

Bijdrage tot de Diagnostiek.*)

(Gemaakte fouten in de behandeling volgens Buckley.)

F. DUIJVENSZ.

Mijnheer de Voorzitter, Dames en Heeren,

Een poosje geleden kwam een collega met eenige rood-gekleurde watjes tot mij en deed volgend verhaal: „Eene patiënte met eenen diep gecariëerden middelsten bovensnijtand verzocht mij dezen te behandelen. Na de caviteit volgens de regelen te hebben geprepareerd sloot ik, daar de pulpagangraeneus vervallen was, een watje met tricresol-formalin in den tand in.

Eenige dagen later nam ik dit watje weg en sloot na het wortelkanaal oppervlakkig een weinig te hebben vergroot, op nieuw tricresol-formalin in.

In de hierop volgende zitting nam ik de tricresol-formalin-tampon uit den tand weg en bracht toen, daar het wortelkanaal nauw was, direct eenen droppel zwavelzuur in de caviteit om die met een tantalbroach in het wortelkanaal op te pompen.

Tot mijnen schrik bemerkte ik toen dat de tand plotseling rood begon te verkleuren. Met een watje trachtte ik zoo spoedig mogelijk het roode vocht weg te vegen, maar de vloeistof kwam mij als een stolsel voor, zoodat wegvegen maar voor een heel klein gedeelte gelukte.

Uitspuiten met koud of warm water, met physiologische

*) Voordracht en demonstratie gehouden in de October-vergadering van het Tandheelkundig Genootschap. 1913.

zoutoplossing enz. alles hielp niets. Daar de caviteit in den tand ook zeer groot was, durfde ik uit vrees den tand te verzwakken, nog niet meer weg te nemen.

Aangezien de verkleuring ontstaan was na het inbrengen van zwavelzuur, beproefde ik welke inwerking kaliloog hebben zou, doch wederom zonder eenig resultaat. Verschillende andere chemicaliën heb ik beproefd, doch steeds was het effect nihil.

Toen kwam bij mij de gedachte op dat ik misschien met de broach toch te diep was gegaan of dat er reeds eene wortelperforatie was waardoor er bloed in het wortelkanaal was gekomen.

Aldus was ongeveer het verhaal van den collega en deze kwam nu tot mij met de vraag of ik misschien eene methode wist om de roode kleur weer te doen verdwijnen. Hij bracht mij wat watjes en partikeltjes die hij uit den tand weggenomen had alsook het watje met tricresol-formalin hetwelk zoo juist uit den tand genomen was.

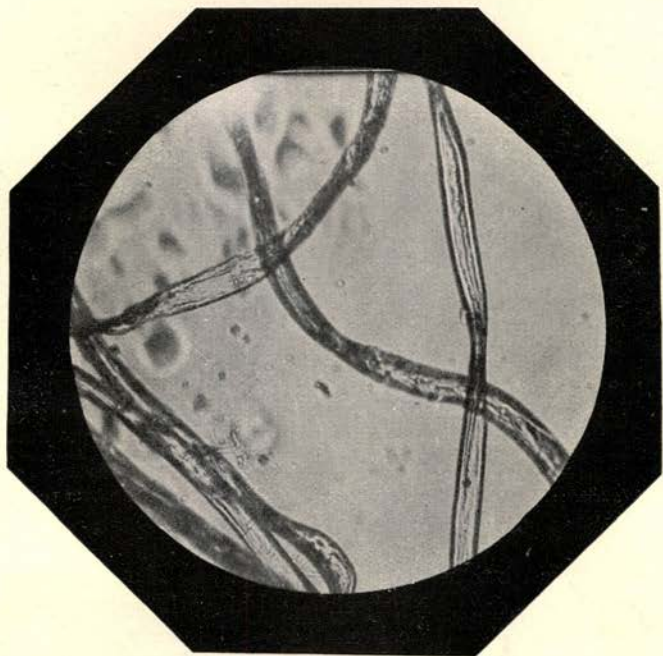
De vragen die dus voor mij lagen waren: Is in die roode kleur bloed aanwezig, of is er een chemisch product ontstaan met eene roode kleur zonder aanwezigheid van bloed, dus is er louter een chemisch product aanwezig door de ingebrachte chemicaliën? Vervolgens waren de ingebrachte chemicaliën wel die welke hij zeide te hebben gebruikt en zoo ja, waar lag dan de fout?

Ofschoon ik zelf ook vaak de tricresol-formalin met de daaropvolgende zwavelzuur-methode had gebruikt, was mij nog geen enkel maal zoo iets gebeurd.

Ik begon nu mijn onderzoek met het watje met tricresol-formalin hetwelk het laatst uit het wortelkanaal weggenomen was. Primo stelde ik mij nu de vraag: „heb ik hier werkelijk zuivere watten”? Aangezien de voor het onderzoek aanwezige voorraad niet bijzonder groot was, moest er met de kleinste hoeveelheden zoo zuinig mogelijk gewerkt worden. Ik trok een paar vezeltjes uit het wattenpropje en heb deze

eerst in water, later in alcohol zooveel mogelijk gezuiverd om ze ten slotte nogmaals voor ontvetting in eene 10% sodaoplossing te koken om ze later met gewoon water weer uit te wasschen. Langs mikroskopischen, mikrochemischen en chemischen weg wilde ik probeeren uit te maken of wij hier inderdaad met zuivere watten te doen hadden.

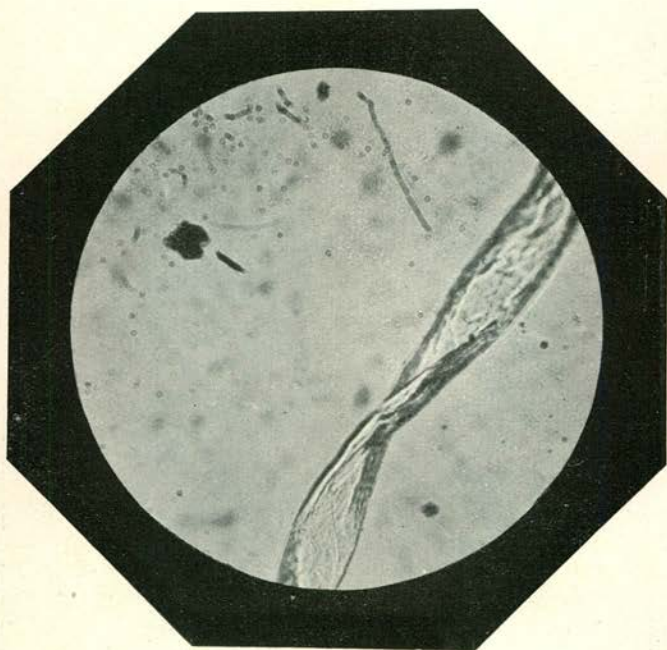
Watten wordt, zooals wij weten, gewonnen uit de vruchtpluis van den katoenboom. Voor ons gebruik meest die van *Gossypium Barbadense*. Deze vruchtpluis wordt machinaal van het zaad losgescheurd om daarna door zoogenaamde „koorden” te worden gekamd. Hierop worden de wattenvezels met loog en water gekookt om ze te ontvetten.



FIGUUR 1.

Watten: zwakke vergrooting. Kurkentrekkerachtige omdraaiing der vezels.

Mikroskopisch gezien gelijkt eene wattenvezel op een band, is vlak en hier en daar kurkentrechterachtig gedraaid. Zelden komen deze kurkentrekkerachtige draaiingen over de geheele lengte der vezel voor (Zie Fig. 1 en 2). Het meest vindt men ze in het midden der vezels. Zoo eene enkele



FIGUUR 2.

Wattenvezel bij sterke vergrooting. Zeer duidelijk is hier de structuur en de kurkentrekkerachtige omdraaiing te zien.

vezel is van buiten door de cuticula, een zeer fijn huidje, begrensd. Op deze, de geheele vezel als gesloten huid bedekkende laag volgt de celwand welke bijna uitsluitend uit cellulose bestaat. Nu komt de meer of minder met eiwitstoffen doortrokken binnenhuid. Het eigenlijke celkanaal is

deels met eiwitstoffen gevuld. In dwarse doorsnede zijn de wattenvezels meest eliptisch, soms ook niervormig.

De structuur treedt duidelijker op den voorgrond indien wij de vezels na ze vooraf een half uur in 10% sodaoplossing te hebben gekookt en zorgvuldig met water te hebben nagewassen, kleuren met safranin.

Voor de kleuring neemt men wat verdunde safraninoplossing en verwarmt deze eerst iets alvorens de wattenvezels er in te doen. In water wordt hierop goed nagewassen en de wattenvezels zooveel mogelijk gedroogd. In canadabalsem kan men dan zoo een paar gedroogde vezeltjes insluiten. Op deze wijze differentieeren zich de cuticula, cellulose en eiwit heel mooi.

Gossypium Barbadense heeft eene grootste doorsnede van 12—22 μ . De doorsnede der wolsoorten wisselt van 12—42 μ .

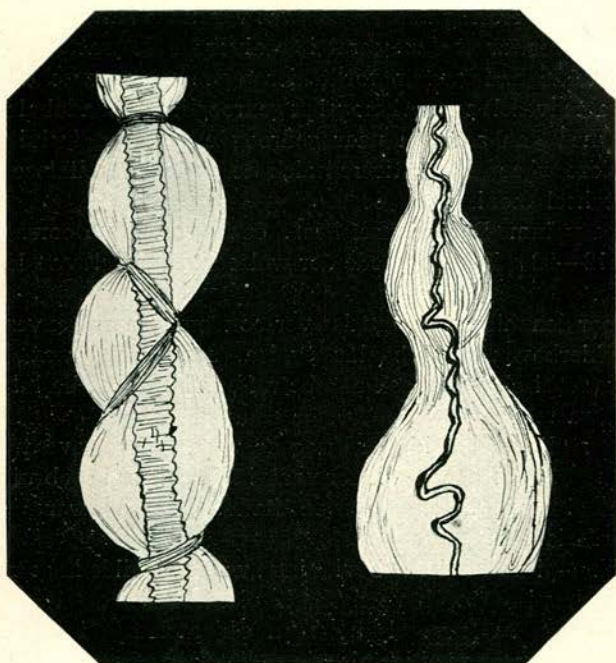
Door den mikroskoop gezien vertoonden onze wattenvezels alle hierboven aangehaalde typica, zoodat wij wat het mikroskopisch onderzoek aan betreft, wel durfden besluiten tot „watten”.

Voor alle zekerheid werd nog nagegaan of wij eventueel niet met het ofschoon minder vaak in de chirurgie gebruikte „pluksel” van linnen te doen hadden, doch over deze differentiaal diagnose straks.

Mijne mikroskopische bevinding „watten” wilde ik gaarne mikrochemisch nog bevestigen. Ik plaatste hiertoe een paar gezuiverde wattenvezels op mijn objectglasje in water, bedekte ze met een objectglasje en liet toen tusschen beiden eenen druppel koperoxydammoniak vloeien. Dit koperoxydammoniak bereidt men het best door koperspaantjes in een *open* fleschje met 17% ammoniak (het in onze pharmacopee voorkomende ammoniak is slechts 10%) een paar dagen te laten staan totdat eene donkere blauwe vloeistof verkregen is.

Kijkt men nu door den mikroskoop naar de wattenvezels als koperoxydammoniak toevloeit dan ziet men volgend

typisch verloop. (Zie Fig. 3). De wattenvezels draaien zich onder sterke verkorting snel op. Eene dwarsrimpeling der cuticula vindt plaats, dit barst zelfs op talrijke plaatsen. Op de niet gebarsten plaatsen schuift het zich saâm tot ringen. De inwendige celwand biedt wat meer weerstand,



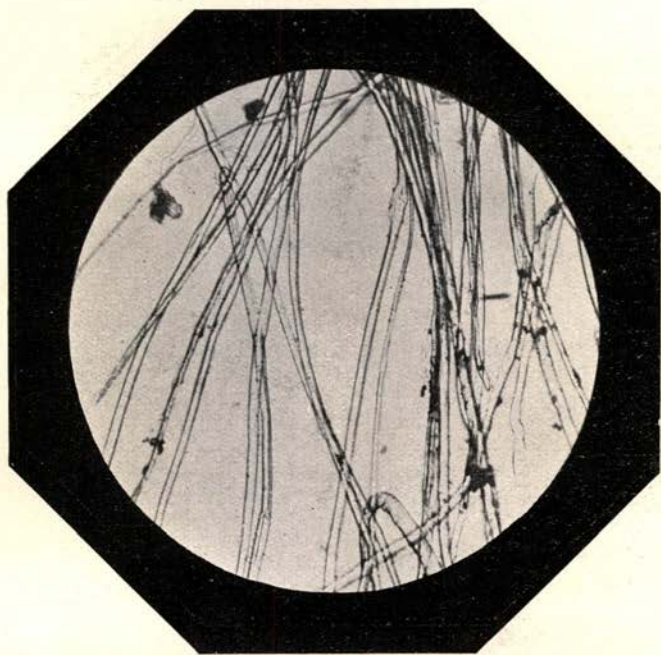
A FIGUUR 3. B

- A. Wattenvezel in koperoxydammoniak opgezwollen.
 B. Fragment van eene linnenbastcel na inwerking van koperoxydammoniak.

maar schrompelt ook en er ontstaan cellulose bandjes die tusschen de cuticularingen te voorschijn treden. De cellulose wand en de inwendige binnenhuid vervloeien geheel zoodat slechts cuticula en eiwit overblijven. De watten heeft nu

eenen vorm als tonnetjes die naast elkaar liggen. Onze wattenvezels gaven dit resultaat.

Voor het chemisch onderzoek kan men de proef nog verder doorzetten doordat bij langdurige inwerking van eene geconcentreerde koperoxydammoniakoplossing de watten in oplossing gaan. Dit gebeurde bij onze wattenvezels.



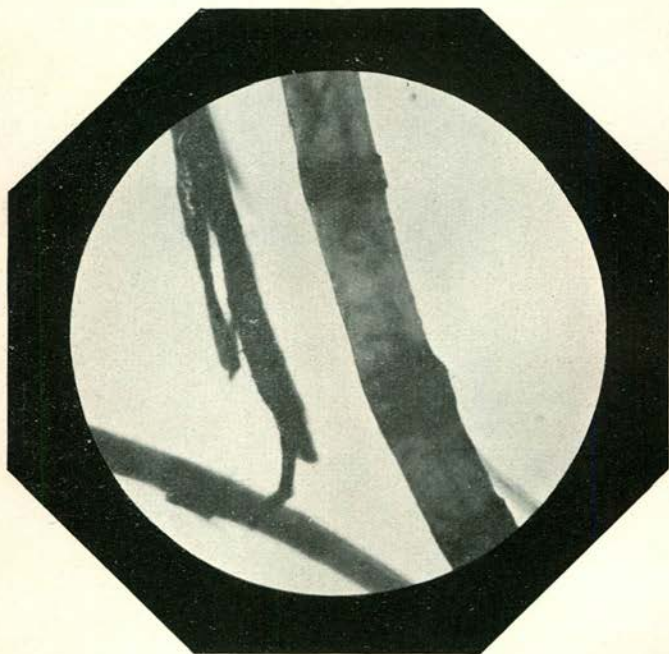
FIGUUR 4.

Linnenvezels. Zwakke vergrooing.

Mikroskopische, mikrochemische zoowel als chemische proeven toonden in ons geval aan dat wij met watten te doen hadden.

Zoals hierboven gezegd wilden wij ook nog even op linnenvezels onderzoeken (Zie Fig. 4). Deze meest uit zuivere cellu-

lose bestaande vezels zijn vlak, bandvormig maar *niet* gedraaid. De doorsnede kan van 12—26 μ belopen maar gaat meest van 15—17 μ . De lengte kan van 4—66 m.m. zijn. De vezel is glad en overlans gestreept, dikwijls met verschuivingen, die zich als dwarse strepen voordoen, zoodat men



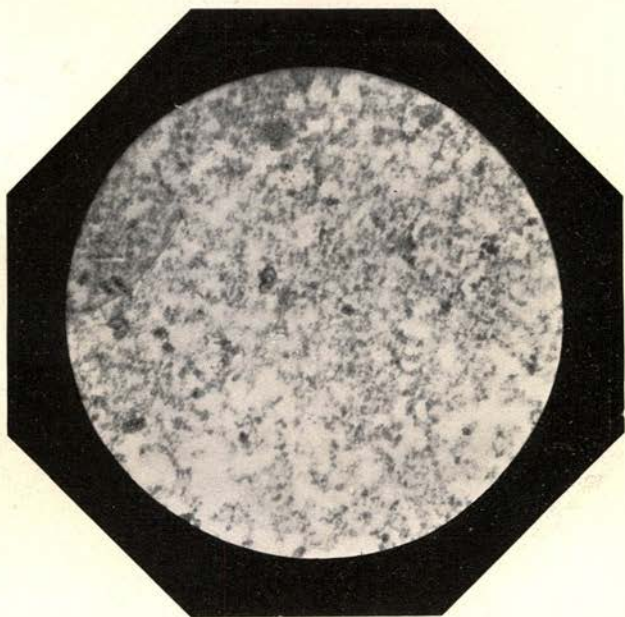
FIGUUR 5.

Linnenvazels. Sterke vergrooting. Duidelijk treden de inschuivingen welke zich als breede dwarsstrepingen voordoen te voorschijn.

den indruk krijgt, alsof de vezel uit verschillende geleden is saamgesteld. Sterker treden deze dwarse inschuivingen op den voorgrond, als men de vezels met Joodchloorzink (Chloorzink 20, Jodkalium 6.5, Jodium 1.3, water 10.5) behandelt.

Behandelt men ze met koperoxydammoniak, dan zwelt de wand der vezels sterk aan. Er komen blaasachtige opzwellingen en rechte of schuine parallelstrepen. (Zie Fig. 5).

Het voornaamste verschil tusschen watten en linnenvezels bestaat voornamelijk in de draaiing en afplatting der



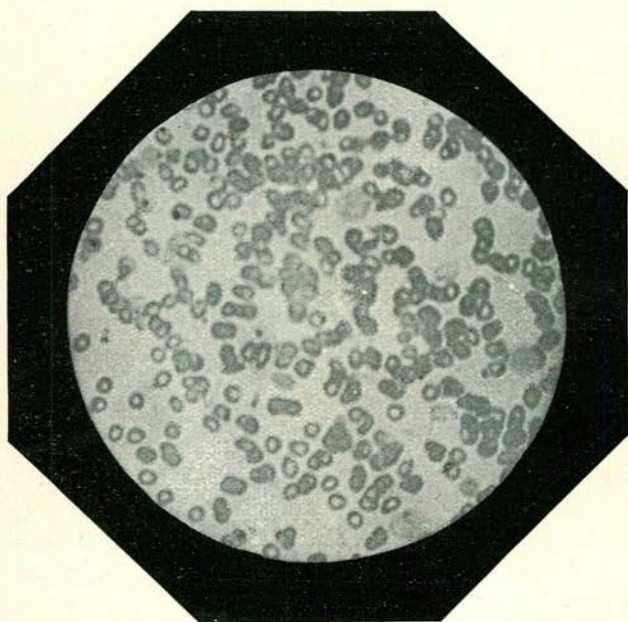
FIGUUR 6.

Structuurlooze massa verkregen uit het watje, hetgeen later bleek trieresol formaline en zwavelzuur te zijn. Zelfde vergrooting als figuur 7.

vezels, in het voorhanden zijn der cuticula, in gebrek aan verschuivingen en in de korreling der vezels.

Waar wij nu konden aannemen met watten te doen te hebben, moesten wij verder uitmaken, wat de roode verkleuring was en lag ons allereerst de vraag voor, „is het bloed?”

Een weinigje van de roode massa die de collega uit den tand had gekrabd, werd met wat physiologische zoutoplossing op een dekglasje gebracht en onder den mikroskoop bekeken. Het gaf allermint het aspect van bloedlichaampjes (Zie Fig. 6). Tot vergelijking nam ik toen een met bloed bevuelt watje en deed hiermee volgende experimenten.



FIGUUR 7.

Mikroskopisch preparaat van bloed verkregen uit een met bloed bevuelt watje.
Zelfde vergrooting als figuur 6.

Uit het bloedwatje werden een paar vezels getrokken en deze in eenen druppel physiologische zoutsolutie op een objectglasje uitgedrukt, met een dekglasje bedekt, en nu ziet men mikroskopisch tal van roode en witte bloedlichaampjes. (Zie Fig. 7).

Zijn de bloedwatjes reeds ouder, dan trekt de physiologische zoutsolutie weinig meer uit. Beter is dat men dan geconcentreerd kaliloog gebruikt of de *Pacini*'sche vloeistof welke bestaat uit sublimaat 1, keukenzout 2, Glycerine 100, water 300.

Wil men van het bloed een blijvend preparaat maken, zoo kan men na fixeering het op verschillende wijze kleuren. Heirbij gaat men als volgt te werk. Men laat het bloed luchtdroog worden en fixeert dan in methylalcohol door het dekglasje waaraan het bloed zit op den bodem van een Petrischaaltje te plaatsen en met methylalcohol te overgieten. In den alcohol blijft het \pm 5 minuten liggen en wordt vervolgens tusschen filtreerpapier gedroogd. Men kan ook fixeeren in Aceton volgens *Jagic* of met droge hitte op 120° volgens *Ehrlich*. Heeft men het preparaat gefixeerd, dan kan volgens verschillende methoden gekleurd worden.

Het preparaat, hetwelk gij straks onder den mikroskoop zult zien kleurde ik naar *Giemsa* met methyleenazuurhoudende methyleenblauweosin. (Verkrijgbaar bij *Grübler* in Leipzig). Het luchtdroge preparaat wordt 2 minuten lang in absolute alcohol gefixeerd, dan kleuren 10—30 min. in de verdunde (1 druppel kleurstof op 1 ccm. water) kleurstof, steeds versch direct voor de kleuring te bereiden. Daarna 5—10 minuten lang grondig in water afspoelen, drogen tusschen filtreerpapier (niet boven de vlam) en insluiten in canadabalsem. De kernen zijn hiermee blauwrood, de basophile granula der leucocyten en de roode bloedlichaampjes blauwachtig, de eosinphile rood, de neutraphile roodviolet, de bloedplaatjes purperrood gekleurd, het basophile protoplasma der lymphocyten diep-blauw.

Ik maakte ook nog een preparaat volgens *Ehrlich*. Triacidkleuring, maar daar op al deze wijzen van de roode stof welke kwam van de watjes die ik van den collega kreeg, niets te voorschijn kwam wat op bloed geleek, meende ik mikroskopisch aan te mogen nemen, dat het *geen* bloed was.

Om dit resultaat chemisch te bevestigen, experimenteerde ik aldus verder. Het bloedwatje bracht ik in aanraking met een druppeltje waterstofsperoxyd en plotseling had een opbruischen plaats. In de gerechtelijke bloedonderzoeking wordt deze methode vaak gebruikt. Wanneer b.v. een schilder verdacht wordt bloed aan zijne jas te hebben, maar deze jas ook tevens vol roode verfvlekken zit, zoo penseelt men de roode vlekjes met waterstofsperoxyd; heeft er geen opbruischen plaats, dan is het verf, bruischt het daarentegen wel op, zoo kan het bloed zijn; het overtollige waterstofsperoxyd wordt bij een opbruischen spoedig weggenomen en het stukje goed verder op bloed onderzocht.

Bracht ik waterstofsperoxyd in aanraking met de roode kleurstof, van het watje dat ik van onze collega kreeg, dan vond er geen opbruischen plaats, waardoor het verdacht dat dit geen bloed kon zijn versterkt werd.

Nu beproefde ik de guajacproef. Los guajac in alcohol van 96 % op tot er eene lichtgeel gekleurde vloeistof ontstaat.

Neem een klein met bloed bekleet wattenvezeltje, plaats dit op een stukje filtreerpapier, doe er een druppel water op, vouwt het stukje filtreerpapier nu zoo om, dat ge zooveel mogelijk bloed uit het vochtige watje in het filtreerpapier uitdrukt. Op het vochtig geworden deel van het filtreerpapier doet men nu eenen druppel geozoniseerde terpentijn. Was er bloed in het watje aanwezig, zoo treedt direct eene blauwe verkleuring op.

Bij ons bloedwatje kregen wij ook dit resultaat, maar niet met het deel van het watje dat de collega bracht.

Eene nog scherper proef dan die met guajac is de Benzidineproef.

Drukt weer, zooals hierboven beschreven, het watje met water tusschen filtreerpapier uit. Los wat Benzidine in ijsazijn op. Druppel een weinig van deze oplossing op de vochtige plek van het filtreerpapier en voegt hieraan vervolgens eenen druppel waterstofsperoxyd toe, *Direct* moet er eene blauwe verkleuring optreden. *Ascarelli* toonde

hiermede nog bloed aan bij eene verdunning van 1—80.000. De blauwe verkleuring ontstaat daardoor, dat de ijzerhoudende bloedkleurstoffen de hoedanigheid hebben als katalisator (ozonoverdrager) te werken bij gelijktijdige aanwezigheid van peroxydhoudende reagentiën.

Mag ik als aardigheid U een voorbeeld uit de praktijk aanhalen, waarbij bovenstaande proef mij onlangs te pas kwam?

Bij een mijner patiënten was in het buitenland eene kies tijdelijk behandeld. Behalve de wortelkanalen vond ik ook nog een boorkanaal waarin een watje zat, hetwelk heel flauwtjes eene verkleuring toonde. Ik vond het van belang te weten of deze verkleuring misschien bloed kon zijn, omdat dit dan op eene wortelperforatie zou kunnen wijzen. Ik deed de Benzidine-reactie op bloed en deze was positief. Eerst bij nauwkeurig onderzoek met een heel fijn naaldje bleek dat het boorkanaal aan het einde geperforeerd was, maar ook zoo weinig, dat de punt van het fijnste naaldje maar even door de kleine perforatie ging.

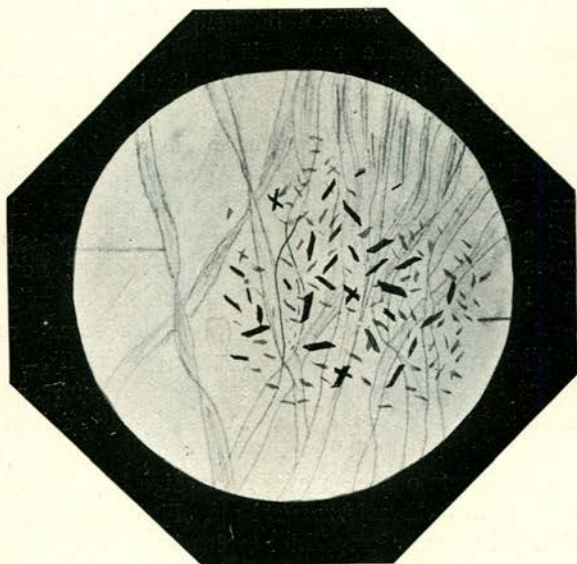
K o s s a geeft ons eene andere aardige bloedproef. Men trekt uit het bloedwatje zooveel mogelijk bloed uit, totdat men 5 ccm. der verdunde bloedoplossing heeft. Dit wordt met 5 ccm. alcohol 90 % gemengd en met 2,5 ccm. chloroform zwak geschud. Na afzetting der lagen is het bloed aan de oppervlakte der chloroformlaag in kleine vlokken neergeslagen.

De oplossing uit ons controle-bloedwatje gaf deze reactie wel, die uit het andere watje niet.

Een der meest betrouwbare proeven op bloed is het aantoonen van Haeminkristallen (Zie Fig. 8). Het best doet men wanneer men als volgt te werk gaat.

Brengt op een dun horlogeglasje in het midden eenen druppel van het te onderzoeken bloedvocht, voegt hieraan nog eenen druppel gedestilleerd water toe en plaatst daarna het horlogeglasje op een waterbad om de vloeistof langzaam te laten verdampen en wel zoo lang dat eene droge vlek op het glasje achterblijft. Nu laat men het horlogeglasje

afkoelen en voegt dan bij de op het glaasje achtergebleven vlek eenen druppel ijsazijn, waarin een heel klein spoortje



FIGUUR 8.

Watje met Teichmann'sche Haeminkristallen.

keukenzout of wel inplaats van dit laatste eenen druppel van de vloeistof van N i p p e welke bestaat uit:

Chloorkalium 100 mgr.;

Joodkalium 100 mgr.;

Broomkalium 100 mgr.

Acid acetic. 100 gr.

Met een glasstaafje roert men zoo lang de N i p p e'sche vloeistof met het vlekje door elkaar, dat van de vlek niets meer te bespeuren, alles in de N i p p e'sche vloeistof opgelost is. Nu plaatst men het horlogeglasje opnieuw op het waterbad en dampst weer in tot eene droge vlek achtergebleven is. Na afkoeling vindt men bij plaatsing van het horlogeglasje

onder den mikroskoop de *Teichmann'sche* Haeminkristallen.

Heeft men oude bloedsporen op linnen of watten te onderzoeken, zoo trekt men eerst zooveel mogelijk bloed met ijsazijn op het horlogeglasje uit, voegt er dan eenen druppel water bij, dampst weer in en behandelt verder als boven.

Van ons bloedwatje gelukte het de Haeminkristallen te verkrijgen, van het andere echter niet.

Spectroscopisch bloedonderzoek.

Laat men door eene verdunde waterige oplossing van bloed licht vallen en onderzoekt dit laatste spectroscopisch, zoo bemerkt men in het geelgroene veld tusschen D. en E. van *Fraunhofer* de karakteristieke absorptiestreep van het oxyhaemoglobine spectrum.

Bij oude bloedsporen lost men wat bloed in Pyridin op en voegt een paar druppels zwavelammonium hier aan toe, dan verkrijgt men spectroscopisch het haemochromogeen spectrum. In het spectrum geeft dit twee in het groen liggende strepen, waarvan degene die naar het geel ligt de meest intensive is.

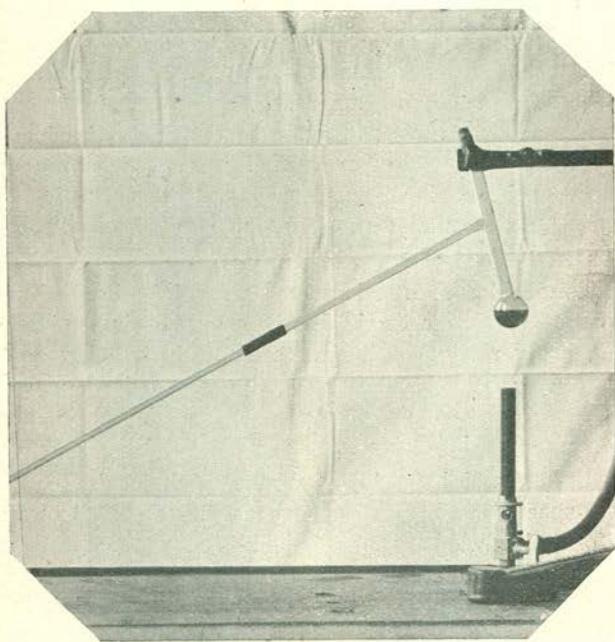
Ook met weinig vloeistof op een dekglaasje kan men mikro-spectroscopisch de spectra aantoonen. Een aftreksel van ons bloedwatje toonde duidelijk de haemochromogeen spectra, van het andere ons ter onderzoek gegeven watje verkregen wij die niet.

Het spectroscopisch onderzoek geeft wel de meest nauwkeurige uitkomsten, toont het de bloedspectra aan, zoo mogen wij ook met absolute zekerheid tot „bloed” concluderen.

Waar nu de watjes welke de collega mij gaf steeds een negatief resultaat gaven op bloedonderzoek, ons contrôle bloedwatje echter alle bloedreacties toonde, meen ik te mogen besluiten dat de roode verkleuring aan de watjes welke mij ter onderzoek waren gegeven geen bloed zat.

Om te resumeeren weten wij dus op het oogenblik drie dingen:

- 1°. De watten is werkelijk watten.
- 2°. Het is geen linnenpluksel
- 3°. De roode verkleuring der watten is niet door bloed veroorzaakt.



FIGUUR 9.

Eenvoudig destilleerapparaatje.

Er zijn natuurlijk nog tal van andere reacties maar degene die ik U hier heb gedemonstreerd zijn wel de meest eenvoudige, zoodat elk uwer ze ook direct kan uitvoeren; bovendien zijn zij talrijk genoeg om er een besluit uit te mogen trekken.

Behalve de watjes met de roode verkleuring kreeg ik zooals ik U zeide ook nog het laatste watje dat in de cavi-

teit een paar dagen ingesloten gezeten had n.l. het watje met tricresol-formalin. Dit ging ik nu op deze stoffen onderzoeken om na te gaan of werkelijk tricresol-formalin was gebruikt.

Te dien einde bracht ik een klein stukje van die watten in het kleinst verkrijgbare destilleerkolfje met een weinig phosphorzuur (geen water v. d. polymerie) en destilleerde nu over. Het destilleertoestel kan zeer eenvoudig zijn. Met een stukje slang verbindt men eene lange glazen buis aan het halsje van het destilleerkolfje. De dampen koelen op dien langen weg door de glazen buis voldoende af om als vloeistof uit het einde der buis te druppelen. Zie fig. 9.

Het spreekt van zelf dat de meest vluchtige stof in dit geval de formaline, het eerst over destilleert. Dat er werkelijk formaline aan het watje zat bewezen volgende reacties.

Het destillaat werd opgevangen in eene ammoniakale zilveroplossing (3 % zilvernitraatoplossing waaraan ammoniak toegevoegd is). Verwarmt men nu dit mengsel zachtjes (niet koken) in een reageerbuisje dan wijst de optredende reductie (grauw tot zwartworden der vloeistof) op aanwezigheid van aldehyd. Verwarmt men iets langer dan treedt vaak eenen zilverspiegel op. Bekijkt men het reageerbuisje dan aan de andere zijde dan ziet het er uit als eenen spiegel. Op deze wijze worden de in de oud-hollandsche tuinen zoo dikwijls aangetroffen tuinspiegels vervaardigd. De reactie met de uit het destillaat verkregen vloeistof bleek op formaline positief te zijn.

Vervolgens brachten wij eene door zwaveldioxyd (SO_2) ontkleurde fuchsine-oplossing bij onze over gedestilleerde vloeistof en de toen optredende violette verkleuring wees opnieuw op formaline.

Als derde proef deed ik volgend:

Het in water opgevangen formalin destillaat werd zachtjes gegoten op eene $\pm 5\%$ oplossing van phloroglucine in

natronloog. Op de grenslaag trad eene roode verkleuring op, als teeken dat formalin aanwezig was.

Als vierde proef de volgende:

Eenige druppels eener versch bereide oplossing van natrium nitro-prusid, en enkele druppels eener oplossing van Hydrochlorasphenylhydrazin aan eene formalinhoudende vloeistof toegevoegd en daarna eene overmaat van alkali geeft eene sterke blauwe verkleuring. Dit is eene buitengewoon mooie reactie en geeft zelfs nog positief resultaat bij enorm sterke verdunningen.

Vijfde reactie.

Vangt men formalinhoudend destillaat in ongekookte melk op en overgiet deze formaline-melk op sterk zwavelzuur, zoo treedt op de grenslaag een blauwe ring op.

Ons destillaat gaf ook in deze een positief resultaat.

Als laatste chemische proef nog volgende:

Op de op formaline te onderzoeken vloeistof laat men een horlogeglas zwemmen waarop zich eene oplossing bevindt van morphinsulfaat 0.35 geconcentreerd zwavelzuur 100— Het geheel wordt door een glazen klok bedekt. Na eenigen tijd kleurt de morphine-oplossing zich rosa tot donker blauw. De grens der gevoeligheid dezer reactie gaat zelfs 1 : 250000. Ook het resultaat van ons onderzoek op deze reactie was positief.

Zuiver chemisch waren de proeven dus steeds positief.

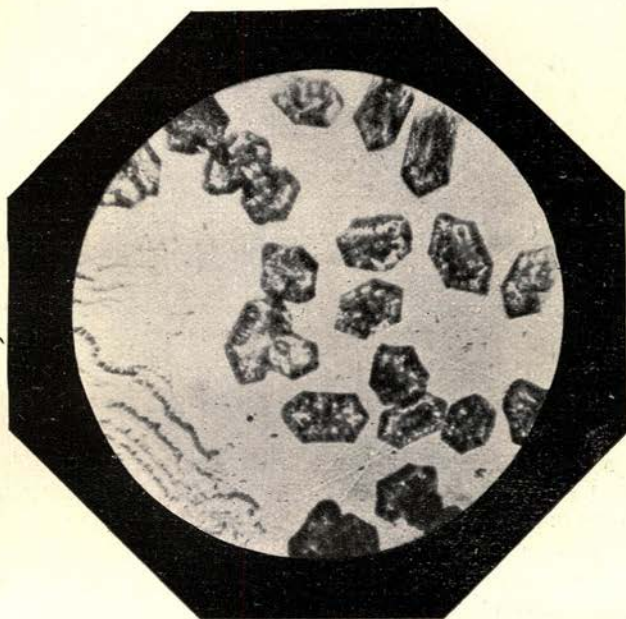
Mikrochemisch kunnen wij nog volgende proef doen, die vooral ook omdat Buckley hierop gewezen heeft, zeer interessant is. Met de formaline wil Buckley deels bereiken dat de bij de rotting ontstane ammoniakgassen zich met de formalin binden tot urotropin.

(Hexamethyleentetramin).

Op een dekglasje kunnen wij deze gedachtengang nabootsen en zoodoende tevens formalin aantoonen. Voegen wij

bij eene formalinhoudende vloeistof eenen druppel ammoniak dan vinden wij na het verdampen in de achteregbleven vlek, mikroskopisch prachtige urotropinkristallen. (Zie Fig. 10)

Ook in deze was ons onderzoek op formaline positief. Tal van goede formalinreacties zijn er natuurlijk nog,



FIGUUR 10.

Hexamethyleentetraminkristallen.

maar daar boven uitgevoerde chemische en mikrochemische reacties allen positief waren kunnen wij wel met zekerheid aannemen dat in het watje formalin zat.

Nogmaafs alles nagaande weten wij dus:

1°. wij hebben watten.

2°. wij hebben geen linnenpluksel.

3°. wij hebben geen bloed

4°. Er was formalin gebruikt.

Waar onze collega vertelde met forma-cresol Buckley te hebben gewerkt komt het er dus nu op aan in het tri-cresol-formalinwatje, cresol aan te toonen. Wij deden dit op volgende wijze.

Voegt men bij eene cresoloplossing ijzerchloride, zoo wordt de vloeistof blauw. Zoutzuur verhindert dit. De reactie met onze vloeistof is positief.

Voegt men bij eene cresoloplossing broomwater zoo krijgt men eene melkachtige vloeistof. Ons onderzoek duidt op eene positieve reactie.

Verhit men eene waterige cresoloplossing met salpeterzuur zoo krijgt men den eigenaardigen reuk van nitro-cresol.

Alle reacties waren met een positief resultaat bekrond. Het kwam er nu nog op aan of wij niet met phenol maar werkelijk met cresol te doen hadden, want alle carbolreacties zijn dezelfde als de hierboven voor cresol genoemde.

Willen wij nagaan of wij met phenol of cresol te doen hadden zoo doet men volgende reactie.

Voeg bij 10 ccm. van eene 2% vloeistof van cresol of carbol in water, 1 druppel anilin en 4 c.M³. natronloog, schudt flink en voegt er vervolgens 5 druppels waterstof superoxyd bij, schudt nog eens flink en doet er nu 15 druppels natrii hypochlorosi bij. Is cresol aanwezig, dan wordt de vloeistof blauw, is phenol aanwezig dan wordt zij rood.

Waar alle reacties op cresol positief waren mogen wij dus wel tot cresol besluiten.

Thans weten wij dus dat wij hebben:

1°. watten;

2°. geen linnenpluksel;

3°. geen bloed;

4°. formalin is gebruikt }

5°. cresol is gebruikt. }

Waar de collega mededeelde volgens C a l a h a n het wortelkanaal verder te hebben behandeld was het nu aan de orde na te gaan met welk zuur gewerkt was. De roode verkleuring in den tand en aan de watjes was bemerkt toen zuur toegepast werd. Ik nam dus een deel van een der roode watjes en liet dit in water zooveel mogelijk uittrekken. Met deze vloeistof reageerde ik. Blauw lakmoes werd rood gekleurd het reageerde dus zuur. Het kwam er nu nóg maar op aan te weten welk zuur dit was. De in de conserveerende tandheilkunde voor dit doel het meest gebruikte zuren zijn: zoutzuur, salpeterzuur, (koningswater) en zwavelzuur.

Op zoutzuur kan men reageeren door aan de vloeistof eene zilvernitraatoplossing toe te voegen. Is zoutzuur aanwezig dan krijgt men een witte neerslag van zilverchloride.

De reactie was negatief met zoutzuur was dus *niet* gewerkt.

Nu reageerde ik op salpeterzuur door bij de proefvloeistof het dubbele volume zwavelzuur te voegen. Overgiet men nu dit mengsel met eene versch gemaakte oplossing van ferrosulfaat, dan treedt als salpeterzuur aanwezig is op de grenslaag een donkerbruine kleuring op.

Daar echter ook deze reactie negatief was konden wij salpeterzuur eveneens uitsluiten.

Vervolgens werd op zwavelzuur gereageerd door de vloeistof aan te zuren met zoutzuur en vervolgens bariumchloride toe te voegen. Er ontstaat dan een weinig oplosbaar wit neerslag van bariumsulfaat.

Voegde men bij de vloeistof ioodacetaat, zoo krijgt men ook een melkweit neerslag van loodsulfaat, dat in verdund salpeterzuur onoplosbaar is maar in kaliloog gemakkelijk oplosbaar.

Daar deze beide reacties op zwavelzuur positief waren bleek dat zwavelzuur gebruikt was.

Nogmaals resumeerende weten wij dus, wij hebben:

- 1°. watten;
- 2°. geen linnenpluksel;
- 3°. geen bloed;
- 4°. formalin }
- 5°. cresol }
- 6°. zwavelzuur.

Nu ik wist dat dus de verkleuring wel ontstaan zou moeten zijn door eene combinatie van tricresol-formalin en zwavelzuur, deed ik van beide vloeistoffen wat in een reageerbuisje om te zien wat er zou gebeuren dat wil zeggen ik voegde aan de tricresol-formalin een beetje zwavelzuur en water (gelijke deelen) toe. Er gebeurde toen echter niets; de roode verkleuring bleef weg. Waarom treedt er nu geen roode verkleuring op was natuurlijk de vraag die direct bij mij opkwam.

Ik herhaalde nu de proef nog eens maar nam nu geen verdund zwavelzuur zooals C a l a h a n aangeeft, maar sterk zwavelzuur. Nauwelijks was een beetje sterk zwavelzuur aan de tricresol-formalin toegevoegd, of de geheele vloeistof kleurde zich rood en werd eene harsachtige massa.

Het interesseerde mij wat voor een product er nu wel ontstaan was, doch verschillende chemici die ik er naar vroeg konden mij hierop geen antwoord geven, wel kon met vrij groote zekerheid gezegd worden dat de rol die het formaldehyd bij de reactie in kwestie speelt, deze is, dat het sterk gecondenseerd wordt en dat dit condensatieproduct zich met een van de sulfo cresol zuren tot de waargenomen harsachtige massa verbindt.

Alleen dus bij verbinding met sterk zwavelzuur treedt de reactie in omdat wij dan een condensatieproduct krijgen.

De proefneming geeft nu zelve een antwoord op de vraag hoe het kwam dat wij eene zelfde verkleuring al niet vaker in de praktijk te zien kregen.

Er waren bij de behandeling fouten gemaakt; zoo was namelijk eerstens de tricresol-formalin niet uitgewasschen

nadat de tampon weggenomen was zooals Buckley aangeeft dat gedaan moet worden, ten tweede was er sterk zwavelzuur in plaats van verdund zwavelzuur gebruikt, zooals de collega bij navraag ook bevestigde.

Eenmaal wetende waardoor de verkleuring ontstaan was kwam het er nu nog op aan een middel te vinden om dit euvel te verhelpen. Het aspect en het kleverig aanvoelen van de roode massa in het reageerbuisje deden mij aan hars denken. Geheel empirisch denkende dat het hars was of ik het in harsoplossende vloeistoffen kon oplossen.

Met chloroform had ik niet het minste resultaat, daarom probeerde ik met aceton en nauwelijks was dit er aan toegevoegd of geheel het condensatieproduct ging in oplossing. Gezien dit resultaat kan ik den collega adviseeren. „Probeer het eens met aceton”, en werkelijk bleef het succes niet uit.

De roode harsachtige stof kwam in oplossing en alles werd wederom wit in den tand.

Wij leeren hieruit hoe wij de methode van Buckley en Calahan nauwkeurig hebben na te volgen, tevens kan dit onderzoek als een mooi voorbeeld gelden, hoe in deze alleen langs wetenschappelijken weg iets te bereiken viel.

Ik kan niet nalaten mijnen vriend van Ledden Hulsebosch mijnen bijzonderen dank te brengen voor de vele hulp die ik in deze van hem heb mogen ondervinden zoowel op chemisch als fotografisch gebied.

Discussie.

Toen het applaus na deze in de annalen van het N. T. G. waarlijk éénige voordracht verstomd was, verklaarde de Voorzitter de Heer Coebergh, dat hij aan dit applaus niets had toe te voegen. Slechts wenschte hij er op te wijzen, dat door de minutieuse onderzoekingen van den Heer Duyvensz de bewering is weerlegd als zouden de geringe hoeveelheden der medicamenten bij de Buckley-methode gebruikt, geen groote invloed kunnen uitoefenen.

De Heer Schleurholts Boerma brengt spreker gaarne hulde voor zijn voortreffelijke voordracht en wenscht hem geluk met de vinding der nieuwe kleurstof. Hij wil er nog aan toevoegen, dat de strepen van het bloed bij spectroscopisch onderzoek variëren al naarmate dit oxy-haemoglobine bevat, met haemoglobine of b.v. verstikkingsbloed is. Voorts herinnert hij nog, dat behalve de vele reacties door spreker genoemd, nog eene bestaat: die volgens den regel van Uhlénhut, dat n.l. praecipitinen specifiek zijn. Zoodat, indien b.v. een cavia of een konijntje wordt ingespoten met menschelijk serum het bloed van die cavia resp. het konijntje de eigenschap verkrijgt om in menschelijk bloedserum en in géén ander, een praecipitaat te doen ontstaan.

De Heer Duyvensz: Ik ben op de serumreacties opzettelijk niet ingegaan. Deze zijn voor het gerechtelijk onderzoek zeer nuttig, maar ik heb hier slechts willen aantonen, wat met eenvoudige reagentia te verkrijgen is.

De Heer da Costa brengt spreker grooten dank voor zijn zoo streng wetenschappelijke voordracht. Hij acht deze een zoo gelukkig verschijnsel dat hij zich trotsch voelt op de zoeven tot hem gerichte vraag omtrent den Heer D. te hebben kunnen antwoorden: Hij is maar een gewoon tandarts.

De Heer Hamer beaamt volkomen wat tot sprekers lof is gezegd. Hij acht het gehalte van deze voordracht

een duidelijke manifestatie van 't geen gisteravond is gezegd omtrent den „geest" van het Genootschap. De Heer D u y v e n s z heeft hier een geheel nieuw tijdperk ingeluid en het Genootschap op nieuwe banen geleid. Ook bij de medische wetenschap heeft iets dergelijks plaats gehad; de klinische blik, gesteund door percussie en auscultatie geraakt op den achtergrond, terwijl de werkzaamheden in het physisch laboratorium op den voorgrond treden. Als eerste onzer in Nederland, waarschijnlijk als *de* eerste, zoover spreker bekend is, onder de tandartsen, ook van 't buitenland, is collega D u y v e n s z als wetenschappelijk onderzoeker opgetreden: de geest van het Genootschap is klaarblijkelijk over hen vaardig geworden.

Als de Heer v a n H a s s e l t meezingt in het Koor der loftuigingen, dan is dit gedeeltelijk te danken aan den mysterieusen indruk, die het werken met reageerbuisjes enz. op den leek maakt, maar de langs streng afgebakenden, eenvoudigen weg tot een gelukkig resultaat voerende methode, op duidelijke wijze voorgedragen, geeft een hoog denkbeeld van sprekers doceerend talent. „Wie goed doorziet, goed doceert." blijkt ook hier. Eén vraag bleef nog onbeantwoord: heeft het metaal van den „broach" ook van invloed kunnen zijn.

De Heer D u y v e n s z: Deze bestond uit tantalium. Overigens was het harsachtige eindprodukt hetzelfde als in den verkleurden tand, van roest kon dus geen sprake zijn. Ook geven watten zonder metaaltoevoeging dezelfde resultaten.

De Heer G r e v e r s heeft ook roodkleuring van tanden aangetroffen zonder trikesol-formaline en zwavelzuur. Het onderzoek van deze tanden stuitte op groote moeilijkheden zelfs als bekwame chemici het onderzoek leidden. Misschien ligt hier een arbeidsveld voor den Heer D u y v e n s z. De verkleuringen werden door Buckley aan ijzer toegeschreven, wat den Heer G r e v e r s bleek niet juist te zijn. Het is hem niet gebleken of de tanden in vivo reeds rood waren dan wel postmortem i.c. na de extractie.

De Heer D u y v e n s z zegt: Het ligt voor de hand, dat zoo'n onderzoek zeer moeilijk is; de vraag is, wat is er voor, bij en na het onderzoek gebeurd? Anders vindt men 't nooit. Ter illustratie mag gewezen worden op de verschillende verkleuringen, die schedels ondergaan, in verband met de onderscheidene aardsoorten, waarin zij begraven waren.

De Heer S c h l. B o e r m a herinnert aan een geval op de polikliniek der Universiteit van een jongen met roodachtig gekleurde tanden.

De Heer G r e v e r s verwijst naar het werk van H e i d e r die reeds in 1860 te Weenen drie kinderen beschreef, waar de tanden rood werden: zijne eigene gevallen echter betreffen geëxtraheerde tanden.

De Heer C o e b e r g h vraagt of de Heer D u y v e n s z ook kan zeggen of het gasvormige formaldehyd dezelfde reacties geeft.

De Heer D u y v e n s z : Zeker, dit bewijzen b.v. de morphine reacties op formaldehyd, de formaldehyd-dampen veroorzaken hier de reactie verschijnselen.

B.
