in $\mu$ | micromet. met.<br>v. d. afstand<br>in $\mu$ | micromet. met.<br>doorsnede in $\mu$ |
|-----------|-----------------------|----------|---|--------------------------------------|
| Olifant   | 23                    | 9.7      | 9.6   | 9.2                                  |
| Mensch    | 26                    | 8.6      | 8.6   | 7.8                                  |
| Hond      | 28.5                  | 7.8      | 8.0   | 7.6                                  |
| Konijn    | 28.5                  | 7.8      | 7.8   | 7.4                                  |
| Rat       | 29.5                  | 7.6      | 7.4   | 6.5                                  |
| Varken    | 31.5                  | 7.1      | 6.9   | 6.4                                  |
| Paard     | 32                    | 7.0      | 6.8   | 6.1                                  |
| Kat       | 33                    | 6.8      | 6.6   | 5.6                                  |
| Schaap    | 39.5                  | 5.8      | 5.7   | 4.7                                  |
| Rund      | 33                    | 6.8      | 6.5   | 5.6                                  |
| Geit      | 54                    | 4.2      | 4.3   | 3.6                                  |

Dit is een verklaring voor de waarneming van Harnapp en Möbius die bij verdunning van een bloedsuspensie de

maten van de kleuren niet evenredig met de verdunning zagen afnemen. Het preparaat blijft immers volgens bovenstaande eigen opvattingen gekenmerkt door den veelvuldigen, betrekkelijk geringen, onderlingden afstand van de centra der erythrocyten van gemiddelde grootte.

Een en ander is de reden voor het verschil dat tusschen het over elkander werpen van de „spectra“ van twee bloedsoorten en het vormen van een „spectrum“ door de menging van de beide bloedsoorten bleek te bestaan (§ 26). In het eerste geval wordt een nieuw interferentieverschijnsel gevormd door de refractie van al die cellen, die op een tamelijk kleinen, gemiddelden afstand van elkander zijn gelegen waarbij wederom de gemiddelde afstand tusschen de centra van alle cellen van ongeveer gemiddelden diameter, in aantal overweegt.

Wordt omgekeerd uit den afstand en den  $r$  geel bij samengesteld licht de factor  $n$  berekend, dan bedraagt deze 1.7 — 2.0, oplopend van de groote naar de kleine waarde van  $d_E$ .

Ten overvloede worden de spectra van de preparaten met samengesteld licht nog vergeleken met de verschijnselen bij het gebruik van monochromatisch licht. De uitkomst van deze vergelijking stemt niet overeen met de conclusie van Harnapp en Möbius dat de kleuren niet aan de plaatsen van de physische maxima en minima gebonden zijn. Het maximum van geel ligt met slechts geringe afwijkingen op de plaats van de gele lijn van de interferentiekleuren.

|                   |        |         |        |      |        |      |
|-------------------|--------|---------|--------|------|--------|------|
| Preparaat van:    |        | Olifant | Mensch | Hond | Konijn | Rat  |
| geel (monochrom.) |        | 27      | 30     | 32.5 | 32.5   | 36.5 |
| geel (wit licht)  |        | 26      | 29.5   | 32   | 32.5   | 36   |
|                   | Varken | Paard   | Kat    | Rnud | Schaap | Geit |
|                   | 40     | 40.5    | 44     | 45.5 | 53     | 71   |
|                   | 40.5   | 40      | 44.5   | 45.5 | 52     | 71.5 |

Een mogelijkheid om de lichtpunctentheorie nader te onderzoeken ligt in het meten van het spectrum van een uitstrijkje met gave ronde cellen, waarin vervolgens de cellen aan een schrompeling worden onderworpen. Volgens de theorie van Pijper, Harnapp en Möbius zou dan het spectrum



grooter moeten worden, daarentegen volgens de interferentie-theorie gelijke afmetingen moeten behouden. Het is echter niet gelukt een dergelijke schrompeling in een uitstrijkje teweeg te brengen.

Verder zou in een herberekening van alle resultaten voor de roode kleur met de golflengte van groen een aanwijzing kunnen worden gevonden.

De halometrie dient dus te worden gezien als een dubbel verschijnsel van breking en buiging met interferentie, waardoor zich bij verschillende gemiddelden diameter der erythrocyten ongelijk groote verschijnselen voordoen. Deze mogen niet in een onmiddellijk physisch verband met dezen diameter worden gebracht.

Met *Lepel* mag echter worden gezegd: Alvorens de staf over de methode te breken moet onderzocht worden of de praktische resultaten niet zoo goed zijn, dat de geuite bezwaren hun waarde verliezen.

Inderdaad blijkt de mogelijkheid met doelmatige apparatuur kleine verschillen in bloedsoorten varieerend van 3 tot 10  $\mu$  met een nauwkeurigheid van ongeveer 0.3  $\mu$  te bepalen.

Wordt het onderzoek beperkt tot het bloed van één dier, dan kunnen hierin zeer kleine verschillen tot minder dan 0.1  $\mu$  worden waargenomen, omdat dan bij alle preparaten de fouten in de methode het duiden van het verschijnsel op gelijke wijze beïnvloeden.

### § 31. *Nieuwe methode voor de bepaling van den gemiddelden diameter en de anisocytose.*

In het eigen onderzoek is een methode ontwikkeld, waarmede het mogelijk is reeds bij de microscopische controle van het uitstrijkje den gemiddelden diameter der waargenomen erythrocyten en tevens de afmetingen van de kleinste en de grootste cellen in het gezichtsveld direct te bepalen.

*Bergansius* nam waar, dat boven de erythrocyten op ongeveer 30  $\mu$  afstand een helder lichtpunt wordt gezien, wanneer zij bij gebruik van een puntvormige lichtbron zonder condensor worden bekeken. Bij voldoende heffing van den tubus

kan boven elken erythrocyt een beeld van de lichtbron worden waargenomen, op grond waarvan Bergansius tot lenswerking door den erythrocyt concludeert (vgl. plaat VII).

Een en ander werd door mij op de volgende wijze beproefd. Ten eerste wordt scherp ingesteld op den omtrek van de grootste doorsnede der bloedlichaampjes en daarbij de trommelstand afgelezen. Vervolgens wordt de condensor weggedraaid en de tubus geheven, tot juist het meerendeel der cellen als fijne lichtpunten tegen een donkeren achtergrond verschijnt. Op plaat VII in 3 en 4 bij c ziet men een erythrocyt van gemiddelde doorsnede, resp. de bijzonder heldere lichtpunt bij heffing tot de bovenomschreven hoogte. Dit vergt eenige oefening, aangezien voor het optreden van de heldere lichtpunt in het centrum twee of drie maxima, afkomstig van de buigingsverschijnselen aan den rand van den erythrocyt verschijnen. Deze zijn echter minder scherp omschreven. Op den geheven stand wordt wederom de trommel der fijninstelling afgelezen. Door dalen en heffen van den tubus wordt nu nog onderzocht, welke cellen het eerst en welke het laatst een lichtpunt geven. Bij de grootste cellen verschijnt dit later, terwijl het bij de kleinste cellen het eerst aanwezig is. (vgl. plaat VI, 1b en 2b, resp. 1c en 2c).

Het experiment geschiedt met een Zeiss-statief L, dat voor de fijninstelling een tandradfijnbeweging volgens Meyer bezit. Fijne tandraadjes worden hierin zonder smeermiddel door tegendruk van een veer steeds in eenzijdige aanraking gehouden, zoodat in tegenstelling tot de normale micrometerschroef in dit belangrijke deel der fijnbeweging doode gang volledig is uitgeschakeld. De tandraderen werken op een krommen hefboom, die aan zijn andere einde met een mes op een lager rust. De beweging van den hefboom wordt op een bewegelijken tubusdrager overgebracht. De waarde van de verandering der instelling wordt op een gekalibreerde trommelschaal, waarvan elk interval 0.001 mm bedraagt, afgelezen.

Uit de aflezing bleek, dat niet alle lichtpunten op een afstand van  $30 \mu$  gelegen zijn, maar bij de kleine cellen op een kleinen, bij de groote op een veel grooteren afstand. Deze serie uitkomsten wordt hieronder weergegeven. Hierin stelt h de

heffing van den tubus (aflezing op de trommel in  $\mu$ ) en  $d_E$  den diameter van den erythrocyt, volgens oculairschroefmicrometing, eveneens in  $\mu$  voor.

Tabel voor het verband tusschen heffing en doorsnede:

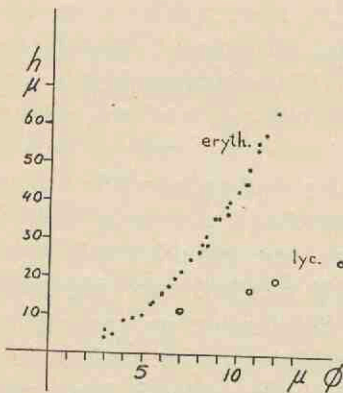
| h  | cellen in het bloed van: | $d_E$ | h  | cellen in het bloed van: | $d_E$ |
|----|--------------------------|-------|----|--------------------------|-------|
| 4  | geit                     | 3     | 29 | mensch                   | 8.1   |
| 5  | "                        | 3.5   | 29 | "                        | 8.4   |
| 6  | "                        | 3     | 31 | "                        | 8.3   |
| 8  | schaap                   | 4     | 36 | "                        | 8.8   |
| 9  | "                        | 4.5   | 36 | "                        | 9     |
| 10 | "                        | 5     | 37 | "                        | 9.5   |
| 13 | "                        | 5.4   | 39 | olifant                  | 9.4   |
| 14 | paard                    | 5.6   | 40 | "                        | 9.5   |
| 16 | "                        | 6     | 43 | "                        | 10    |
| 18 | konijn                   | 6.4   | 45 | "                        | 10.4  |
| 20 | "                        | 6.7   | 49 | "                        | 10.5  |
| 22 | mensch                   | 7     | 54 | "                        | 11    |
| 25 | "                        | 7.5   | 56 | "                        | 11    |
| 27 | "                        | 8     | 58 | "                        | 11.4  |
|    |                          |       | 64 | "                        | 12    |

Met lycopodiumkorrels heb ik een vergelijkende proef gedaan. Deze bezaten volgens controle met den oculairschroefmicrometer afmetingen van 10 tot 50  $\mu$ . Voor zoover kan worden vastgesteld is de vorm dezer korrels kogelvormig of gering ellipsoïde. Ook zij geven bij een bepaalde heffing een beeld van de lichtbron. De heffing blijkt hierbij met toenemen-

den diameter der korrels niet zoo sterk te veranderen als bij bloedlichaampjes het geval is.

Bij het grafisch verwerken van de metingen der heffing en der doorsneden van erythrocyten en lycopodiumkorrels, worden de diameters op de abscis, de heffingswaarden op de ordinaat uitgezet. Voor de korrels ontstaat hierbij een rechte welke door den oorsprong gaat, voor de erythrocyten een kromme, die den indruk wekt een parabool te zijn (vgl. afb. 10).

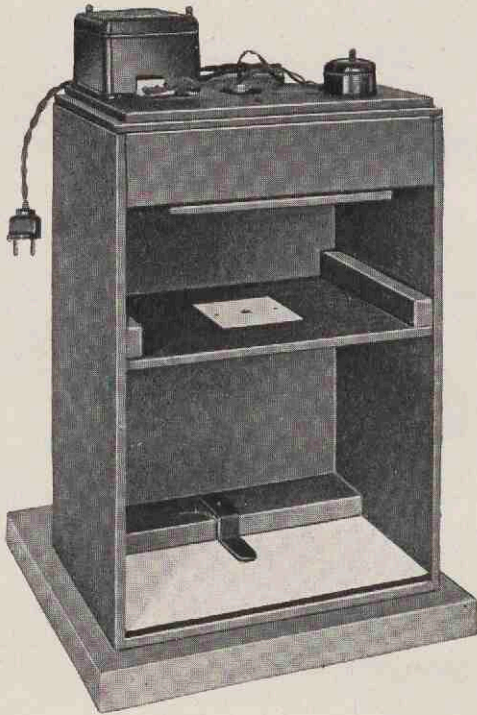
Afb. 10.



Grafiek der heffingswaarnemingen



PLAAT VIII  
Eigen apparaat.



Verbeterd apparaat voor klinische meting van den gemiddelden diameter der roode bloedlichaampjes.

De heffing bij het waarnemen der verschijnselen bij lycopo-  
diumkorrels kan in de formule voor een rechte,  $y = mx + p$   
worden uitgedrukt, waarin  $m$  volgens de waarnemingen  $\frac{20}{12}$   
bedraagt en  $p = 0$  is aangezien de rechte door den oorsprong  
(0;0) gaat. Dus kan geschreven worden  $x = 0.6 y$  of wel  $d =$   
 $0.6 h$ .

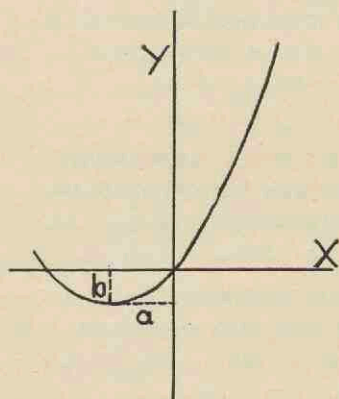
De vraag rijst nu of ook bij erythrocyten een verband tus-  
schen de heffing en den diameter kan worden gevonden en zoo  
ja of dit in een vergelijking kan worden neergelegd.

Aangezien de heffing voor grootere doorsneden veel groot-  
ter wordt, en bij oneindig groote doorsnede tot oneindig,  
tevens bij zeer kleine tot nul nadert, mag worden aangenomen  
dat het verband door een parabool kan worden voorgesteld.  
Verder geeft de grafiek reeds een aanwijzing voor dezen aard  
der kromme. Indien de asrichting der parabool evenwijdig aan  
de ordinaat verloopt, kan de algemeene vergelijking voor een  
parabool  $y + b = 2p(x + a)^2$  in dit geval worden geschreven:  
(I)  $h + b = 2p(d + a)^2$ .

Als eerste voorwaarde nemende dat bij kleine lichaampjes  
de heffing tot 0 nadert wordt voor het geval  $h = 0$  en  $d = 0$   
(0,0),  $b = 2p a^2$ , of  $2p = \frac{b}{a^2}$ . Dit gesubstitueerd in I geeft:

$$(II) h + b = \frac{b}{a^2} (d + a)^2.$$

Afb. 11. Teekens der parabool.



Om de beide constanten  $a$  en  $b$  (vgl. afb. 11) te bepalen wordt  
der parabool de voorwaarde opgelegd, dat zij door twee be-  
paalde punten moet gaan. Deze worden als volgt vastgesteld.  
Door de waarnemingspunten wordt zoo goed mogelijk een  
kromme getrokken. Te midden van de groep kleinste en van  
de groep grootste waarnemin-  
gen elk, wordt een punt geko-  
zen, dat op de kromme gele-  
gen is. De coördinaten van

deze beide punten t.w. 6;16 en 10;43 worden in de vergelijking II gesubstitueerd.

Dan volgt:

$$16 + b = \frac{b}{a^2}(6 + a)^2 \quad \text{en} \quad 43 + b = \frac{a^2}{b}(10 + a)^2 \text{ of}$$

$$a^2 - \frac{3}{4}ab - \frac{9}{4}b = 0 \text{ (III) en} \quad a^2 - \frac{20}{43}ab - \frac{100}{43}b = 0 \text{ (IV).}$$

$$\text{III—IV levert: } \left(\frac{20}{43} - \frac{3}{4}\right)ab = 0, \text{ d.w.z. dat } a = 0 \text{ of wel } b = 0.$$

Indien  $a = 0$  geeft substitutie in III dat  $b = 0$  en omgekeerd blijkt indien  $b = 0$  uit substitutie, dat  $a = 0$ , waaruit volgt dat de top van de parabool door den oorsprong gaat (0;0). In dit geval geldt de formule  $h = 2p d^2$ . Voor de berekening van  $p$  kunnen de ordinaten der beide punten gesubstitueerd worden:

$$16 = 2p \cdot 36 \text{ en } 43 = 2p \cdot 100. \text{ Of } \frac{16}{36} = 2p, 2p = \frac{4}{9} \text{ en}$$

$$\frac{43}{100} = 2p \text{ of } 2p = 0.43.$$

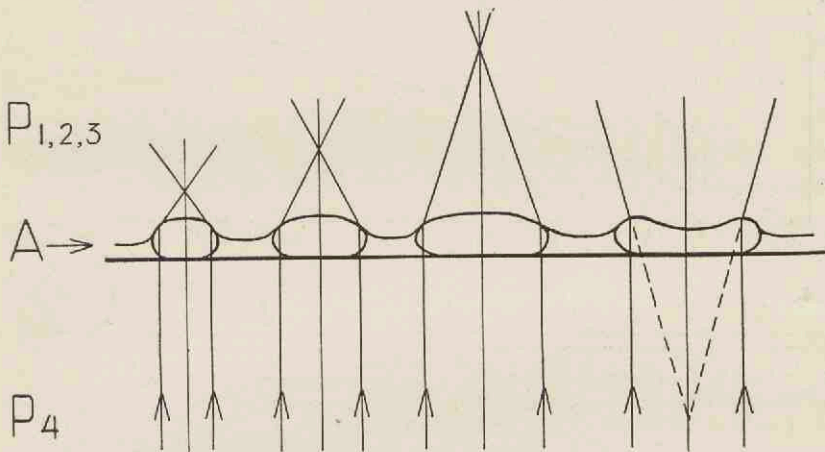
De vergelijking van de betrokken parabool kan dan geschreven worden als  $(y = \frac{4}{9} x^2) h = \frac{4}{9} d^2$  of  $d_E = 1.5 \sqrt{h}$ .

De doorsnede van het roode bloedlichaampje in een uitstrijkje blijkt dus te kunnen worden bepaald uit de heffing welke benoodigd is, om uitgaande van het vlak van scherp instellen op den omtrek, te komen tot de waarneming van een helder lichtpunt. De onderlinge betrekking is deze: de doorsnede is gelijk 1.5 maal de wortel uit de heffing.

Ter verklaring van deze betrekking moet beslist worden of het verschijnsel aan het samenvallen van buigingsbeelden, die aan den rand van den erythrocyt ontstaan, of aan lenswerking door verschil van brekingscoëfficiënt moet worden toegeschreven. Uit het feit dat door etsing van de cellen met ijzer-aluin-haematoxiline het verschijnsel practisch verdwijnt, blijkt, dat alleen lenswerking als verklaring in aanmerking komt. Dit wordt ondersteund door de reeds door Bergansius even-

eens waargenomen nauwkeurige afbeelding van den vorm der lichtbron. Dat de lenswerking inderdaad den grondslag vormt wordt in een eigen experiment bewezen door het vergelijken van biconcave en biconvexe, uitgezakte cellen, die op een objectglas respectievelijk een planconcaven en een planconvexen vorm bezitten. Bij de planconcave lichaampjes kan de lichtpunt niet door heffing (vgl. afb. 12, P 1, 2 en 3), daarentegen wel door dalen van den tubus en wel over een overeenkomstigen afstand, worden ingesteld (vgl. afb. 12, P 4).

Afb. 12. Schema van de lenswerking bij erythrocyten.



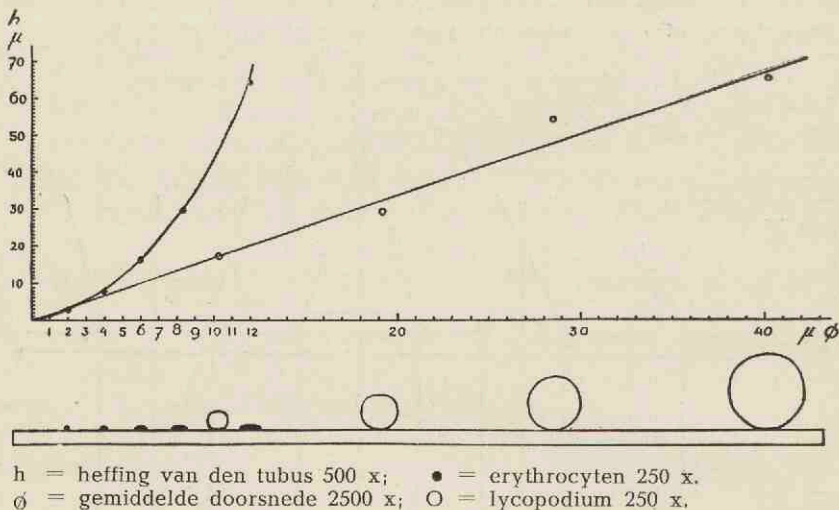
De vorm van de bloedlichaampjes kan, als de microscopische waarneming van hun oppervlak niet voldoende uitsluitsel geeft, worden bepaald door evenwijdig aan het objectglas zeer dunne krassen over het preparaat aan te brengen. De convexe lichaampjes worden vrijwel over het geheele bovenvlak geraakt, de concave alleen aan hunne dikkere randen.

Bij de bespreking van den aard der erythrocyten werd reeds vastgesteld, dat zij slappe eiwitmassa's zijn, die op een bepaalde manier op het objectglas kunnen uitzakken. De stijvere lycopodiumkorrel behoudt op het objectglas zijn vorm. Het kogelvormige, biconvexe of wel biconcave bloedlichaampje zakt onder den invloed van de zwaartekracht uit en neemt, afhankelijk van eigen inwendigen weerstand en oppervlaktespanning een gedeeltelijk ellipsoïden, planconvexen of plancon-



caven vorm aan. Hoe kleiner de kromtestraal van den erythrocyt tevoren is, des te grooter weerstand zullen de genoemde krachten tegen de vervorming bieden. De grootste lichaampjes ondergaan de grootste afplatting. Een schema hiervan geef ik in de afbeeldingen 12 en 13.

Afb. 13. Grafiek der heffing bij erythrocyten en korrels.

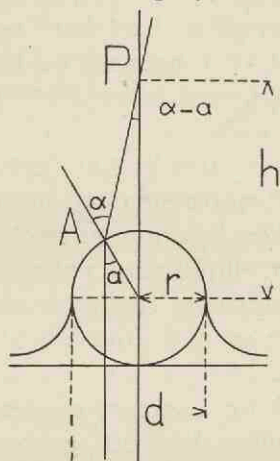


Hiermede wordt verklaard, dat het verband tusschen heffing en doorsnede bij korrels op een rechte en bij erythrocyten op een parabool ligt.

Uit de vergelijking van de parabool kan een tabel voor het aflezen van den diameter op grond van de heffing worden samengesteld. Deze volgt aan het slot van de paragraaf.

Ter illustratie diene een theoretische berekening voor het geval „zeer klein lichaampje”, dat practisch bolvormig zijnde, gerekend kan worden met een halven bol boven het plasma uit te steken. Bij lenswerking geldt hier de wet van Snellius  $v \sin a = v \sin \alpha$  waarin  $v$  de brekingscoëfficiënt voor den erythrocyt,  $v$  die voor lucht voorstelt. De brekingshoeken  $a$  en  $\alpha$  blijken uit de afbeelding 14.

Afb. 14. Schema van de lenswerking bij een kogelvormig lichaampje.



Bij een brekingscoëfficiënt van 1.5 voor den erythrocyt en van 1 voor lucht wordt de formule dan  $\frac{3}{2} \sin a = \sin \alpha$ .

Verder:  $\sin a : \sin (\alpha - a) = AP : r$ .

$$AP = \frac{r \sin a}{\sin \alpha \cos a - \sin a \cos \alpha} \text{ of}$$

$$AP = \frac{r \sin a}{\frac{3}{2} \sin a \cos a - \sin a \cos \alpha} = \frac{r}{\frac{3}{2} \cos a - \cos \alpha}$$

Een berekening voor de centrale stralen, waarbij  $a$  en  $\alpha$  tot 0 naderen, levert:  $AP = \frac{r}{\frac{3}{2} - 1} = 2r$ . Of wel  $h = 3r = 1.5 d$ .

Voor niet-centrale stralen berekend, b.v. voor  $a = 30^\circ$ , wordt  $\frac{3}{2} \sin 30^\circ = \sin \alpha$  of  $\sin \alpha = \frac{3}{2} \cdot \frac{1}{2} = \frac{3}{4}$ . Nu is  $\sin^2 \alpha + \cos^2 \alpha = 1$ , waaruit volgt:  $\cos \alpha = \frac{1}{4} \sqrt{7} = 0.661$ .

$$\text{Dus } AP = \frac{r}{\frac{3}{2} \cdot \frac{1}{2} \sqrt{3} - 0.661} = \frac{r}{0.638} = 1.57 r \text{ . D.w.z.}$$

$h = 1.57 r$  of wel  $h = 1.28 d$ .

Wanneer men dit voor het geval van een der kleinste waargenomen bloedlichaampjes, b.v. met de coördinaten 5; 3.4 becijfert, blijkt  $h = 1.47 d$ , hetgeen eveneens geschreven kan worden als  $d = 1.5\sqrt{h}$ .

Bij elliptoïde cellen treedt het lichtpuntverschijnsel in anderen vorm op. Zij vertoonen bij heffing van den tubus allereerst twee heldere lichtpunten welke ongeveer in de brandpunten van den elliptischen vorm gelegen zijn. Bij verder omhoog draaien ontstaan nog twee zwakkere lichtpunten, die op den dwarsas van den ellips dicht bij den buitenrand daarvan liggen. Aannemende dat de lichtpunten gevormd worden door lenswerking, kan men zeggen dat de beide eerste heldere lichtpunten door de sterk gebogen oppervlakte aan de uiteinden van den erythrocyt ontstaan, terwijl de zwakkere met de flauw gebogen oppervlakken aan de op de dwarsas gelegen, voor elk lichtpunt tegenovergestelde, zijden met een grooteren kromtestraal in verband staan.

Een en ander geeft een verklaring voor de zekere hoekigheid welke bij de diffractie door elliptische bloedlichaampjes is waar te nemen. Op grond van de in de vorige paragraaf gegeven verklaring van het verschijnsel, kan dit als volgt worden uitgelegd. De lichtpunten hebben over het algemeen binomiaal verdeelde bepaalde onderlinge afstanden, die in enkele groepen ingedeeld kunnen worden. Eén groep afstanden van de heldere lichtpunten, een tweede groep afstanden van de zwakkere lichtpunten en een derde groep schuin gemeten afstanden tusschen zwakke en heldere lichtpunten. Deze geven interferentieverschijnselen waaruit gekleurde banden van kleine afmeting dwars op de as der heldere lichtpunten, kleuren van grootere afmetingen dwars op de kortere as der zwakkere lichtpunten en twee aan twee schuin gelegene overeenkomende met de afstanden tusschen zwakke en heldere punten. Hierdoor ontstaat op het beeldvlak een ongeveer elliptisch resulterend beeld waarin door het overwegen van de eerstgenoemde loodrecht op elkander staande kleurbanden een zekere hoekigheid valt waar te nemen.

Een grafische vergelijking van de uitkomsten der metingen volgens de formule  $d = 1.5 \sqrt{h}$ , wordt in afbeelding 9 onder „Heff. meth.” gegeven.

Tabel voor de bepaling der diameter uit de heffing ( $\mu$ ):

| heffing | diameter | heffing | diameter | heffing | diameter |
|---------|----------|---------|----------|---------|----------|
| 1       | 1.5      | 16      | 6.0      | 31      | 8.35     |
| 2       | 2.1      | 17      | 6.2      | 32      | 8.5      |
| 3       | 2.6      | 18      | 6.4      | 33      | 8.6      |
| 4       | 3.0      | 19      | 6.5      | 34      | 8.7      |
| 5       | 3.4      | 20      | 6.7      | 35      | 8.9      |
| 6       | 3.7      | 21      | 6.9      | 36      | 9.0      |
| 7       | 4.0      | 22      | 7.0      | 37      | 9.1      |
| 8       | 4.2      | 23      | 7.2      | 38      | 9.25     |
| 9       | 4.5      | 24      | 7.35     | 39      | 9.35     |
| 10      | 4.7      | 25      | 7.5      | 40      | 9.5      |
| 11      | 5.0      | 26      | 7.6      | 41      | 9.6      |
| 12      | 5.2      | 27      | 7.8      | 42      | 9.7      |
| 13      | 5.4      | 28      | 7.9      | 43      | 9.8      |
| 14      | 5.6      | 29      | 8.0      | 44      | 9.9      |
| 15      | 5.8      | 30      | 8.2      | 45      | 10.0     |

## BESLUIT.

De gemiddelde diameter der roode bloedcellen bij de huisdieren varieert van  $3.6 \mu$  bij de geit tot  $9.2 \mu$  bij den olifant.

De diameter kan met den oculairschroefmicrometer met groote nauwkeurigheid, tot op  $0.1 \mu$ , worden bepaald.

Voor de meting kan eveneens de in het eigen experiment verbeterde diffractiemethode van P i j p e r worden toegepast. Hierbij werken de bloedcellen door hunne refractie en hun onderling verband als een buigingsrooster, dat tevens interferentieverschijnselen opwekt waarvan de afmetingen in een bepaalde verhouding tot den gemiddelden diameter der cellen staan.

Het verband kan worden aangeduid met de formule  $d_E = \frac{n\lambda}{r} \sqrt{f^2 + r^2}$  waarin  $n$  een bepaalde, physisch bekende waarde heeft, die echter afhankelijk is van de persoonlijke kleurgevoeligheid van den waarnemer. De factor  $n$  dient daarom door elken onderzoeker afzonderlijk te worden vastgesteld.

De nauwkeurigheid van deze verbeterde methode bedraagt  $0,1 \mu$  bij het meten van een soort bloed.

De cellen blijken in een uitstrijkje op een onderlingen afstand te liggen, die zich op bepaalde wijze tot den diameter verhoudt.

Tusschen de maten van de gekleurde ringen en de in het preparaat aanwezige anisocytose kan in tegenstelling tot de theorie van P i j p e r géén verband worden gelegd.

De roode bloedlichaampjes blijken zich op het objectglas afhankelijk van hun oorspronkelijken diameter meer of minder sterk af te platten, waardoor een zeker verband tusschen hun doorsnede en hunne oppervlaktekromming tot stand komt. Deze verhouding kan gebruikt worden om uit den brandpuntsafstand door middel van heffing van den tubus den diameter der erythrocyten te bepalen en wel volgens de formule: doorsnede =  $1.5 \sqrt{\text{heffing}}$ . Met deze nieuwe methode is wel een bepaling van de anisocytose mogelijk.

## SAMENVATTING.

De verschillende methoden ter bepaling van de grootte der roode bloedcellen worden in een vergelijkend onderzoek betrokken. Het lege artis vervaardigde uitstrijkje blijkt een preparaat te zijn waarmede onderscheidene waarnemers de grootte der cellen van diverse bloedsoorten op vergelijkbare wijze kunnen beoordeelen. De gemiddelde diameter van de erythrocyten der huisdieren werd bepaald met een variatie van  $3.6 \mu$  bij de geit tot  $9.2 \mu$  bij den olifant.

De diffractiemethode is, hoewel zij niet op zuiveren physichen grondslag blijkt te zijn gebouwd; nauwkeurig genoeg om klinische verschillen in den diameter waar te nemen. De moderne apparaten blijken hierbij géén voordeelen te bezitten boven de in het experiment verbeterde methodiek. De in den handel zijnde apparaten volgens B o c k zijn voor het gebruik bij alle huisdieren niet zonder verbetering en herijking van de schaalverdeeling, geschikt.

Door middel van P r i c e - J o n e s - krommen en preparaten met kunstmatig versterkte anisocytose wordt vastgesteld, dat de diffractiemethode géén inzicht in de spreiding der diameters geeft.

In tegenstelling tot de meening van andere onderzoekers kunnen de lengte en de breedte van elliptocyten wel door diffractie gemeten worden.

Het onderzoek naar het wezen der verschijnselen geeft grond, deze toe te schrijven aan de refracteerende werking der bloedcellen, die mede een systeem van interfereerende lichtpunten vormen. Deze liggen in een onderling verband, dat eveneens in betrekking tot den gemiddelden diameter der cellen staat.

Ten slotte wordt een eigen methodiek ontwikkeld om den diameter der erythrocyten op grond van hunne lenswerking door het kromme bovenvlak in het uitstrijkje, zonder diffractie te bepalen.

Het verband tusschen de uit de kromming voortvloeiende optische verschijnselen en de doorsnede wordt in de formule  $d_E = 1.5 \sqrt{h}$  uitgedrukt, waarin  $d_E$  de gemiddelde doorsnede der roode bloedlichaampjes en  $f$  hunnen brandpuntsafstand voorstelt. De laatste is als heffing van den tubus van een daarvoor geschikt microscoop met bijzonder gevoelige fijninstelling (Zeiss-Statief L), direct meetbaar. Op deze wijze kan tevens de doorsnede bij de kleinste en bij de grootste cellen afzonderlijk gemeten worden, zoodat een indruk van de anisocytose verkregen wordt.

## ZUSAMMENFASSUNG.

Die verschiedenen Methoden zur Bestimmung des Durchmessers der roten Blutkörperchen wurden einer vergleichenden Untersuchung unterzogen. Der lege artis angefertigte Blutaussstrich zeigt sich als ein Präparat, mit dem verschiedene Untersucher die Zellengröße in verschiedenen Blutsorten in vergleichbarer Weise beurteilen können. Der mittlere Durchmesser der Erythrozyten der Haustiere wurde bestimmt. Er schwankt von  $3.6 \mu$  bei der Ziege bis  $9.2 \mu$  beim Elefanten.

Das Diffraktionsverfahren ist, zwar nicht auf reinem physikalischem Grund gebaut, doch genügend zuverlässig um klinische Unterschiede in Erythrozytendurchmesser bestimmen zu können. Die modernen Apparaten brauchen der im eigenen Experiment verbesserten Methode P i p e r nicht vorgezogen zu werden. Die käuflichen B o c k-Apparate für Tierblut sind ohne Verbesserung und Eichung der Skala nicht für alle Haustiere geeignet.

Mittels P r i c e-J o n e s-Kurven und künstlich gesteigerter Anisozytose wurde festgestellt, dass das Diffraktionsverfahren kein Bild der Streuung der Durchmesser gibt.

Im Gegensatz zu der Meinung anderer Untersucher konnten Länge und Breite der Elliptozyten im Diffraktionsverfahren gemessen werden.

Die Untersuchung des Wesens der Erscheinungen gibt einen Grund, dieses der refraktierenden Wirkung der Blutzellen zu schreiben, die daneben ein System interferierender Lichtpunkte bilden. Letztere liegen in einer gegenseitigen Ordnung die gleichfalls in einer Beziehung zum mittleren Durchmesser steht.

Zum Schluss wurde ein Verfahren von eigener Erfindung beschrieben um den Erythrozytendurchmesser ohne Diffraktion, auf Grund der Oberflächenkrümmung der Zellen im Ausstrich bestimmen zu können. Der Zusammenhang zwischen



den aus der Krümmung verursachten Erscheinungen und dem Durchmesser wird mit der Formel  $d_E = 1.5 \sqrt{h}$  bezeichnet, in der  $d_E$  der mittlere Erythrozytendurchmesser und  $h$  ihre Brennpunktentfernung ist. Letztere ist durch Anheben des Tubus eines zweckdienlichen Mikroskops mittels besonders einwandfreier Feineinstellung (Zeiss L Stativ), sofort messbar. In dieser Weise kann auch der Durchmesser bei den kleinen und bei den grossen Zellen einzeln bestimmt werden, um damit einen Ausdruck der Anisozytose erhalten zu können.

LIJST VAN AFBEELDINGEN EN PLATEN.

|   | Bladzijde |
|---|-----------|
| Afb. 1. Schema van de proefopstelling vlg. P i j p e r . . . . .                      | 12        |
| " 2. Schema van de proefopstelling met schot vgl. P i j p e r . . . . .               | 12        |
| " 3. Schema van den Erythrocytometer vlg. B o c k . . . . .                           | 13        |
| " 4. Schema van den Blutzellenprüfer Z e i s s - P i j p e r . . . . .                | 13        |
| " 5. Schema van het eigen apparaat . . . . .  | 31        |
| " 6. Schema van het eigen zakapparaat . . . . .                                       | 32        |
| " 7. Schema van de proefopstelling met koker . . . . .                                | 39        |
| " 8. Vergelijking der P r i c e - J o n e s - m e t i n g met de diffractie . . . . . | 58        |
| " 9. Grafiek der verschillende uitkomsten . . . . .                                   | 63        |
| " 10. Grafiek der heffingswaarnemingen . . . . .                                      | 72        |
| " 11. Teekens der parabool . . . . .  | 73        |
| " 12. Schema van de lenswerking bij erythrocyten . . . . .                            | 75        |
| " 13. Grafiek der heffing bij erythrocyten en korrels . . . . .                       | 76        |
| " 14. Schema van de lenswerking bij een kogelvormig lichaampje. . . . .               | 77        |

| Plaat  | Tegenover bladzijde |
|--|---------------------|
| I Portret van Antoni van Leeuwenhoek. . . . .                                      | 9                   |
| II Buigingskleuren bij het lijnenrooster met samengesteld licht. . . . .           | 25                  |
| III Buigingskleuren bij een rond rooster (erythrocyten). . . . .                   | 33                  |
| IV Betrekking der kleuren en doorsnede (P i j p e r). . . . .                      | 41                  |
| V Vergelijking van verschillende bloedsoorten. . . . .                             | 49                  |
| VI Interferentiekleuren bij elliptocyten. . . . .                                  | 57                  |
| VII Beelden van uitstrijkjes bij instelling op den omtrek en bij heffing . . . . . | 65                  |
| VIII Eigen apparaat. . . . .   | 73                  |

## LITERATUURLIJST.

- Alder A., Markhoff N.: *Helvet. med. Acta*, 1936, 3, 1709—20.
- Allen and Ponder: *J. of Physiol.* 1928, 66, 37.
- Bayer, J.: Dissertatie, Wien, 1938.
- Bell: *Minerva medica*, Torino, 1925, 5.
- Bergansius: *Pflüger's Archiv*, 1921, 192, 118.
- Bernstein, Jos.: *Fol. haemat.*, 1934, 52, 456—64.
- Befhe, M.: Dissertatie, Strassburg, 1891, 20.
- Bettels, K.: Dissertatie Hannover 1932.
- Björk, S.: *Finska Läk. Sällsk. Hdl.* 1935, 77, 486.
- Bock, H. E.: *Klin. Wschr.* 1933, 29 en 782 en 1141.
- "    "    "    *Klin. Wschr.* 1934, 9.
- "    "    "    *Münch. med. Wschr.* 1934, 1646 en 1686.
- "    "    "    *Med. Welt* 1935, 344.
- Bock, Griesbach: *Klin. Wschr.* 1933, 29.
- Bönniger: *Berl. Klin. Wschr.* 1909, 161.
- "    "    *Z. Klin. Med.* 1919, 87.
- Borner: *Pflüger's Archiv*, 1928, 220.
- Boycott: *The Lancet*, 1924, 524.
- Brännström, A.: *Nord. med. Tidskr.*, 1935, 9, 723.
- Brinkman, van Dam: *Biochem. Zschr.*, 1920, 108, 52.
- Brugsch, J. Th.: *Fol. haemat.*, 1931, 45, 295.
- "    "    "    "    "    "    , 1934, 51, 261.
- "    "    "    *Jahreskurse f. ärztl. Fortbild.*, 1935, 48.
- Bürker, K.: *Pflüger's Archiv*, 1922, 516.
- "    "    "    *Sitz. ber. der Preuz. Akad. d. Wiss., phys.-meth.*,  
1922, 140.
- "    "    "    *Handb. d. norm u. pathol. Physiologie*, 1928, 4, I.
- Britozan, L. V.: *Vet. Arch. (Kroat.)*, 1932, 2, 173—195.
- Chomet: *Med. Klin.* 1934, 1428.
- Cozutti, G.: *Kongr. Zbl. inn. Med.*, 1937, 88, 209.
- Denecke: *Med. Welt*, 1935, 335.
- Domarus, Dr. A. von: Einführung in die Haematologie, Leipzig 1929, 45.
- Donelson, E. G., Leichsenring, J. M., Wall, L. M.: *Amer. J. Physiol.*, 1940, 80, 128, 382—89.
- Doyle, L. P.: *J. amer. vet. med. Assoc.*, 1932, 80, 356—60.

- Ebbecke: *Klin. Wschr.*, 1938, 17, 10.  
 Ehrlich: *Dtsch. Arch. Klin. Med.*, 1896, 30.  
 Emmons: *J. of Phys.* 1928, 66, 215.  
 Enghoff, E.: *Uppsala Univ. A. skrift*, 1937.  
 Fischer: *Mtschr. f. Kinderheilkunde* 1935, 63, 3.  
 Freerksen, E.: *Z. Anat.*, 1936, 106, 462—72.  
 " " *Z. Anat.*, 1937, 107, 563—67.  
 " " *Klin. Wschr.* 1937.  
 Gadschieff, S. S.: *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 1932, 40, 550.  
 Gänzlen: *Klin. Wschr.* 1927, 929.  
 " *Dtsch. med. Wschr.* 1931, 46.  
 " *Dtsch. Arch. Klin. med.* 1922, 140, 214.  
 " *Med. Klin.* 1936, 16, 534.  
 Gauma: *Journ. of clin. investig.* 1926, 3, 229.  
 Gough: *Bioch. Journ.*, 1924, 18, 202.  
 Gram, C.: *Fortschr. d. Med.*, 1884, 2, 37.  
 Grawitz: *Klinische Pathologie des Blutes*, 1911.  
 Gray, Metuse,  
 McRobert: *Bessel*, London 1922.  
 Gulliver, *Jardine a. Selby's Ann. of nat. hist.*, 1847, 17, 200.  
 " *Edinburgh med. a. surg. journ.*, 1847, 65, 497.  
 Günther: *Hdb. d. allgem. Haematol.*, 1932, I.  
 " *Fol. haemat.*, 1928, 35, 383.  
 Haden, R. L.: *Journ. Am. Med. Ass.*, 1935, 104, 9.  
 " " " *J. labor, d. clin. med.*, 1940, 25, 399—403.  
 Hamburger, H. J.: *Virchow's Archiv*, 1895, 141, 230.  
 Hardy, Nottage: *Proc. Royal Soc. A.* 1926, 112, 52.  
 Harnapp, G. O.,  
 Möbius, E.: *Pflüger's Archiv*, 1935, 236, 261—76.  
 Hauer, F.: *Pflüger's Archiv*, 1939, 241, 558.  
 Henderson: *Blut, Seine Pathol. u. Physiol.*, Dresden, 1932.  
 Heumüller, K. A.: *Dissertatie*, Frankfurt, 1936.  
 Hubacek, O.: *Dissertatie*, Wien, 1940.  
 Hunter, Warren,  
 Adams: *Ann. int. med.*, 1929, 2, 1162—74.  
 Jolly: *Arch. d'anat. microscop.*, 1907, 9.  
 Jörgensen, S.,  
 Warburg, E.: *Hospitalstidende*, 1926, 69, 837.  
 Jörgensen, S.,  
 Warburg, E.: *Acta Med. Scand. (Stockh.)*, 1927, 66, 109.  
 Kasten, Zucker: *An. Ger. physiol.*, 1928, 89, 263.  
 Kasuga, Crüchi: *Mitt. med. Akad. Kioto*, 1939, 26, 348—370.  
 Keller: *Z. Klin. Med.*, 1934, 127.  
 " *Z. Klin. Med.*, 1935, 132.  
 Keuskamp: *Ned. Tschv. v. Gen.*, 1943, 87, 48.

- Kirk, E.: *Acta Med. Scand.*, 1938, 45, 1.  
 " " *Klin. Wschr.*, 1938, 35, 1222.
- Kirkegaard, A.,  
 Larsen, K.: *Acta Med. Scand. (Stockh.)*, 1942, 110, 510.
- Kleiner E.,  
 Treuring, St.: *Dtsch. med. Wschr.*, 1936, II, 1716.
- Knoll, W.: *Fol. haemat.*, 1932, 47, 201—19.
- Krüger, R.: *Dtsch. med. Wschr.* 1933, 59.  
 " " " " 1938, 1855.
- Kühn, Ingb.: *Dissertation*, Bonn, 1939.
- Leeuwenhoek,  
 A. v.: *Ontledingen en Ontdekkingen*, Ed. Boutesteyn,  
 Leiden, 1686.
- Lehndorff: *Schweiz. med. Wschr.*, 1934, 14.
- Lepel, G.: *Dtsch. Arch. klin. Med.*, 1937, 180, 341—50.
- Lestoquard, F.,  
 Ekrem, J.: *Rev. vet.*, 1932, 84, 11—17.
- Lippmann, A.: *Med. Welt* 1933, 19, 663—65.
- Lloyd-Jones: *The Lancet*, 1920.
- Löwy: *Klin. Wschr.*, 1925, 17.
- Luckner, H.,  
 Tilger, F.: *Z. exper. Med.*, 1936, 99, 126.
- Maier, Hch.,  
 Schuh, I.: *Med. Welt*, 1937, 456—58.
- Malamos: *Dtsch. Arch. Klin. Med.*, 1934, 177, 209.
- Mark, F. v. d.: *Med. Welt*, 1937, 41—44.
- Mayer, G.: *Z. exper. Med.*, 1940, 108, 260—74.
- Mc Glone: *Am. Journ. Exp. phys.*, 1925, 15, 253.
- Menck, F.: *Dissertation*, Göttingen, 1932.
- Meyerstein: *Münch. med. Wschr.*, 1932, 79, 1312—14.
- Millar: *Quart. Journ. Exp. Phys.*, 1925, 15, 253.  
 " *Proc. Royal Soc. of London*, 1926, 99B., 264.
- Minoton N.: *Journ. Amer. med. Assoc.*, 1926, 87, 740.
- Mogensen E.: *Ungeskr. Laeg.*, 1938, 100, 19.
- Naegeli: *Blutkrankheiten und Blutdiagnostik*, 1931, 1934.
- Napier, Sankaran,  
 Swaaroop,  
 Narasimha Rao: *Indian J. med. Res.*, 1939, 27, 253—78.
- Norris, Ch. H.: *J. cellul. a. comp. Physiol.*, 1939, 14, 117—133.
- Ohno, M.: *Pflüger's Archiv*, 1923, 2101, 376.
- Olef: *The Journ. of Maine med. Assoc.*, 1932, 23, 11—12.
- Oluso Gisevius: *Pflüger's Archiv*, 1930, 210, 315.
- Opperman: *Tierärztl. Rdsch.*, 1932, 38, 791.
- Osajima: *Nagasaki Igakkai Zassi*, 1939, 17, 1917—66.
- Otto: *Med. Klin.*, 1935, 50.
- Parker: *J. Labor. a. clin. Med.*, 1929, 14, 663.

- Parker, Lewis,  
McGhee: *J. Labor. a. clin. Med.*, 1929, 14, 664.
- Petrowa: *Dissertatie*, München 1932.
- Pfuhl: *Z. Anat.*, 1940, 110, 634—44.
- Ponder: *Proc. Royal Soc. B.*, 1922, 94, 102.  
" *Quart. Jnl. Exp. Physiol.*, 1925, 15, 235.  
" *British Jnl. Exp. Biology*, 1929, 4, 387.  
" *Quart. Jnl. Exp. Physiol.*, 1930, 20, 20.
- Ponder, Millar: *Quart. Jnl. Exp. Physiol.*, 1924, 14, 67.
- Ponder, Price: *British Jnl. Exp. Biology*, 1929, 4, 427.
- Ponder, Saslow: *Quart. Jnl. Exp. Physiol.*, 1929, 29, 319—28.
- Ponder, Yeager,  
Charipper: *Quart. Jnl. Exp. Physiol.*, 1928, 19, 181.
- Price-Jones: *British Med. Jnl.*, 1910, 1418.  
" *Jnl. Pathol. a. Bact.*, 1920, 22, 371.  
" " 1921, 24, 326.  
" " 1929, 25, 487.
- Pijper: *The medic. Jnl. of South Africa*, 1919.  
" *South African med. Record*, 1919.  
" *South African med. Jnl.*, 1919.  
" *The Lancet*, 1924, 367.  
" *South African med. Jnl.*, 1925.  
" *Brit. Jnl. Exp. Biology*, 1929, 6, 427.  
" *South African med. Jnl.*, 1929.  
" *Fol. haemat.*, 1929, 38, 320—38.  
" *Klin. Wschr.*, 1934, 1, 62—63.
- Radeff: *Wiener tierärztl. Wschr.*, 1932, 19, 712—15.
- Rassin: *Atti Soc. med. chir. Padova ecc.*, 1938, 16, 521—34.
- Roller, Reuss: *Klin. Wschr.*, 1938, 17, 990.
- Sallweg: *Dissertatie*, Frankfurt a. M. 1936.
- Sander, Tooney: *Am. Jnl. Dis. Childr.*, 1931, 41, 823.
- Schalm: *Acta med. Scand. (Stockh.)*, 1938, 93, 512—25.  
" *Fol. haemat.*, 1939, 63, 34—84.
- Schäper: *Z. Tierzüchtung*, 1932, 24, 449—96.
- Schilling: *Das Blutbild*, Leipzig 1933.
- Schittenhelm: *Lehrb. d. inn. Med. von Borgmann*, 1934, II.
- Schmidt—Lange,  
Schreck: *Münch. med. Wschr.*, 1937, 886.
- Schmitt: *Dissertatie*, Hannover, 1932.
- Schmoll: *Pflüger's Archiv.*, 1931, 227, 160.
- Schulten: *Münch. med. Wschr.*, 1930, 77.  
" *Dtsch. Arch. inn. Med.*, 1930.  
" *Dtsch. Arch. Klin. Med.*, 1931, 172.  
" *Zbl. inn. Med.*, 1933.

- Schulten,  
 Malamos: Nordwestd. Kongr. inn. Med. Hamburg, 1932.  
 Segä: *Balneologie*, 1938, 5, 56.  
 Seyderhelm: *Dtsch. Med. Wschr.*, 1924.  
 Sörensen: *Act. Med. Scand. (Stockh.)*, 1927, 66.  
 Stepp: Lehrbuch d. inn. Med. von Bergmann, 1934, I,  
 Swammerdam: *Biblia Natura*, Ed. Boerhaave, Leiden, 1737.  
 Symons: *S. Afr. Jnl. med. Science*, 1939, 4, 18—30.  
 Vaublair. Masius: *Microcythemie*, Brussel, 1871.  
 Viehweg: *Dissertatie*, Leipzig, 1932.  
 Vonwiller: *Klin. Wschr.*, 1929, 8, 817—820.  
 " *Klin. Wschr.*, 1929, I, 817—20.  
 Van Walsem: *Geneesk. Gids*, 7, 42, 957.  
 " *Zschr. f. mikr. u. f. mikr. Techn.*, 1929, 46, 258—  
 269.  
 Widäl: *Bull. mem. Soc. med. hôp.*, 1907.  
 Wiechmann, Schürmeyer: *Dtsch. Arch. Klin. Med.*, 1925, 146, 362, 370.  
 Witte: *Dissertatie*, Berlin, 1942.  
 Young: *Miscellaneous Works*, 1855, 343.
-

## INHOUD.

|   |    |
|---|----|
| INLEIDING . . . . .   | 1  |
| § 1 Vorm van de erythrocyten . . . . .  | 1  |
| § 2 Nauwkeurige meting . . . . .  | 2  |
| § 3 Klinische waarneming . . . . .  | 6  |
| HISTORISCH OVERZICHT  |    |
| § 4 Van Leeuwenhoek 1673 . . . . .  | 9  |
| § 5 Young 1823 . . . . .  | 10 |
| § 6 Price-Jones 1910 . . . . .  | 10 |
| § 7 Pijper 1919 . . . . .   | 11 |
| § 8 Bock 1933 . . . . .   | 13 |
| § 9 Nieuwe methoden . . . . .   | 14 |
| VRAAGSTELLING   |    |
| § 10 Hoe wordt de erythrocyt op vergelijkbare wijze<br>waargenomen? . . . . .                             | 16 |
| § 11 Hoe groot worden de erythrocyten der huis-<br>dieren gemeten? . . . . .                              | 18 |
| § 12 Bestaat de mogelijkheid tot waarneming van kli-<br>nische verschillen? . . . . .                     | 19 |
| § 13 Heeft de verbeterde methode Pijper nog be-<br>staansrecht tegenover de moderne apparatuur? . . . . . | 20 |
| § 14 Op welke fysieke grondslagen berust de zgn.<br>halometrische of diffractiemethode? . . . . .         | 21 |
| METHODIEK   |    |
| § 15 Oculairschroefmicrometrie en microprojectie-<br>methode . . . . .                                    | 22 |
| § 16 Halometrie . . . . .   | 24 |
| § 17 Eigen methoden . . . . .   | 31 |



## EIGEN WERK

|  |   |    |
|--|---|----|
| § 18                                       | Vervaardiging van betrouwbare bloedpreparaten   | 34 |
| § 19                                       | Verbetering van de apparatuur . . . . .   | 37 |
| § 20                                       | Onderzoek naar de oorzaken van afwijkingen en<br>het voorkomen daarvan . . . . .          | 40 |
| § 21                                       | Meting van een standaardpreparaat . . . . .   | 44 |
| § 22                                       | Bepaling van de constante . . . . .   | 47 |
| § 23                                       | Waarneembaarheid van kleine verschillen . .   | 49 |
| § 24                                       | Niet-ronde bloedcellen . . . . .  | 51 |
| § 25                                       | Voorwaarden aan het preparaat te stellen . .  | 52 |
| § 26                                       | Kunstmatige anisocytose . . . . .   | 55 |
| § 27                                       | Meting van de groote en de kleine cellen . . .  | 57 |
| § 28                                       | Ontwikkeling van een apparaat voor klinische<br>waarneming van den gemiddelden diameter   | 60 |
| § 29                                       | Vergelijking van de metingen volgens Bock en<br>Pijper met de eigen methodiek . . . . .   | 62 |
| § 30                                       | Onderzoek naar de physische grondslagen der<br>diffractiemethode . . . . .                | 64 |
| § 31                                       | Nieuwe methode voor de bepaling van den ge-<br>middelden diameter en de anisocytose . . . | 70 |
| BESLUIT . . . . .                          |   | 80 |
| SAMENVATTING . . . . .                     |   | 81 |
| ZUSAMMENFASSUNG . . . . .                  |   | 83 |
| LIJST VAN AFBEELDINGEN EN PLATEN . . . . . |   | 85 |
| LITERATUURLIJST . . . . .                  |   | 86 |

## STELLINGEN.

### I

De opvatting dat in vergelijking met onze huisdieren het menschelijk gebit weinig karakteristieke kenmerken heeft, omdat de mensch de kookkunst en andere bereidingsmiddelen te hulp heeft genomen, waardoor hij in staat is gemakkelijker te kauwen, is onaannemelijk.

### II

Bij vogels en zoogdieren komt in de longalveolen geen respiratorisch epitheel voor.

### III

Een negatieve thoraxdruk bestaat niet.

### IV

De prikkelgeleiding en de contractie van spieren zijn als twee gescheiden processen te beschouwen.

### V

De zgn. antinarcotische werking van de elektrische doorstroming van de hersenen, welke physicochemisch een narcotiseerende uitwerking vertoont, berust op een mechanische, vasomotorische beïnvloeding van de bloedsverzorging.

### VI

Voor de quantitative bepaling van de haemoglobine is de Scandinavische methode met de Sicca haemometer te verkiezen boven de klassieke Sahlimethode.

## VII

Aan een systematisch onderzoek van de consumptiemelk op het voorkomen van levende tubercelbacillen en tuberculeus ultravirus bestaat een nog niet vervulde behoefte.

## VIII

De veel verbreide meening, dat alcohol reeds bij een gering percentage desinfecteerend zou werken, is onjuist.

## IX

Bij het exanthema pustulosum van het rund spelen hygiëne en fouten in de voeding een rol.

## X

Bij het verblijf in gebieden met protozoaire ziekten moet naast de bestrijding van de overbrengers, gestreefd worden naar een beschuttende enting met levend virus, welke zonder den behandelde ziek te maken, door het opwekken van pré-munitie tegen besmettingsgevolgen beschermt.

## XI

Een nader onderzoek naar de overbrenging van inheemsche infectieziekten door insecten is noodzakelijk wegens het onvoldoende beschikbaar zijn van experimenteele gegevens.

## XII

De bestrijding van Strongylidosis bij het paard moet niet uitsluitend bestaan in het behandelen der zieke dieren, maar moet vooral gericht zijn tegen de parasietendragers.

### XIII

De stelling, dat verworven eigenschappen erfelijk zouden zijn, is in zijn algemeenheid onjuist en dient te worden beperkt tot die verworven eigenschappen, welke berusten op een verandering in de kiemcellen van de betrokken individu.

### XIV

Meer dan tot dusverre gebruikelijk was dient de behandeling van de individueele dieren in West-Europa door maatregelen ten gunste van de verbetering van den algemeenen erfelijken grondslag van den dierenstapel in het Europeesche gebied te worden vervangen.

---











