

VERHANDELINGEN
VAN HET INSTITUUT VOOR PRAEVENTIEVE GENEESKUNDE
XIX

EEN EXPERIMENTEEL ONDERZOEK
OVER INFLUENZA EN SECUNDAIRE
MICROCOCCUS-PNEUMONIE
BIJ DE MUIS

DOOR

DR H. A. E. VAN TONGEREN



STENFERT KROESE — LEIDEN

EEN EXPERIMENTEEL ONDERZOEK OVER INFLUENZA
EN SECUNDAIRE MICROCOCCUS-PNEUMONIE
BIJ DE MUIS

BIBLIOTHEEK
VOOR FRYSLANDE
WASTENINGEN

BOEK
RUBRIEK
MUIS

KL
T 33
2)

VERHANDELINGEN
VAN HET INSTITUUT VOOR PRAEVENTIEVE GENEESKUNDE
XIX

EEN EXPERIMENTEEL ONDERZOEK
OVER INFLUENZA EN SECUNDAIRE
MICROCOCCUS-PNEUMONIE
BIJ DE MUIS

DOOR

Dr H. A. E. VAN TONGEREN



1951

H. E. STENFERT KROESE N.V. — LEIDEN

BIBLIOTHEEK - NEDERLANDS INSTITUUT
VOOR PRAEVENTIEVE GENEESKUNDE
WASSENAARSEWEG 56 - LEIDEN

*Allen, die mij bij mijn onderzoekingen steun en voorlichting hebben gegeven,
betuig ik mijn oprechte dank.*

INHOUD

	Blz.
Inleiding	I
Hoofdstuk I. DE SECUNDAIRE BACTERIËLE PNEUMONIEËN BIJ INFLUENZA VAN DE MENS	3
Virus en microorganismen	3
De histopathologie van de ademhalingsorganen van influenzapatiënten met secundair opgetreden bacteriële long-infecties, speciaal met betrekking tot de <i>Micrococci</i>	5
Hoofdstuk II. DE EXPERIMENTELE INFLUENZA-VIRUSPNEUMONIE EN PRIMAIRE BACTERIËLE PNEUMONIE	13
Werkschema	13
De pathologische anatomie van de muizenlong met influenza	14
De histopathologische veranderingen van de muizenlong na besmetting met het influenzavirus A ¹ , Stam V. 1949.	21
Herkomst van het influenzavirus	22
Sectietechniek muis	24
Het histologisch onderzoek	26
Het histologisch onderzoek van muizenlongen besmet met micrococcuscultuur.	36
Hoofdstuk III. DE EXPERIMENTELE SECUNDAIRE BACTERIËLE PNEUMONIE	53
Literatuuroverzicht	53
Besmetting van muizen met influenzavirus en <i>Micrococci</i>	56
Gelijktijdig besmet met virus en <i>Micrococci</i>	57
Na 24 uur besmet met <i>Micrococci</i>	70
Na 48 uur besmet met <i>Micrococci</i>	86
Na 72 uur besmet met <i>Micrococci</i>	99
Na 96 uur besmet met <i>Micrococci</i>	111
Bespreking van de resultaten	116
Slotbespreking	121

	Blz.
Hoofdstuk IV. DE EXPERIMENTELE SECUNDAIRE BACTERIËLE IN- FECTIES BIJ FRET EN KONIJN	124
De pathologische anatomie van de frettenlong met influenza	124
De gevolgen van de toediening van microörganismen bij met influenzavirus besmette fretten	124
De gecombineerde infectie van het fret met influenzavirus en <i>Micrococci</i>	125
De pathologische anatomie van de konijnenlong met influenza	132
De gecombineerde infectie van het konijn met influenzavirus en microörganismen	133
De verschijnselen, die voortvloeien uit de besmetting van het konijn langs aërogene weg met influenzavirus, welke ge- paard gaat met of wordt gevolgd door een infectie met <i>Micrococci</i>	134
Slotbeschouwing en samenvatting	138
Summary	141
Geraadpleegde literatuur	145

INLEIDING

Gedurende de influenzaepidemie, welke in de eerste maanden van 1949 onder meer in Nederland heeft geheerst, is mijn aandacht gevestigd op een, door de drang der omstandigheden zich weder voordoende vraag, of de veranderingen van het trilhaar epitheel van de luchtwegen die zijn waargenomen bij „gemengde” influenzapneumonieën bij de mens, louter het gevolg zijn van het influenzavirus of dat genoemde veranderingen moeten of mogelijk ook kunnen worden toegeschreven aan secundaire infecties met *Micrococci* (Staphylococci). Een oplossing uit de menselijke pathologie valt in deze nog niet te verkrijgen, aangezien voor zover met absolute zekerheid is te bepalen „zuivere” influenzapneumonieën in de literatuur niet beschreven zijn, terwijl evenmin bij de in de literatuur vermelde bronchopneumonieën, veroorzaakt door *Micrococci*, een voorafgaande infectie met influenzavirus niet met volkomen zekerheid valt uit te sluiten.

Deze epidemie nu heeft een gereede aanleiding gevormd een histopathologisch, alsmede een bacteriologisch onderzoek ter hand te nemen, hetwelk enig licht zou kunnen werpen op dit probleem. Daarvoor is een uitgebreid experimenteel onderzoek vereist van micrococcusinfecties in bronchi en longen bij dieren, die niet alléén gevoelig zijn voor een besmetting met genoemde microorganismen, maar ook voor het influenzavirus.

Temeer heeft deze epidemie de mogelijkheid geopend voor genoemd onderzoek, omdat gewerkt zou kunnen worden met een niet al te lang geleden op proefdieren aangepast influenzavirus, in de hoop dat dit virus nog zoveel mogelijk de eigenschappen van zijn O-phase zou benaderen, alsmede met micrococcusstammen welke, tijdens het leven of na de obductie, uit de longen van patiënten lijdende aan een „gemengde” pneumonie zijn gekweekt. Het geeft meer bevrediging om proeven te kunnen verrichten met deze uit de longen geïsoleerde micrococcusstammen, dan dat men over moet gaan tot het aanwenden van dergelijke stammen, verkregen uit ander pathologisch materiaal

(absces, osteomyelitis e.d.), al zullen er naar alle waarschijnlijkheid weinig of geen verschillen door ontstaan. Men dient in laatstgenoemd geval de mogelijkheid van een pathogeniteit van deze microorganismen voor het longweefsel aan te nemen, terwijl men van de vers geïsoleerde stammen uit bronchopneumonisch veranderde longen toch wel een aan alle zekerheid grenzend pathogeen vermogen mag aanvaarden.

HOOFDSTUK I

DE SECUNDAIRE BACTERIËLE PNEUMONIEËN BIJ INFLUENZA VAN DE MENS

VIRUS EN MICROËRGANISMEN

Van een groot aantal virusziekten bij mens en dier is bekend, dat de vaak hoge mortaliteit, welke zich soms bij deze ziekten voordoet, niet het directe gevolg is van de pathologische veranderingen die het virus zelf teweeg brengt, maar dat deze geheel of grotendeels moet worden toegeschreven aan secundair optredende bacteriële infecties. Laatstgenoemde infecties kunnen soms in zeer uiteenlopende organen voorkomen en zijn veelal een gevolg van een verminderd weerstandsvermogen van een door het virus aangetast orgaan of van het gehele organisme. De microörganismen, geïsoleerd uit de pathologisch veranderde weefsels, blijken vaak bacteriën te zijn, die bij „normale” individuen vrij regelmatig in excreta of secreta worden aangetroffen, zonder dat zij waarneembare ziekteverschijnselen of ziekelijke afwijkingen veroorzaken (commensalen). Wordt echter door de een of andere factor het evenwicht in het lichaam van het individu plaatselijk of in zijn geheel verstoord, dan kunnen deze microörganismen, die tot de normale vegetatie van de slijmvliezen kunnen behoren, tenslotte de oorzaak zijn van de dood van hun oorspronkelijke gastheer.

Het is nog niet zo lang geleden, dat bij bepaalde ziektebeelden waarbij een bacterie of enkele bacteriesoorten betrekkelijk regelmatig zijn geïsoleerd, deze microörganismen ook als verwekker van de ziekte zijn beschouwd. Naderhand is waargenomen dat dan vaak primair een virus de verwekker blijkt te zijn. Nog steeds is van een aantal infectieziekten niet opgelost of er primair van een virusziekte of van een bacteriële aandoening gesproken mag worden.

Zo mag als bekend worden verondersteld, dat de virusziekte influenza gepaard kan gaan met een secundaire bacteriële infectie van de longen en dat juist deze infecties de oorzaak zijn van de hoge

mortaliteit die bij sommige influenzaepidemieën of -pandemieën wordt waargenomen. Het sterftecijfer bij een influenzaepidemie wordt vrijwel geheel bepaald door de frequentie van deze longcomplicaties.

Vooreerst bepalen wij ons tot de bacteriologie van de secundaire bronchopneumonieën na influenza, om vervolgens uitvoerig de pathologie van de longafwijkingen te bespreken.

Bij de secundaire bacteriële pneumonieën heeft men aanvankelijk *Haemophilus influenzae* een overheersende rol toegedacht. Deze bacterie is zelfs gedurende lange tijd ten onrechte beschouwd als de verwekker van influenza. Het is echter gebleken, dat de bacteriesoorten, welke uit het sputum of het bloed, uit de longen en andere organen bij de obductie kunnen worden geïsoleerd, zeer uiteen lopen. Deze wisseling in gekweekte bacteriesoorten is afhankelijk van het tijdsbestek en van de plaats. Op deze wijze komt het voor, dat de ene onderzoeker een hoog percentage haemolytische streptococci aantreft (b.v. DWINELL 1919; SOLOMON en KALKSTEIN 1943), een ander een groot aantal secundaire infecties met pneumococci beschrijft (b.v. OPIE c.s. 1921; SMITH 1935; FINLAND c.s. 1942; MAXWELL c.s. 1949) en een derde beweert in een grote meerderheid van de gevallen te hebben waargenomen, dat *Micrococcus pyogenes aureus* in reïncultuur is gekweekt (CHICKERING en PARK 1919; PATRICK 1923; HABBE 1929; PARKER c.s. 1946; STRAUB en MULDER 1948). Slechts zelden treft men een beschrijving aan over het isoleren van *Klebsiella pneumoniae* als enige oorzaak van de secundaire infectie (b.v. SOLOMON 1940, HYDE en HYDE 1943). Uiteraard zijn ook menginfecties van de hierboven genoemde bacteriën beschreven (b.v. DWINELL 1919; BOYD 1944; MAXWELL c.s. 1949 e.v.a.).

Bij een groot aantal publicaties, vooral die vóór 1940 zijn verschenen, is niet met volledige zekerheid vastgesteld, dat men steeds met een secundaire bacteriële bronchopneumonie na influenza te maken heeft gehad, omdat de virologische en serologische diagnostiek van influenza nog niet in die mate was ontwikkeld als thans het geval is. De diagnose berustte nog deels op de voorafgaande klinische verschijnselen, maar vooral op het endemisch of epidemisch voorkomen van deze ziekte in dat bepaalde tijdsbestek.

Het feit evenwel, dat deze secundaire bacteriële longinfecties een zeer belangrijke rol spelen bij de bepaling van het sterftecijfer bij iedere influenzapneumonie, duidt op het belang dat men niet alleen de primaire ziekte zelf dient te bestrijden, maar dat men ook paraat moet zijn om de noodlottige gevolgen van mogelijke secundaire bacteriën direct de kop in te drukken, zo niet te voorkomen. De

laatste jaren nu is van verschillende zijden aangetoond, dat vele bacteriële bronchopneumoniën bij de mens gedurende interepidemische perioden van influenza worden vooraf gegaan door een infectie met influenzavirus (vooral het B-virus). Een aantal onderzoekers meent onder meer hieruit zelfs te mogen besluiten, dat primaire bacteriële bronchopneumoniën bij volwassenen niet voorkomen, maar dat deze steeds worden voorafgegaan door een praedisponerend aetiologisch moment.

Omdat de laatste jaren is gebleken, dat vooral de *Micrococci* een uitermate belangrijke rol spelen bij de zeer acuut verlopende gevallen van secundaire bacteriële pneumoniën na influenza, is een onderzoek ter hand genomen waarbij deze microorganismen als secundaire besmettingsbron zijn aangewend. Daar de reden van dit onderzoek reeds is weergegeven zal hier in enkele grote lijnen worden aangestipt welke proefnemingen bij dieren zijn genomen.

Om het gestelde doel te bereiken geldt als minimum eis, dat zal worden onderzocht welke histologische veranderingen in de longen bij het dier ontstaan, na de besmetting met het influenzavirus alleen. Vervolgens zal hetzelfde onderzoek moeten worden verricht na de infectie met Micrococci, en tenslotte na een gecombineerde besmetting met het virus en deze microorganismen.

DE HISTOPATHOLOGIE VAN DE ADEMHALINGSORGANEN VAN INFLUENZA-PATIËNTEN MET SECUNDAIR OPGETREDEN BACTERIËLE LONGINFECTIES, SPECIAAL MET BETREKKING TOT DE MICROCOCCI

Men mag wel aannemen dat thans tot in alle gelederen van de beoefenaars van de medische wetenschap is doorgedrongen, dat het influenzavirus oorzaak is van de niet gecompliceerde vorm van de vaak epidemisch of pandemisch voorkomende influenza van de mens. Dat men vóór het onderkennen en isoleren van het influenzavirus (1933) een groot aantal microorganismen als verwekker van deze ziekte heeft aangezien, kan heel gemakkelijk worden verklaard uit de omstandigheid, dat men veelal deze microorganismen heeft gekweekt uit de trachea of de longen van patiënten die onder de klinische verschijnselen van influenza of influenzapneumonie zijn gestorven. Vaak is één van deze microorganismen plaatselijk of streeksgewijs bij een dermate groot aantal letaal verlopende gevallen van influenzapneumonie waargenomen, dat zulk een bacterie daardoor abusievelijk als de verwekker is beschouwd. Uiteraard is dit in de oudere literatuur vaak aanleiding geweest tot een hevige pennestrijd.

Tijdens de grote „griep”-pandemie van 1918—1919 hebben een aantal onderzoekers, op grond van de vaak afwijkende en uiteenlopende histopathologische beelden, waargenomen in de longen van deze patiënten, in vergelijking tot de veranderingen, gezien bij primaire bacteriële bronchopneumonieën, het vermoeden geuit, dat er naast het (de) geïsoleerde microorganisme(n) een nog onbekend agens een rol zou spelen. Dat niet alle „griep”patiënten een longcomplicatie krijgen, heeft in grote mate steun gegeven aan hun vermoeden.

De vroegste waarnemers beschrijven influenza als een goedaardig verloopende ziekte, die begrensd blijft tot de bovenste luchtwegen en slechts in enkele gevallen een ernstiger karakter kan krijgen, doordat de longen in het proces worden betrokken. In latere publicaties (omstreeks 1892) vestigt men er de aandacht op, dat pneumonieën veroorzaakt door streptococci, micrococci en pneumococci vaak volgen op de symptomen van influenza. Epidemiologische gegevens, geput uit de eerder genoemde pandemie van 1918—'19, laten een belangrijke stijging zien van het aantal sterfgevallen wegens pneumonie, die gepaard gaan met en volgen op de klinische diagnose influenza.

Zo vermelden onder meer CHICKERING en PARK (1919) dat van de 312 secties, verricht bij personen die gestorven zijn aan een pneumonie na influenza, er 153 gepaard zijn gegaan met een secundaire infectie met alléén of overheersend *M. pyogenes aureus*. De ziekte blijkt in dergelijke gevallen vaak een foudroyant verloop te hebben. Macroscopisch hebben zij bij deze patiënten ontelbare abscessen van 1 à 10 m.m. doorsnede in de longen waargenomen, meestal gelocaliseerd in de longtoppen, naast talrijke haemorrhagische gedeelten.

Microscopisch onderkent Mc CALLUM (1919) bij deze pneumonieën drie duidelijke kenmerken. Naast het beeld van een lobulaire of bronchopneumonie, die een exsudatie van polymorphkernige cellen in de bronchi, bronchioli en de betreffende alveoli laat zien, heeft hij op verschillende plaatsen in de longen een cellige infiltratie van het interstitiële en peribronchiale bindweefsel en een niet purulent alveolair exsudaat, bestaande uit grote mononucleaire cellen, compacte massa's fibrine, oedeemvocht of erythrocyten (door haemorrhagieën), waargenomen. De laatste beelden zouden volgens hem wijzen op een „toxische reactie”.

Van diezelfde tijd stammen de beschrijvingen van GOODPASTURE (1919) en WOLBACH (1919), die bij vele van deze pneumonieën, welke voorkomen op het hoogtepunt van de epidemie, het optreden van een hyaline membraan in de verwijde bronchioli, in de bronchioli

respiratorii en soms in de verwijde alveoli vermelden. Het longproces ging voorts gepaard met necrotische haarden in het longweefsel, met een acute exsudatieve reactie, oedeem en bloedingen, alsmede necrose van de alveolairwand. Later hebben BRANNAN en GOODPASTURE (1924) en anderen er op gewezen dat de hyaline membraan niet pathognomonisch voor influenza mag worden genoemd. De vorming van deze membraan menen zij, is het gevolg van een niet-specifieke toxische laesie van de capillairen. Bij de gevallen met secundaire bacteriële infectie is deze membraan niet waargenomen. Men ziet dan een hevige necrose van het longweefsel.

Nog vele bacteriologische onderzoeken hebben aangetoond, dat er meer dan een toevallig verband bestaat tussen het voorkomen van influenza en het optreden van *Micrococcus pyogenes* als secundair agens. Zo vermeldt PATRICK (1923) uit Malta, dat bij 84 % van de 30 sterfgevallen van pneumonie na influenza, waarbij sectie is verricht, genoemd microörganisme is geïsoleerd.

De longen van al deze patiënten vertoonden uitgebreide stuwingsverschijnselen en oedeem. De bronchopneumonie was evenwel niet altijd even uitgebreid. In de ontstoken gedeelten was veel exsudaat en er bleek een sterke neiging te bestaan tot de vorming van abscessen. Empeem is bij 3 gevallen gezien, allen veroorzaakt door *M. pyogenes aureus*.

Ook tijdens latere influenzaepidemieën is opgemerkt, dat bij de snel en letaal verlopende gevallen van pneumonie na influenza, speciaal genoemde *Micrococci* oorzaak zijn geweest van de hoge mortaliteit.

Zo delen BURGESS en GORMLEY (1930) mede, dat tijdens een influenza-epidemie een drietal patiënten binnen 48 uur zijn gestorven. De sectie heeft uitgewezen dat al deze patiënten aan een haemorrhagische bronchopneumonie zijn gesuccombeerd, waarbij een *Micrococcus* uit sputum en longen is afgezonderd.

Ook HABBE (1929) heeft bij 40 % van de 20 gevallen van „griep-pneumonieën” een reïncultuur van *M. pyogenes aureus* en bij 25 % een gemengde infectie van deze bacterie aangetroffen. Bij de primair voorkomende bronchopneumonieën bij de mens, heeft hij daarentegen slechts in $1\frac{1}{2}$ % van de gevallen een reïncultuur van *M. pyogenes aureus* en in ruim 2 % een gemengde infectie van dit microörganisme en pneumococci vastgesteld.

De meest nauwkeurige beschrijving over de longveranderingen ten gevolge van influenza bij de mens is gegeven door Mc CORDOCK en MUCKENFUSS (1933). Zij noemen de vroegste verandering bij influenza een haemorrhagisch en oedemateus lobulaire consolidatie. Micro-

scopisch onderzoek toont een ophoping van oedeemvocht in de interlobulaire septa, het perivasculaire en peribronchiale bindweefsel. Over grote gebieden zijn de alveoli gevuld met geocoaguleerd oedeemvocht, erythrocyten of fibrine. Voorts ziet men necrose van het epitheel van de bronchioli en alveoli. Vaak wordt ook de verdere bronchiaal — zowel als de alveolairwand — in de necrose betrokken, waardoor het beeld van een haardvormige necrose ontstaat. Later zien zij een cellige infiltratie in het interstitiële weefsel en wordt een kernhoudend niet-purulent cellig exsudaat in de alveoli gevormd. Dit totaalbeeld noemen zij een „interstitiële viruspneumonie”. Later, door het optreden van secundaire bacteriën, ziet men het purulente karakter van de ontsteking ontstaan.

Ook SCADDING (1937) meldt tijdens een influenzaepidemie in 1936—'37 in Engeland van een interstitiële ontsteking en enige necrose van de alveolairwand, waardoor bloedingen ontstaan en erythrocyten de alveoli vullen. Daarnaast beschrijft hij het voorkomen van een necrotiserende tracheitis en bronchitis. Bij secundaire pneumonieën ziet men overal miliaire abscessen gevormd.

Hij beschouwt de necrotiserende bronchiolitis als kenmerk van de influenzapneumonie bij de mens. Slechts bij de klinisch foudroyant verlopende gevallen wordt het longproces veranderd door de secundair optredende bacteriële infectie. Het virus vermindert zijns inziens het weerstandsvermogen van het longweefsel en bevordert daardoor de infectie met *Haemophilus influenzae*, streptococci, micrococci en pneumococci.

Tijdens het onderzoek van deze influenzaepidemie van 1936—'37 hebben STUART-HARRIS, ANDREWES en SMITH onder meer bij vijf patiënten in het beginstadium van de ziekte het influenzavirus kunnen isoleren. Drie van deze patiënten zijn binnen 5 dagen na de eerste ziektesymptomen overleden en bij deze is wederom het influenzavirus uit de longen geïsoleerd. Bij de twee overige patiënten, die na resp. 8 en 11 dagen zijn gesucombeerd, is de virusisolatie niet meer gelukt. Bij de eerstgenoemde groep van drie patiënten is uit de longen een reincultuur van *M. pyogenes aureus* geïsoleerd. Zij vinden het voorbarig om uit dit kleine aantal gevallen conclusies te trekken, maar zij vinden het wel opvallend dat, wanneer *M. pyogenes aureus* als secundaire bacterie optreedt, het verloop zo acuut is. Bij de twee andere patiënten, die na resp. 8 en 11 dagen zijn overleden, is *Haemophilus influenzae* en een pneumococcus uit de longen gekweekt.

Het gecombineerd voorkomen van influenza A-virus en *M. pyogenes aureus* in bronchi en longen is ook door STOKES en WOLMAN (1940)

beschreven bij een verpleegster die na een infectie met influenza A-virus binnen 48 uur stierf. In de donkerrode, oedemateus gezwollen longen hebben zij microscopisch een uitgebreide capillaire dilatatie gezien, waarbij de alveoli gevuld zijn met oedeemvocht, naast vele cocci, echter zonder een infiltratie door polymorphkernige leucocyten. Trachea en bronchioli bleken geheel ontdaan van hun epitheelbekleding. Abscessen zijn niet waargenomen.

Bij de 66 gevallen door FINLAND, PETERSON en STRAUSS (1942) beschreven tijdens een influenza-epidemie in Boston (1940—'41), hebben deze onderzoekers waargenomen dat de secundair door micrococclusinfecties veroorzaakte afwijkingen kunnen wisselen van een tracheobronchitis tot een acute, foudroyant verlopende, dodelijke haemorrhagische pneumonie. Bij laatstgenoemde gevallen hebben trachea, bronchi en bronchioli voor een groot deel hun bekledende epitheel laag verloren door een necrotiserend proces. De wand van deze luchtwegen is geïnfilteerd met ontstekingscellen van verschillende vorm en herkomst. In het lumen van de bronchioli hebben zij een enkele maal een hyaline membraan waargenomen. De longcapillairen zijn sterk gestuwd, de alveolaire septa oedemateus verdikt en de alveoli bevatten naast oedeemvocht polymorphkernige leucocyten en erythrocyten. Soms lijkt het beeld meer op een acute bloeding dan op een ontsteking.

Dat *M. pyogenes aureus* de meest ongunstig bekend staande secundair optredende bacterie is, bij letaal verlopende pneumonieën na influenza, heeft ook MICHAEL (1942) onomstotelijk vastgesteld. Hij beschrijft van een 60-tal pneumoniegevallen er vijf, die direct zijn gevolgd op een influenza infectie (het virus is aangetoond bij 3 van deze patiënten) en waar hij uit de longen of het sputum als secundair microörganisme *M. pyogenes aureus* heeft gekweekt.

Ook het influenza B-virus en *M. pyogenes aureus* kunnen gecombineerd voorkomen. De pathologische afwijkingen gelijken op die met het influenza A-virus (HIMMELWEIT 1943; BURNET, STONE en ANDERSON 1946). De epitheelbekleding van trachea en bronchi is grotendeels verdwenen. Uit de longen vloeit een lakkleurig oedeemvocht, terwijl zij plaatselijk het beeld van een bronchopneumonie vertonen.

Naast de acuut verlopende secundaire micrococcluspneumonieën, waarbij de patiënten binnen 36 uur tot 5 dagen overlijden, treedt een enkele maal een meer chronisch proces op waarvan de tijdsduur wisselt van 2 tot 7 weken (WOLLENMAN en FINLAND 1943).

Het microscopische beeld bij de acute gevallen wordt beheerst door een necrotiserend proces, dat vooral in en rondom de bronchi

optreedt en van tijd tot tijd het nabijgelegen alveolaire weefsel er in betreft. Het epitheel van de bronchi en bronchioli is vrijwel verdwenen, de propria is dicht geïnfiltréerd met polymorphkernige leucocyten en histiocyten. De lumina van de bronchioli respiratorii bevatten veel acuut ontstekingsexsudaat. Voorts zet het ontstekingsproces zich voort in de alveoli, waar necrose van de wand en soms de vorming van abscessen valt waar te nemen. Deze necrose van de alveolairwand is niet constant. Een aantal alveoli bevat veel oedeemvocht, weer andere erythrocyten. Bij een van de patiënten zijn in de bronchi hyaline membranen waargenomen.

Bij de chronisch verlopende gevallen vermelden WOLLENMAN en FINLAND, dat in dergelijke longen grote bronchiectasieën zijn gevormd, omgeven door een dikke laag bindweefsel. Na regeneratie van het bekleedende epitheel van de alveoli ziet men vaak cubisch epitheel gevormd. Het alveolaire exsudaat toont neiging tot organisatie.

PARKER, JOLLIFFE, BARNES en FINLAND (1946) beschrijven 5 gevallen van pneumonie na influenza bij de mens, waarbij het influenzavirus is aangetoond. Uit twee van deze longen zijn geen microorganismen geïsoleerd, zodat zij aannemen, dat dit zuivere vormen van influenzaviruspneumonieën zijn geweest. Opmerkelijk is, dat zij hierbij geen necrose van het bronchiaalepitheel hebben waargenomen. Zeer typisch is volgens hen het oedeem, de alveolaire bloedingen, een ijlmazig fibrineneerslag in de alveoli en de vorming van een hyaline membraan. De bronchioli zijn meestal leeg of bevatten wat slijm, polymorphkernige leucocyten, erythrocyten en fibrine. De bronchiaalwand van deze bronchioli is nu en dan geïnfiltréerd met vele polymorphkernige leucocyten, lymphocyten en plasmacellen. Een beschrijving van veranderingen in trachea en grote bronchi ontbreekt bij deze twee gevallen.

Slechts bij die gevallen, waar *M. pyogenes aureus* is aangetoond, hebben zij necrose van het epitheel van de bronchioli waargenomen. Zij veronderstellen nu, dat deze laesie alleen het gevolg is van de secundaire micrococclusinfectie.

In ons land hebben STRAUB en MULDER (1948) en MULDER en VERDONK (1948 en 1949) anatomische studies verricht over gevallen van dodelijk verlopende gevallen van pneumonie na influenza bij de mens. Eerstgenoemden beschrijven een 12-tal vermoedelijke gevallen van deze pneumonie, waarbij acht maal *M. pyogenes aureus* is geïsoleerd. De ziekteduur wisselde bij deze patiënten van 2 tot 10 dagen.

Bij de helft der gevallen hebben zij een pseudomembraneuze ontsteking van de trachea en de bronchi waargenomen. Toch is nooit in de bronchioli verandering van het bekleedende epitheel gezien, hoewel bij 7 gevallen wel laesies van het epitheel van de trachea en bronchi is vastgesteld. Deze laesies blijken vaak niet te corresponderen met de gevallen van pseudomembraneuze tracheobronchitis. Zij vinden het vreemd, dat ondanks de vaak bacterieel-leucocytaire ontstekingsprocessen in de wand van de bronchioli, geen overeenkomstige beschadiging van het bekleedende epitheel is ontstaan. Evenmin kunnen zij de regeneratie van het bronchiaalepitheel, die zij hebben waargenomen, verklaren op grond van de toxische beschadiging door microorganismen, omdat men vaak in bacteriehoudende, hevig ontstoken bronchi een meerrijig epitheel aantreft. Daarbij komt nog, dat bij ontstekingen van de bronchiaalmucosa, die gepaard gaan met een sterke infiltratie door polymorphkernige leucocyten, men veelal geen necrose of desquamatie van het epitheel waarneemt. Zij vragen zich tenslotte af, evenals vele oudere onderzoekers, of de ziekelijke epitheelveranderingen moeten worden beschouwd als gevolg van de inwerking van het influenzavirus of als gevolg van de werking van een staphylotoxine.

MAXWELL, WARD en METRE (1949) en vele van hun voorgangers zijn tot de conclusie gekomen, dat de pathologische veranderingen veroorzaakt door bacteriën en door gemengde infecties met virus en bacteriën, vaak dezelfde zijn. Zij menen daarom dat het virus een praedispositie schept voor de infectie met secundaire microorganismen. Zij gaan zelfs zo ver, dat zij zich afvragen of de meeste primaire bacteriële bronchopneumonieën ook niet worden ingeleid door het influenzavirus.

Dit laatste vermoeden is ook reeds uitgesproken door de „Commission on acute respiratory diseases”, Fort Bragg. N.C. in 1945. Deze hypothese grondt genoemde Commissie op de waarneming, dat bij verspreid voorkomende gevallen van pneumonie, influenza A- of B-virus is geïsoleerd, zonder dat er van een endemie van influenza gesproken kan worden. De virusinfectie blijft dan gelocaliseerd tot een klein aantal personen, waarbij de diagnose „verkoudheid” wordt gesteld.

In een overzicht dat REIMAN (1947) heeft gegeven over viruspneumonieën, beweert deze, dat de pneumonie een integrerend deel van influenza vormt, maar dat om nog onbekende redenen door afwijkingen in de longen tengevolge van het influenzavirus, veel vaker secundaire pathogene microorganismen optreden dan bij vele andere viruspneumonieën bekend is. Het influenzavirus zou volgens hem dus

weer een inleidende rol spelen en door afname van de resistentie van het longweefsel een praedispositie scheppen voor de bacteriële besmetting.

Vatten wij tenslotte nog samen wat in grote lijnen het sectiebeeld van de longen is bij de mens, die is gestorven aan een pneumonie na influenza, dan blijkt dat dit beeld zeer ingewikkeld is. Toch zou men met enige goede wil wel enkele kenmerkende punten kunnen ontdekken, al worden deze vaak overheerst door talloze variaties.

Over het algemeen wordt aanvaard dat een pseudomembraneuze tracheobronchitis een nogal veel voorkomende verandering is. De pseudomembraan zou dan bestaan uit gedequameerd epitheel met soms wat fibrine, terwijl de trachea hevig is gestuwd en paarsrood van kleur is.

In de propria mucosae en de submucosa ziet men een sterke hyperaemie en plaatselijke bloedinkjes. Zij zijn oedemateus verdikt. De cellige infiltratie bestaat hoofdzakelijk uit lymphocyten terwijl later plasmacellen optreden. Sporadisch ziet men polymorphkernige leucocyten.

Het epitheel van het onderste deel van de trachea alsmede dat van de bronchi is over grote gebieden gedequameerd.

In de bronchioli is de epitheellaag veelal intact, de muscularis mucosae hiervan zou gedegenerieerd zijn. In het lumen vindt men meestal purulent exsudaat.

In het beginstadium van de influenza houden velen het beeld voor een plaatselijke interstitiële bronchopneumonie. Later bij secundaire verwickelingen wordt het een confluierende haemorrhagische purulente bronchopneumonie met talrijke abscessen.

In het acute stadium zouden de bronchioli respiratoriï en alveoli vaak bekleed zijn met een eigenaardige hyaline membraan, hetgeen volgens vele onderzoekers typisch voor influenza zou zijn, doch niet pathognomonisch, zoals wel eens is beweerd.

De alveolaire septa zijn sterk hyperaemisch en vele alveoli bevatten oedeemvocht of erythrocyten of beide, naast leucocyten en lymphocyten. Bij de oppervlakkig gelegen en niet ontstoken alveoli treft men vaak alveolair emphyseem aan.

De beschreven epitheellaesies van de luchtwegen zijn nog steeds oorzaak van het strijdpunt of zij moeten worden beschouwd als het gevolg van de inwerking van het influenzavirus op de epitheelcellen of dat zij een gevolg zijn van de inwerking van de toxinen gevormd door de secundair optredende Micrococci.

HOOFDSTUK II

DE EXPERIMENTELE INFLUENZA-VIRUSPNEUMONIE EN PRIMAIRE BACTERIËLE PNEUMONIE

WERKSCHEMA

Om een denkbeeld te kunnen vormen welke afwijkingen het influenza-virus in de long van de muis veroorzaakt, is eerst een aantal van deze dieren intranasaal besmet met een oude laboratoriumstam (W.S., A-type), waarmede STRAUB (1937) en vele anderen ook hun onderzoekingen hebben verricht bij muizen. Deze infectie-proeven, waarbij groepen van dieren na vooraf bepaalde tijdstippen zijn gedood, hebben niet alleen tot doel gehad zelf een inzicht te verkrijgen in de histopathologische veranderingen, vooral in verband met de vele verschillen in opvatting, die er op dit gebied heersen, maar ook om over vergelijkingsmateriaal de beschikking te hebben. Volgens een aantal onderzoekers zijn de longveranderingen, door de verschillende virustypen veroorzaakt, kwantitatief nogal verschillend. Hier staan buiten de opvattingen, waarbij het zwaartepunt van de veranderingen, veroorzaakt door het virus, op nogal uiteenlopende gedeelten van het longweefsel wordt gelegd. Uiteraard speelt hier ook de virulentie van de virusstam een grote rol.

De door mij waargenomen beelden bij de longen van deze muizen, besmet met het A-virus, komen vrijwel geheel overeen met de beschrijving, gegeven door STRAUB (1937). Nog zij opgemerkt, dat dit histologisch onderzoek zich slechts heeft uitgestrekt over een periode van 8 dagen na de infectie.

Na deze oriënterende proef, waarvan verder geen mededeling wordt gedaan, zijn zes groepen van muizen respectievelijk intranasaal besmet met:

- a) een recent geïsoleerd influenzavirus, (A¹-virus. Stam V. 1949),
- b) een cultuur van enkele stammen van de pathogene *Micrococci*, geïsoleerd uit de longen van patiënten, overleden na een secundaire micrococcusinfectie na influenza.

- c) gelijktijdig het onder a) genoemde virus en een micrococcuscultuur,
- d) dit influenzavirus en na 24 uur met een micrococcuscultuur,
- e) dit influenzavirus en na 48 uur met een micrococcuscultuur, en tenslotte een groep
- f) die 72 uur na de besmetting met dit influenzavirus geïnfecteerd is met micrococcuscultuur.

In aansluiting op deze serie, zijn later nog besmettingsproeven verricht met de W.S.-stam, waarbij groepen muizen gelijktijdig aan en 1 tot 4 dagen na het virus, met een micrococcuscultuur zijn besmet.

De dieren uit al deze proeven zijn voor een deel na vooraf bepaalde tijdstippen gedood en voor een groot deel zijn zij gestorven. Van alle muizen zijn de longen en de trachea aan een histologisch onderzoek onderworpen. Zo is ook bij alle muizen bacteriologisch onderzoek van de longen verricht, waarbij speciaal is gelet op het voorkomen van *Micrococci*. Voor zover er echter bij muizen ernstige ziekelijke afwijkingen in de buikorganen zijn waargenomen, zijn de longen van deze dieren niet verder in het onderzoek betrokken.

Tenslotte zijn nog enkele kleine infectieproeven genomen bij het fret en het konijn, doch deze dieren blijken zich niet te lenen voor besmettingsproeven met influenzavirus en/of *Micrococci* met het doel longveranderingen op te wekken, via de intranasale of intratracheale weg.

De reactie van het dierlijk organisme op de intranasale infectie met levend influenzavirus of micrococcuscultuur, eventueel gepaard, is hier onderzocht bij muizen. Hoewel het mij volkomen bewust is, dat deze niet identiek is met epidemische influenza bij de mens, toch benadert de experimentele infectie bij muizen de toestand, zoals die bestaat bij de mens; de verschillen zullen meer kwantitatief dan kwalitatief zijn. Met dit voorbehoud is de muis het standaardproefdier gebleken voor dit experimentele onderzoek.

Aan elk onderdeel van dit onderzoek gaat een literatuuroverzicht vooraf, dat betrekking heeft op reeds eerder verrichte proefnemingen op dit speciale gebied.

DE PATHOLOGISCHE ANATOMIE VAN DE MUIZENLONG MET INFLUENZA

LITERATUUROVERZICHT

In de inleiding is er reeds op gewezen, dat men bij de mens er tot op heden niet in is geslaagd, onomstotelijk vast te stellen welke histologische veranderingen van de longen met secundaire bacteriële

pnëumonie na influenza nu louter het gevolg zijn van de inwerking van het influenzavirus en welke moeten worden toegeschreven aan de invloed van de secundaire ziekteverwekkers. Naar analogie van de beelden, die bij de met influenzavirus besmette muizenlongen zijn waargenomen, kan men hoogstens vermoedens uiten. De bewijsvoering is bij de mens echter nog niet geleverd in verband met de grote moeilijkheden die zich voordoen bij de sectie en de sectie-techniek. Nu men zich evenwel heeft toegespitst op een verbetering van deze techniek bij de mens, laat het zich aanzien dat binnen afzienbare tijd ook voor dit probleem een oplossing zal kunnen worden gevonden. Voorlopig zal men zich overigens nog tevreden moeten stellen met een vergelijkend histopathologisch onderzoek, d.w.z. er zal bij een diersoort een onderzoek noodzakelijk zijn, waarbij tot oplossing zal moeten worden gebracht het vraagstuk: „welke veranderingen moeten worden toegeschreven aan de inwerking van het influenzavirus en welke aan de secundair optredende bacteriën”.

Na het isoleren van het influenzavirus door WILSON SMITH, ANDREWES en LAIDLAW in 1933 en het aanpassen van dit virus aan de muizenlong, is het mogelijk geworden nauwkeurig de pathologische afwijkingen van de ademhalingsorganen bij dit proefdier, die door besmetting met het virus worden veroorzaakt, te bestuderen. Genoemde onderzoekers hebben reeds waargenomen dat het bronchus-epitheel over grote gebieden wordt verwoest. De veranderingen die bij de muis optreden na intranasale besmetting met het influenzavirus, zijn in hoofdzaak beperkt tot de longen, terwijl bij het fret de afwijkingen vooral in de voorste luchtwegen zijn gelocaliseerd.

Uitgebreid is de pathologische anatomie, zowel macroscopisch als microscopisch, bij met influenza A-virus (W.S. stam) besmette muizenlongen door STRAUB (1937) beschreven. Het is mogelijk, het verloop van de longveranderingen op de voet te volgen, door de met influenzavirus besmette muizen op bepaalde tijdstippen na de infectie te doden. Reeds na 2 tot 4 dagen heeft STRAUB wigvormige, grijs-paarse tot paarsrode plekken zien optreden, gelocaliseerd bij de hilus van één of meer longkwabben of één of beide longhelften, die zich in het verloop van het ziekteproces over de gehele kwab resp. kwabben kunnen uitbreiden. Deze plekken zijn volgens STRAUB als het ware enigszins ingedeukt in vergelijking tot het gering emphysemateuze, niet ontstoken longweefsel. De longranden zijn niet in dit proces betrokken, maar worden emphysemateus en zijn daardoor licht gezwollen en bleek.

BIJLMER (1941) geeft in zijn beschrijving van de macroscopisch

zichtbare veranderingen bij de muis wel enkele verschilpunten t.a.v. de door STRAUB beschreven beelden aan. Hij noemt de aangetaste longgedeelten „kersrood van uiterlijk, glimmend en ietwat gezwollen. Zij puilen niet merkbaar uit boven de longgedeelten die nog de normale kleur vertonen, maar ook enigszins gezwollen zijn”. De gehele influenza-long met rode en normaal gekleurde gedeelten onderscheidt zich van gezonde longen door een groter volume en meer afgeronde vormen. De afscheiding tussen de kersrode en roze gedeelten is scherp begrensd, zonder enige overgang.

De meningen van beide onderzoekers lopen zo ogenschijnlijk op enkele punten nogal uiteen. STRAUB beweert, dat de ontstoken plekken „als het ware enigszins ingedeukt” zijn, terwijl BIJLMER vindt dat zij „niet merkbaar uitpuilen” boven de overige longgedeelten.

Er bestaat in wezen dus geen indeuking noch een uitpuiling. Mijns inziens hangt het geheel af van het stadium waarin men de long bekijkt. Wanneer het aangetaste longgedeelte nog klein is, wekt het de indruk „als ware” het enigszins ingedeukt t.o.v. het overigens nog vrij normaal uitziende longweefsel. Wanneer deze plek zich heeft uitgebreid over het overige deel van de kwab, zal op een gegeven moment het rode longgedeelte gaan overheersen, waardoor men de indruk krijgt van een „niet merkbaar uitpuilen”. Naar mijn gevoel is hier dus sprake van een gezichtsbedrog.

Ook de beschreven kleur van de aangetaste longkwabben is aan enige nuanceringen onderhevig. De beschrijving van BIJLMER „kersrood tot donkerrood” geeft m.i. de kleurschakering beter weer, dan de wisseling van kleuren tussen „grijs-paars tot paars-rood” van STRAUB.

Evenwel niet deze betrekkelijk kleine verschillen bepalen of men met een „influenza-long” te doen heeft, maar wel het totaal beeld, n.l. dat het longvolume is toegenomen en de long meer afgeronde vormen heeft. De afscheiding tussen de homogeen rode, van de hilus uitgaande longgedeelten, is scherp begrensd van het meer lichtroze, schijnbaar nog normale, longweefsel aan de periferie.

De longen van muizen met cellige ontstekingshaarden of abscessen, tengevolge van bacteriële infecties, geven vooral in de latere stadia een volkomen ander beeld. Zij zijn niet homogeen van kleur, maar meer vlekkelig. De ontstoken gedeelten zijn niet specifiek gelocaliseerd, puilen doorgaans duidelijk uit boven het normaal gecollabeerde longweefsel, dat slap is.

De „influenza-long” blijft in tegenstelling daarmee, elastisch, meer gespannen en valt niet of vrijwel niet samen.

DE MICROSCOPISCHE AFWIJKINGEN

Het eerste onderzoek van STRAUB omvat grotendeels gestorven muizen, na besmetting met influenzavirus. De meest opvallende verandering in het microscopische beeld is het ontbreken van het epitheel over grote gedeelten van de bronchiaalboom waarbij over de trachea niet wordt gerept. Ook de terminale en respiratoire bronchioli zijn geheel van epitheel ontbloot, verwijd en leeg. De longalveoli zijn samengevallen en gedeeltelijk gevuld met oedeemvocht, het alveolaire interstitium is sterk hyperaemisch.

Door enkele van de besmette muizen op vooraf bepaalde tijdstippen te doden heeft STRAUB het verloop van de aantasting bij de muizenlong histologisch kunnen volgen.

De vroegste veranderingen zijn waargenomen na 24 uur. Tegen die tijd verliest het epitheel zijn regelmatig voorkomen, de cellen kleuren slecht en ondergaan een slijmige degeneratie. Ten dele laten de epitheelcellen los (desquameren) waarbij men ze terugvindt in het lumen van de bronchi.

Een ander markant beeld noemt STRAUB het oedeem van het peribronchiale interstitium, waarin enkele mononucleaire cellen aanwezig kunnen zijn. Een infiltratie door polymorphkernige cellen ontbreekt of geheel, of komt in zeer geringe graad voor. Een eventuele infiltratie door deze polymorphkernige leucocyten schrijft STRAUB toe aan een secundair ontstekingsproces, veroorzaakt door microorganismen.

STRAUB huldigt de opvatting, dat het emphysemateuze aspect van het longweefsel wordt veroorzaakt door een afsluiting van de bronchi als gevolg van de vernietiging van een laag van de bronchiaalwand, waarbij ook een deel van de elasticiteit van deze wand verloren gaat. Het oedeem en de hyperaemie van de alveolaire septa, tezamen met het samenvallen van de alveoli, zijn oorzaak van de macroscopisch waargenomen „vaste” rode gedeelten, het beeld dat hij „splenisatie” van het longweefsel heeft genoemd. Deze macroscopisch zichtbare afwijking berust volgens STRAUB deels op mechanische gronden. Het is een complicatie en geen specifieke verandering. Het kan namelijk bij oudere muizen of bij muizen geïnfecteerd met een zwak virulent virus geheel ontbreken (STRAUB 1940).

Reeds op de vijfde dag na de infectie treedt er, beginnend bij de bronchioli terminales, vermoedelijk uitgaand van niet gedesequameerde epitheelcellen, een regeneratie op, die zich vaak tot een meerlagig plaveiselepitheel kan ontwikkelen. Dit standpunt heeft STRAUB in 1940 verlaten.

In dat jaar heeft hij een onderzoek verricht met een zwak virulent

influenzavirus van de mens en het virus van varkensinfluenza en daarbij de veranderingen van het bronchusepitheel van de muis nagegaan. Hierin beschrijft hij nauwkeurig de veranderingen welke optreden in de epitheelcellen van de bronchi resp. 24 en 48 uur na de intranasale besmetting bij de muis. Na 2 à 3 dagen wordt dit gedegenererde epitheel afgestoten en reeds op de vierde dag treedt de regeneratie op, beginnend met een laagje plat epitheel van de grote bronchi. Op de vijfde dag na de infectie bedekt een laag van enkele celrijen dikte, waarin veel mitosen zijn te zien, de bronchiaalwand.

STRAUB (1937) meent, dat het regenererend epitheel van de bronchioli respiratoriï uit, ook de alveoli binnendringt, alwaar epitheelmetaplasieën en epitheelwoekeringen ontstaan, die de indruk wekken van tumorgroei. Hij is van oordeel dat de aanwezigheid van deze epitheelveranderingen in de alveoli oorzaak is van de immuniteit bij de muis voor het influenzavirus.

Van verschillende zijden zijn evenwel over ditzelfde onderwerp onderzoeken verricht. In de meeste beschrijvingen vindt men wel terug de uitgebreide laesies van het bronchiaalepitheel, doch niet alle onderzoekers leggen er die nadruk op als STRAUB. Men vestigt veelal daarenboven de aandacht of legt meer het zwaartepunt op de verbreding van de alveolaire septa en de perivasculaire, peribronchiale en interstitiële celinfiltraten, de hyperaemie en het oedeem. Het longparenchym zou zich volgens STRAUB in alle stadia passief gedragen. Dit laatste standpunt wordt o.m. niet volledig gedeeld door BIELING en OELRICHS (1938), DE BALOGH (1939), NELSON en OLIPHANT (1939), BEHR en HADDERS (1940), BIJLMER (1941) e.a. Wel is men het er over eens, dat de bronchiale veranderingen zeer in het oogspringend zijn en dat zij ook vrij kenmerkend zijn voor de diagnose influenza. Zij beweren dat de veranderingen in de alveolaire septa even typisch zijn. Daarom delen deze onderzoekers ook niet de opvatting van STRAUB, dat men met een „atelectase” van het aangetaste longgedeelte te maken heeft, daarvoor vindt men de hyperaemie, het oedeem, het uittreden van erythrocyten in de alveoli en de cellige reactie in het longparenchym te heftig.

Tenslotte zijn de epitheelwoekeringen en de metaplastische verandering van het cilinderepitheel tot plaveisel epitheel niet typisch voor genezen influenza, zoals STRAUB beweert. Trouwens in de longen van muizen, die genezen zijn van een influenzainfectie, is slechts zelden sprake van deze woekeringen. Komen zij voor, dan zijn zij zeer plaatselijk. Dit wijst er volgens deze onderzoekers op, dat aan de

aan- of afwezigheid van deze epitheelmetaplasieën geen enkele immunologische waarde mag worden gehecht.

In tegenstelling met de door STRAUB beschreven afwijkingen van het bronchiaal en bronchiolair epitheel, hechten BIELING en OELRICHS (1938) voor de histologische diagnose influenza de grootste betekenis aan de afwijkingen die zij zien van het longparenchym zelf, zoals: de zeer sterke hyperaemie, de verbreding van de alveolaire septa door oedeem en cellige infiltraten en de ophoping van oedeemvocht met of zonder erythrocyten in de alveolaire ruimten. Ook achten zij de perivasculaire en peribronchiale celfiltraten belangrijk. De afwijkingen van het bronchusepitheel, kan men volgens hen in dezelfde mate waarnemen bij infecties door pneumococci, op grond waarvan zij voor de diagnose influenza het zwaartepunt meer naar de veranderingen opgetreden in het longparenchym hebben verplaatst.

DE BALOGH (1939) die evenals STRAUB necrose en desquamatie van het bronchiaal en alveolair epitheel heeft waargenomen, schrijft een deel van de microscopisch waargenomen afwijkingen toe aan een motorische dysfunctie van het spierweefsel rondom de bronchioli en longarteriën als gevolg van laesies van de ganglioncellen, gelegen in de bronchiaalwand.

Ook NELSON en OLIPHANT (1939) hebben muizen intranasaal met een influenza A-virus (P.R. 8 stam) besmet. Zij hebben de longen kortere of langere tijdstippen na de infectie onderzocht. De eerste tekenen van beschadiging van het bronchiaalepitheel en de lichte bronchitis hebben zij evenals STRAUB reeds na 24 uur waargenomen. De necrose van het epitheel is na 48 uur duidelijker, terwijl men dan tevens perivascuair oedeem met een geringe perivasculaire en peribronchiale infiltratie van kleine mononucleaire cellen ziet optreden. Na de derde tot vierde dag is het oedeem meer diffuus, terwijl dan een beginnende infiltratie respectievelijk exsudatie van polymorphkernige leucocyten en mononucleaire cellen in de alveolaire septa en alveolaire ruimten valt waar te nemen. Een groot gedeelte van het epitheel van de bronchiaalwand is dan verdwenen.

Muizen die 6 dagen na de infectie nog in leven waren, vertonen een bronchiaal epitheel dat metaplastisch veranderd is.

BIJLMER (1941) vat de voor experimentele muizeninfluenza na besmetting met de W.S. stam kenmerkende longbeelden als volgt samen:

- 1c. de epitheelveranderingen van de bronchi variëren tussen degeneratie, onregelmatige woekering en regeneratie tot een één- of meerlagig plaveisel- of meerrijig cilinderepitheel.

- 2e. opvulling en verstopping van de bronchi met necrotische massa.
- 3e. peribronchiale en perivasculaire infiltratie.
- 4e. verbreding van de alveolaire tussenschotten door ontstekingsinfiltraten en uitgezette bloedvaten.
- 5e. verdwijnen van de alveolairtekening, deels door opvulling met vocht of cellig materiaal (waaronder vaak erythrocyten), deels door collaps.
- 6e. hyperaemie, soms gepaard met haemorrhagieën, de laatste vooral bij aan experimentele influenza gestorven muizen.

Hij erkent de mogelijkheid, dat verschillende virus-stammen ook wel wat wisselende reacties zullen kunnen opwekken. Hij weerspreekt de opvatting van STRAUB, dat er in de meeste gevallen van een *zuivere* atelectase zou kunnen worden gesproken, omdat de beelden daarvoor te ingewikkeld en vaak te uiteenlopend zijn.

BIJLMER heeft dus de gulden middenweg gekozen, al bekent hij, dat hij aan het histologische deel van zijn onderzoek niet die aandacht heeft besteed als de hiervoor genoemde onderzoekers.

Tenslotte hebben ook HOYLE en ORR (1945) van dag tot dag nagegaan de longveranderingen die zich bij muizen voordoen na de intranasale besmetting met de influenza stam W.S. Ook zij zien na 24 uur een geringe desquamatie en ontsteking van het bronchiaal-epitheel optreden, dat, na weer 24 uur, duidelijk gedegeneerd is. Dan ziet men propjes mucopurulent exsudaat in het lumen, plaatselijke bronchiolaire dilatatie en een peribronchitis. Na 72 uur is op verschillende plaatsen het epitheel van de bronchiaalwand verdwenen, terwijl na 4—6 dagen de regeneratie een aanvang neemt.

Zij menen, dat de histologische afwijkingen die men in de alveoli en alveolaire septa waarneemt, gelijken op de veranderingen die men bij bacteriële infecties ziet.

Hier blijkt dus ook weer dat de meningen, wat de beschreven afwijkingen bij de muis na experimentele besmetting met influenza A-virus betreft, niet in alle opzichten eensluidend kunnen worden genoemd.

Slechts OLIPHANT en PERRIN (1942) hebben de histopathologie van de experimentele infectie met influenza B-virus bij muizen beschreven. Zij beweren dat de veranderingen gelijk zijn aan die, welke zijn waargenomen na besmetting met het A-virus. Zij hebben wederom degeneratieve veranderingen van het epitheel van de bronchi waargenomen, welke na enkele dagen wordt gevolgd door een regeneratieve proliferatie. Ook zij hebben in latere stadia epitheliale cellen de alveoli zien opvullen.

De onderzoeken van DUBIN (1945) bij muizen, besmet met het virus van de varkensinfluenza, stemmen, wat de histologische afwijkingen in de longen betreft, vrijwel volledig overeen met de bevindingen van STRAUB.

Er is naast het beeld van een bronchitis een „pneumonie” aanwezig, die gekenmerkt wordt door hyaline necrose van het alveolaire epitheel, hyperaemie van de longcapillairen met plaatselijke bloedingen, oedeem en een interstitiële infiltratie door mononucleaire cellen. Door het vinden van vele polymorphkernige leucocyten op de tweede en derde dag en de later optredende lymphocyttaire infiltratie wijkt zijn beschrijving belangrijk af van de door STRAUB beschreven beelden. De hyperplasie van het bronchiaalepitheel bereikt volgens DUBIN op de achtste tot de tiende dag zijn hoogtepunt en is na de veertiende tot twintigste dag verdwenen. Dat is in tegenspraak met de bewering van STRAUB, die deze hyperplasie 3—5 maanden na de infectie nog heeft waargenomen. DUBIN ziet dus dat na ongeveer 14 tot 21 dagen de alveoli weer luchthoudend worden en aan het respiratieproces kunnen gaan deelnemen.

DE HISTOPATHOLOGISCHE VERANDERINGEN VAN DE MUIZENLONG NA BESMETTING MET HET INFLUENZAVIRUS A¹, STAM V. 1949

Deze proeven hebben tweeërlei doel gehad. Ten eerste, om inzicht te krijgen in de veranderingen, die het in het Instituut voor Praeventieve Geneeskunde geïsoleerde en aldaar kortelings op muizen aangepaste influenzavirus (A¹ virus, stam V. 1949) veroorzaakt in de muizenlong, opdat dit tevens als vergelijkingsmateriaal kan dienen voor de infectieproeven bij muizen, waar de virusinfectie gevolgd wordt door een secundaire besmetting met *Micrococci*. Het tweede doel heeft beoogd, of het op grond van eventueel chronologisch opvolgende veranderingen mogelijk zal zijn te bepalen, bij welke van deze stadia de micrococcusinfectie het beste aanslaat; dat wil zeggen, het moment, waarop de longveranderingen, bij de mens beschreven, het meest benaderd worden bij de muis opdat mogelijk kan worden afgeleid, waarom de long op dat moment meer gevoelig is gebleken (prae-disponeert) voor de micrococcusinfectie, dan op andere tijdstippen.

Voor de peracut verloopende gevallen zal geen of misschien geen oorzaak kunnen worden aangewezen. Mogelijk speelt het longoedeem daar de belangrijkste en misschien nog passieve rol bij. De invloed van bacterietoxinen kan daarbij worden overwogen, doch nimmer op basis van de histologische veranderingen bewezen worden.

Er zijn groepen muizen besmet met virushoudende muizenlong-

suspensies na 9, respectievelijk 19 muispassages. De longsuspensie van de negende muispassage is onverdund gebruikt, die van de negentiende passage in de verdunning 1 : 50.

Herkomst van het influenzavirus

Het influenzavirus, waarmee voor een groot deel de in dit onderzoek beschreven besmettingsproeven bij fretten, konijnen en muizen zijn verricht, is eind Januari 1949 geïsoleerd uit het keelspoelsel van een grieppatiënte V., gedurende een periode waarin influenza onder meer in Nederland epidemisch is voorgekomen. Genoemd keelspoelsel is gewonnen op de tweede ziektedag. Na toevoeging van een penicilline-streptomycinemengsel heeft het gedurende enkele uren in de koelcel gestaan. Vervolgens is van dit keelspoelsel geënt in de amnionholte van bevruchte kippeneieren, die voordien 12 dagen zijn bebroed (Techniek van TAYLOR en CHIALVO 1942). Na de tweede amnionpassage heeft de geogste amnionvloeistof een positieve haemagglutinatatie (HIRST-proef) gegeven.

Van dit amnionvocht is geënt in de allantoisvloeistof van 10 dagen bebroede, bevruchte kippeneieren. Na de vijfde allantoispassage, waarbij een haemagglutinatietiter van 1 : 460 is verkregen, zijn een vijftal muizen intranasaal, onder aethernarcose, met 0.05 cc van deze influenzavirus-houdende allantoisvloeistof besmet.

Na een vijftal blinde passages bij de muis, waarbij van elke serie van 5 muizen 3 dagen na de besmetting van 3 dieren de longen zijn geogst, heeft het influenzavirus bij de twee contrôlemuizen na 10 dagen geringe longafwijkingen (+) veroorzaakt. Van elke muispassage zijn de geogste longen fijngewreven en gesuspendeerd, de suspensie is gecontrôleerd op steriliteit alvorens nieuwe muizen ermee in de neus zijn geënt. Bij eventueel opgetreden bacteriële verontreiniging van de longsuspensie is deze behandeld met een penicilline-streptomycinemengsel.

Na de negende en de negentiende muispassage is een virulentiebepaling van het aan muizen aangepaste influenzavirus verricht. Voor de resultaten van deze titraties zie men de figuren 1 en 2.

Het is veelal gebruikelijk de macroscopisch zichtbare afwijkingen van de muizenlong, veroorzaakt door het influenzavirus, in graden uit te drukken (BIJLMER 1941). De graad van het aanslaan van de infectie bij de muis met het influenzavirus wordt afgelezen aan de ernst van de longveranderingen en gewaardeerd met +, ++, +++ en ++++. Het teken + geeft aan, dat de afwijkingen nog zijn beperkt tot de hilus van de longen. Het teken ++++ geeft aan de

FIG. 1

Virulentiebepaling Stam V. 1949 ($E_5 M_9$) i. nas. 16-6-'49

Virusverdunding	1 : 1				1 : 10				1 : 20				1 : 50				1 : 100			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Muis																				
Datum																				
17-6
18-6
19-6
20-6
21-6
22-6
23-6	†	†
24-6			A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Longafwijkingen	++++	++++	+++	++	+	++	+	++	++	++	+	++	++	++	+	++	+	++	+	+

† = gestorven. A = gedood.

+, ++, +++ = graden van longlacsies.

++++ = volledig aangetaste longen.

— = geen afwijkingen.

volledig aangetaste longgedeelten, die men alleen bij stervende of gestorven muizen kan aantreffen (fig. 3).

Met het influenzavirus (A^1 , stam V. 1949, $E_5 M_9$) gewonnen uit longen van muizen, die gelijktijdig met de in de eerste titratie gebruikte onverdunde longsuspensie zijn besmet en na 3 dagen zijn gedood, zijn een deel van de in dit onderzoek beschreven onderzoeken bij muizen verricht. Hierdoor is het mogelijk geweest bij de muizenproeven met een influenzavirus te werken, dat niet te lang is aangepast aan de muizenlong en dat in onverdunde toestand een LD_{50} (50 % letality dilution end point) heeft.

De uit patiënte V. afgezonderde influenzastam behoort tot de A^1 groep (Geïdentificeerd in het influenza laboratorium van de kliniek voor Inwendige Ziekten van het Academisch Ziekenhuis te Leiden, Hoofd: Prof. Dr J. MULDER).

FIG. 2

Virulentiebepaling Stam V. 1949 ($E_s M_{10}$) i. nas. 5-7-'49

Virusverduunning	1 : 1				1 : 10			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Muis								
Datum								
6-7
7-7
8-7	†	†
9-7			†	.	†	†	.	.
10-7				.			.	.
11-7				.			†	†
12-7				.				
13-7				.				
14-7				.				
15-7				A				
Longafwijkingen	++++	++++	++++	++	++++	+	++++	++++

Zie voor verklaringen der tekens Fig. 1.

Sectietechniek muis

Voor het uitnemen van de longen en de trachea van muizen die bestemd zijn voor histologisch onderzoek kan men het beste als volgt te werk gaan, zonder dat men één van de genoemde delen behoeft aan te raken. De te seceren muis legt men met de ventrale zijde op een kurkenplaatje, daarna spreidt men de pootjes wijd uit en fixeert deze met spelden op het plaatje. Met alcohol (70 %) besprenkelt men de rugzijde van de huid, waarna men op het midden van de rug, de huid plooit met twee chirurgische pincetten. Door even flink te trekken scheurt de huid in, waarna men het dier van kop tot staart van zijn huid kan ontdoen. Beide huidgedeelten kan men zo nodig fixeren met een speld. Met een steriel chirurgisch pincet fixeert men vervolgens de lendenwervels en met behulp van een steriele schaar

Virulentiebepaling Stam V. 1949 (E₈ M₁₀) i. nas. 5-7-'49

1 : 20				1 : 50				1 : 100			
1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
.
.
.
.
.
†	†	.	.	†	†	.	.	†	.	.	.
		†	†			.	.		†	.	.
					
						†	.			†	†
							†				
++++	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

knipt men de ruggestreng ter hoogte van de overgang van lendenwervels naar de sacraalwervels door. Op enige afstand ter weerszijden van de wervelkolom, knipt men vervolgens de buikspieren en de ribben door, dan worden successievelijk de nieren, de milt en een deel van de maag, de lever en de organen van de borstholte zichtbaar. Knipt men nu halverhoogte de eerste ribben in en vervolgt men het inknippen ter weerszijden van de hals tot de kop van het dier, dan ziet men duidelijk de gehele trachea liggen. Het naar de kop omgeslagen deel van de wervelkolom kan men eventueel fixeren met een speld. Indien men dit wenst, kan men nu eerst uit één of meer organen bacteriologisch onderzoek verrichten.

Tussen de tanden van het pincet fixeert men het achterste deel van de oesophagus, knipt deze door tussen pincet en middenrif in, en trekt voorzichtig aan de gefixeerde stomp. Al de vliezen of strengen

waarmede de longen aan de borstholte, het hart of de thymus zijn bevestigd, knipt men door. Daarna prepareert men de trachea vrij en knipt deze door bij de larynx. Vervolgens dompelt men de longen en de trachea waaraan nog een stukje oesophagus, in de fixatievloeistof.

Gaat men volgens bovenstaande wijze te werk, dan krijgt men gelijktijdig een overzicht van eventuele pathologische veranderingen van de longen en overige organen, terwijl men iedere aanraking met de darmen vermijdt.

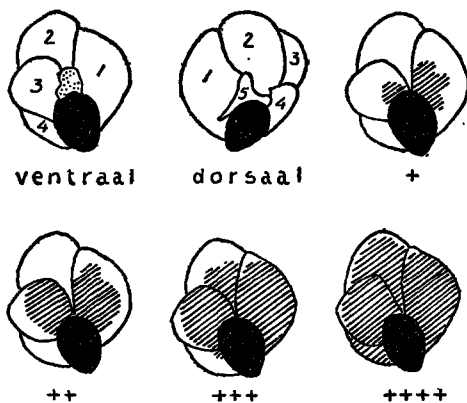


FIG. 3

Schematische voorstelling van de muizenlong en de macroscopische afwijkingen bij influenza. Het massief zwarte is het hart

Het histologisch onderzoek

Groepen van vier muizen zijn met tussenpozen van 24 uur na de intranasale infectie gedood of gestorven. De resultaten van het bacteriologisch onderzoek en de macroscopische afwijkingen van de longen zijn weergegeven in tabel 1. Het is niet doenlijk om van elk dier, waarvan de longen histologisch zijn onderzocht, een afzonderlijke beschrijving te geven. Daarom zijn de bevindingen in groepen, ingedeeld in resp. 1 tot 8 dagen na de infectie, samengevat. Indien evenwel opvallende verschillen onderling zijn waargenomen, dan is dit afzonderlijk vermeld.

Met nadruk wordt er hier op gewezen, dat alle dieren waarvan de mogelijkheid van een andere doodsoorzaak, b.v. het vinden van ziekelijke afwijkingen in andere organen dan de longen, een positief bacteriologisch onderzoek van laatstgenoemde organen, de longen niet in het onderzoek zijn betrokken. Zo zijn onder meer de longen van de muizen No. 1, 2, 9 en 13 niet in het onderzoek opgenomen.

TABEL I

Muis nr.	Aantal dagen na infectie gedood of gestorven								B.O.	Macroscopische longafwijkingen	
	1	2	3	4	5	6	7	8			
1	A									+	L. longhelft, donkerrood, oede- mateus gezwollen.
2	A									+	Geen
3	A									—	Geen
4	A									—	Geen
5	.	A								—	Iets gemarmerd aspect.
6	.	A								—	Iets gemarmerd aspect. Slecht samengevallen.
7	.	A								—	Iets gemarmerd aspect. Slecht samengevallen.
8	.	A								—	Iets gemarmerd aspect. Slecht samengevallen.
9	.	.	A							+	L. longhelft beeld purulente bron- chopneumonie (niet homogeen, grauwe sterretjes).
10	.	.	A							—	R. longtop hyperaemie. Slecht samengevallen longen.
11	.	.	A							—	Iets gemarmerd aspect. Slecht samengevallen.
12	.	.	A							—	+
13	.	.	.	†						+	R. long purulente bronchopneu- monische hardjes. Niet homo- geen van kleur met een onregel- matig oppervlak.
14	.	.	.	A						—	++
15	.	.	.	A						—	++
16	.	.	.	A						—	++
17	†					—	+++
18	†					—	+++
19	A					—	++
20	A					—	+++
21	†				—	+++
22	†				—	++++
23	A				—	+++
24				—	+++
25	†			—	+++
26	†			—	++++
27	A			—	++
28	A		—	+++
29	†	—	++++
30	†	—	++++
31	A		—	+++
32	A		—	+++

† = gestorven
A = gedood
+ tot ++++ =
graad van long-
laesies t.g.v. het
influenzavirus.
+ = positief
— = negatief

Muizen 1 dag na de intranasale besmetting met influenzavirus, stam V. 1949, gedood.

Trachea: Plaatselijk een geringe zwelling van de lumenzijde van de cilindrische epitheelcellen. Tussen de epitheelcellen met normaal uitzijnde kernen komen cellen voor met vaak afgeplatte, donkergekleurde pycnotische kernen. Soms treft men tussen de epitheelcellen een enkele verspreide polymorphkernige leucocyt aan.

In de trachea van vele muizen is een verhoogde slijmafscheiding waargenomen, terwijl het tracheaepitheel van één muis geen zichtbare veranderingen heeft getoond.

Bronchi: Bij laatstgenoemde muis zijn in het bronchiaalepitheel gedeelten gezien, waarvan het protoplasma van de cellen gezwollen is en waarbij deze cellen vaak pycnotische kernen bevatten. Bij de andere muizen zijn tussen normale epitheelcellen van de bronchi min of meer gezwollen cellen waargenomen met pycnotische kernen.

Peritracheaal, noch peribronchiaal zijn afwijkingen gezien.

Long: Het longweefsel is vooral aan het hilusdeel van de kwabben hyperaemisch en in geringe mate atelectatisch. Bij de long van één van de muizen zijn de alveolaire septa iets verbreed en in de alveolaire holten bij het hilusdeel is een geringe hoeveelheid gecoaguleerd vocht waargenomen. In de alveolaire septa soms enkele verspreid liggende polymorphkernige leucocyten. Perivasculaire infiltraties ontbreken.

Deze longhyperaemie en enigszins samengevallen alveoli aan de hilus van de kwabben zijn ook waargenomen bij muizen intrasaal „besmet” met steriele physiologische zoutoplossing, die na één tot twee dagen zijn gedood.

Muizen 2 dagen na de intranasale besmetting met influenzavirus (Stam V. 1949) gedood.

Trachea: De oppervlakkig gelegen epitheelcellen vertonen op verscheidene plaatsen een gezwollen aspect. Op dit epitheel bevindt zich vaak een dun laagje slijm vermengd met enkele necrotische cellen van het bekleedende epitheel van de bronchiaalboom, waarin kernresten en kernkruimels, en een enkele polymorphkernige leucocyt. ■

In de submucosa misschien plaatselijk enige hyperaemie, doch geen infiltratie van ontstekingscellen.

Bronchi: Even distaal van de bifurcatie en in het begindeel van de grote bronchi treft men grote gedeelten met volledig necrotische epitheelcellen aan. Hier en daar vindt men op de basaalmembraan een min of meer driekantige epitheelcel terug, die geen afwijkingen vertoont. Meer distaal in de bronchi is de structuur van het éénlagig

cylinderepitheel nog duidelijk te herkennen, al ziet men plaatsen waar het epitheel gezwollen is en soms donkergekleurde pycnotische kernen bevat. Het necrotische epitheel is evenals in de trachea nog vrijwel nergens gedesquameerd en ligt dus op de basaalmembraan. Vaak ziet men in de bronchi een scherpe begrenzing tussen necrotisch epitheel en het distaal daarvan gelegen, normaal uitzierende, bronchiaalepitheel. Elders ziet men echter enkele cellen met pycnotische kernen of kernkrumels tussen de nog normale, bekleedende epitheelcellen in liggen.

Van een perivasculaire of peribronchiale infiltratie is geen sprake, mogelijk ziet men een geringe toename van wat monocucleaire cellen en een enkele polymorphkernige leucocyt.

Van de kleinere bronchi is het epitheel weinig of niet veranderd, het heeft hoogstens een wat gezwollen aspect aan de lumenzijde, terwijl men hier en daar enkele cellen met een pycnotische kern ertussen ziet liggen.

In het lumen van de grote bronchi bevindt zich soms enig slijm vermengd met wat necrotische epitheelcellen, waarin kernkrumels.

Long: De veranderingen van het longparenchym beperken zich nog tot wat hyperaemie en speciaal rond de longhili zijn atelectatische gedeelten. De alveolaire septa zijn iets verbreed. Soms kleine emphysemateuze gebieden aan de periferie van de kwabben. Longoedeem is gering of ontbreekt.

De longen van één muis hebben dezelfde veranderingen getoond als die, beschreven bij de vorige groep.

Muizen, 3 dagen na de intranasale besmetting met influenzavirus (stam V. 1949) gedood.

Trachea: Het epitheel toont bij de verschillende muizen nogal uiteenlopende beelden. Men treft gedeelten aan waar het protoplasma van het epitheel aan de lumenzijde gezwollen is en soms een enkele pycnotische kern bevat. Tussen de epitheelcellen liggen van tijd tot tijd enkele polymorphkernige leucocyten. Op andere plaatsen ligt nog een enkele laag cubische epitheelcellen, soms met een pycnotische kern, op de basaalmembraan. Op deze cellaag ligt nu en dan een dun laagje necrotische cellen. Andere gedeelten van het epitheel zijn daarentegen niet afwijkend.

Merkwaardig is, dat pas distaal van de bifurcatie, de necrose van het epitheel van de luchtwegen begint.

In het lumen bevinden zich verspreid liggende celresten met kern-

kruimels of hoopjes gedequameerde necrotische epitheelcellen.

In de submucosa beperken de veranderingen zich tot een geringe hyperaemie. Peritracheaal zijn geen afwijkingen waargenomen.

Bronchi: In de meeste bronchi is het epitheel geheel necrotisch en soms gedequameerd, zodat men op de basaalmembraan of een genecrotiseerde cellaag aantreft of deze membraan is geheel ontdaan van bekledend epitheel. Ook hier ziet men in de meer centraal gelegen bronchi necrotisch epitheel, dat distaal, vrijwel zonder overgang, in normaal uitzierend cylinderepitheel overgaat. Soms treft men nog enkele gezwollen epitheelcellen met platte donkergekleurde kernen tussen deze normale cellen aan. (Photo 1).

Het lumen van de bronchi is een enkele maal geheel opgevuld met een prop gedequameerde, necrotische epitheelcellen (Photo 3), elders vindt men er verspreid enkele van deze cellen en enkele polymorphkernige leucocyten in liggen, weer andere zijn volledig open, terwijl de wand met necrotische of normale epitheelcellen bekleed is. (Photo 2).

Peribronchiaal ziet men bij enkele bronchi, waar het epitheel geheel necrotisch is, lokaal soms een geringe infiltratie door mononucleaire en enkele polymorphkernige cellen. Soms is er enige overvulling van de lymfhebanen met in het interstitium rondom deze lymfhebanen een lokale invasie van mononucleaire cellen. Perivasculaire infiltratie ontbreekt.

Long: Speciaal bij de hili van de longkwabben ziet men hyperaemische longgedeelten en enkele atelectatische plekjes. De alveolaire septa zijn verbreed tengevolge van de hyperaemie, op sommige plaatsen ziet men gezwollen alveolair epitheel en een geringe infiltratie door overwegend mononucleaire cellen en bij enkele longen wat longoedeem. Men ziet nergens in de alveolaire holten gecoaguleerd oedeemvocht. Wel ziet men hier en daar in het lumen van een aantal alveoli een of enkele grote mononucleaire cellen liggen.

De centraal gelegen longgedeelten zijn min of meer atelectatisch. Aan de periferie van de kwabben bevinden zich vaak emphysemateus verwijde alveoli.

Muizen, 4 dagen na de intranasale besmetting met influenzavirus (Stam V. 1949) gedood.

Trachea: Deze is bekleed met een vaak plaatselijk gezwollen epitheel, waardoor de oppervlakkige cellaag een onregelmatig aspect krijgt.

In het lumen liggen enkele hoopjes losliggende gedequameerde necrotische epitheelcellen, soms een enkele polymorphkernige leucocyt.

In de submucosa en peritracheaal, worden geen afwijkingen aangetroffen.

Bronchi: Van de grote bronchi is het epitheel grotendeels gedesequameerd, op enkele plaatsen zijn op de basaalmembraan verspreide platte cellen overgebleven. Tegen de wand bevinden zich soms nog restanten van necrotische epitheelcellen. Het lumen bevat over het algemeen geen inhoud of slechts enkele hoopjes necrotische epitheelcellen.

Ook het epitheel van de kleine bronchi, bronchioli en vele bronchioli respiratorii is necrotisch, dat al of niet gedesequameerd kan zijn. Enkele bronchioli bevatten nog normaal uitzierend epitheel, in het lumen hiervan bevindt zich soms gecoaguleerd oedeemvocht. De sterkste necrose van het epitheel van de bronchioli vindt men in de meest centraal gelegen longgedeelten.

Long: Wederom zijn in het hilusdeel van de kwabben de longveranderingen het hevigst. De kwabben met de meest uitgebreide veranderingen zijn aan de hilus vaak geheel atelectatisch, aan de periferie ziet men enig emphyseem. De alveolaire septa zijn verbreed tengevolge van hyperaemie, op enkele plaatsen longoedeem en een diffuse infiltratie door overwegend mononucleaire cellen.

In de meer distaal gelegen alveolairholten bevindt zich meestal enig gecoaguleerd oedeemvocht, in andere een of enkele grote mononucleaire cellen (macrophagen?).

Doordat in het hilusdeel van de kwabben de alveoli sterk zijn samengevallen is het vaak moeilijk een duidelijk beeld te vormen van de structuur van de septa.

De perivasculaire en peribronchiale infiltratie is veelal beperkt tot een enkel laagje mononucleaire cellen met ertussen verspreide polymorphkernigen. Op sommige plaatsen zijn de lymphebanen overvuld. Het perivasculaire bindweefsel is vaak verbreed tengevolge van oedeem.

Muizen, 5 dagen na de intranasale besmetting met influenzavirus (stam V. 1949) gestorven of gedood.

Trachea: Deze is bekleed met een epitheellaag, die behoudens op enkele plaatsen, een normaal aspect heeft. Ter hoogte van de bifurcatie wil het protoplasma van de oppervlakkige cellaag vaak onregelmatige vormen aannemen.

In de submucosa of het peritracheale bindweefsel zijn geen afwijkingen waargenomen.

Bronchi: Bij de bifurcatie en in de grote bronchi begint een bekleeding van één- of meerlagig niet verhoord plaveiselepitheel. De

cellen aan de basis bevatten lichtgekleurde kernen en men ziet enkele mitosen. De oppervlakkige cellaag heeft soms de neiging cylinder-epitheel te vormen, doch het aspect hiervan is heel onregelmatig. Vaak ontbreekt nog elke epitheliale bekleding. In het lumen liggen soms enkele groepjes gedesquameerde epitheelcellen. Distaalwaarts en in de kleine bronchi ziet men zo nu en dan éénlagig plat tot cubisch epitheel, dat overgaat in de bronchioli, vaak zonder enige bekleding. De lumina van deze bronchioli zijn veelal ledig of men vindt er enkele verspreide gedesquameerde epitheelcellen in. Verscheidene ervan zijn echter geheel opgevuld met proppen necrotische epitheelcellen.

De basaalmembraan en de muscularis mucosae van de grote bronchi zijn op verschillende plaatsen geïnfiltréerd met mononucleaire en enkele polymorphkernige cellen.

Long: De longen vertonen een uitgebreide hyperaemie. Oedeem is meestal in geringe graad aanwezig. De alveolaire septa zijn sterk verbreed tengevolge van capillaire hyperaemie en plaatselijk ook wel door oedeem.

Vooraf aan de longhili treft men in de alveolaire septa kleine infiltraties door overwegend mononucleaire cellen aan.

In het lumen van de alveoli aan de periferie bevindt zich soms wat gecoaguleerd oedeemvocht, elders enkele kleine mononucleaire cellen, soms enige polymorphkernigen en ook wel grote mononucleaire cellen. Langs de longranden zijn vele alveoli emphysemateus verwijld.

De perivasculaire en peribronchiale infiltratie ontbreekt merendeels, doch in enkele longgebieden (hili) is zij in geringe graad aanwezig en bestaat dan overwegend uit diffuus verspreid liggende mononucleairen.

Muizen, 6 dagen na de intranasale besmetting met influenzavirus (Stam V. 1949) gestorven of gedood.

Trachea: Het epitheel biedt een vrijwel normaal beeld, doch is op enkele plaatsen wat onregelmatig van oppervlakte.

In de submucosa is soms enige hyperaemie. In het peritracheale bindweefsel zijn geen afwijkingen gevonden.

Bronchi: Even distaal van de bifurcatie begint de regeneratie van het bekleedende epitheel. In een aantal bronchi is het nog éénlagig min of meer plat tot cubisch epitheel, in de meeste echter méérlagig niet verhoornd plaveiselepitheel. Het protoplasma van deze cellen is vrij donker, de kern daarentegen licht gekleurd. Verscheidene mitosen zijn gezien. Distaal loopt deze nieuw gevormde epitheelbekleding

uit in éénlagig plat tot cubisch epitheel om ergens in een bronchus, op zeer verschillende hoogten, te eindigen (photo 5). De overgang naar resten van het necrotische epitheel op de basaalmembraan van de kleinere bronchi is scherp afgetekend (photo 6).

In het lumen treft men meestal wat verspreid liggende groepjes gedesquameerde epitheelcellen aan en soms enkele polymorphkernige leucocyten.

De kleinere bronchi en bronchioli zijn meestal geheel ontdaan van een epitheelbekleding. Op de basaalmembraan liggen soms nog restanten van necrotische cellen, in het lumen groepjes van deze cellen en soms mononucleaire cellen, een enkele keer is het lumen geheel afgesloten door een prop gedesquameerde epitheelcellen. Soms ziet men in het lumen enkele erythrocyten.

Long: Naast de gebruikelijke hyperaemie ziet men vooral in de hilusgedeelten van vele longkwabben een diffuse infiltratie door vooral mononucleaire cellen en in mindere mate door polymorphkernige leucocyten. Eerstgenoemde cellen vindt men in de alveolaire septa en eveneens in geringe mate in het perivasculaire en peribronchiale interstitium. In de perifere gedeelten van de kwabben blijft deze infiltratie slechts tot rondom enkele bloedvaten en kleinere bronchi beperkt. Daar ziet men dus vrijwel alleen hyperaemie, oedeem en soms emphyseem.

In een aantal kwabben ziet men enig oedeem, vooral perivasculaair en peribronchiaal van de grotere bloedvaten en bronchi. Dit oedeem vindt men op enkele plekken terug in alveolaire septa en gecoaguleerd oedeemvocht in enkele alveolairruimten. In de alveolaire holten ziet men voorts nog wel mononucleaire cellen, macrophagen, doch zelden erythrocyten. Vaak zijn de alveoli in het hilusdeel sterk samengevallen.

Muizen, 7 dagen na de intranasale besmetting met influenzavirus (Stam V. 1949) gestorven of gedood.

Trachea: De epitheelbekleding toont geen afwijkende beelden. De oppervlakkige cellaag bij de bifurcatie toont in het lumendeel een gezwollen protoplasma.

In het lumen bevinden zich verspreide hoopjes necrotische epitheelcellen met enkele polymorphkernige leucocyten.

Peritracheaal zijn geen afwijkingen waargenomen, evenals in de submucosa.

Bronchi: Men ziet wederom regeneratie van het epitheel tot meerlagig niet verhoornd plaveiselepitheel, doch dit gaat distaal spoedig in

tweelagig en later in éénlagig plat tot cubisch epitheel over, om ineens te eindigen. Weer vele lichtgekleurde, blazige kernen („jonge”) en een enkele mitose.

Peribronchiaal soms enig oedeem. Vooral in de nabijheid van de vaak overvulde lymfhebanen enige infiltratie door mononucleaire cellen. In het oedemateus verdikte bindweefsel rondom de bronchi, bronchioli en bloedvaten ziet men soms plaatselijk een geringe toename van mononucleaire cellen.

Van de kleine bronchi en bronchioli is het epitheel meestal nog volledig necrotisch. Het ligt dan nog op zijn oorspronkelijke plaats op de basaalmembraan of het is gedesquameerd en vult als een prop het lumen geheel op, soms is het lumen ledig. In een enkele kleine bronchus en bronchiolus bij de hilus is geregenereerd éénlagig plat tot cubisch epitheel waargenomen, met blazige, lichtgekleurde kernen. Ook hier ziet men dat het epitheel van proximaal in distale richting langs de propria mucosa regeneert.

Peribronchiolair bevindt zich veelal een geringe cellige infiltratie door overwegend mononucleaire cellen.

Long: De long is weer diffuus hyperaemisch, vooral in de hilusgedeelten van de kwabben atelectatisch en in de alveolaire septa is een diffuse infiltratie door mononucleairen. Het oedeem is plaatselijk verschillend, waardoor ook de inhoud van de alveolaire holten wisselt. Soms treft men hierin gecoaguleerd oedeemvocht aan, elders enkele grote of kleine mononucleaire cellen of een enkele polymorphkernige leucocyt. Aan de randen van de kwabben is vaak enig emphyseem.

Muizen, 8 dagen na de intranasale besmetting met influenzavirus (Stam V. 1949) gestorven of gedood.

Trachea: Het epitheel biedt bij een enkele muis een gezwollen aspect. De oppervlakkige cellen in het distale deel van de trachea zijn vaak knotsvormig, waarbij het brede gedeelte naar het lumen toe is gericht. De kernen van de cellen zijn doorgaans lichtgekleurd, blazig. Van tijd tot tijd ziet men een enkele polymorphkernige leucocyt tussen de epitheelcellen inliggen.

In het lumen bevinden zich zo nu en dan gecoaguleerd oedeemvocht, verspreide gedesquameerde epitheelcellen, enkele erythrocyten, wat mononucleairen en een sporadische polymorphkernige leucocyt. De submucosa biedt, evenals het peritracheale bindweefsel, geen afwijkende beelden. Hoogstens mag men op een enkele plaats van een geringe hyperaemie spreken.

Bronchi: In het begindeel van de grote bronchi biedt het epitheel

soms dezelfde beelden als in de trachea. Hierdoor lijkt het lumen vaak vernauwd. Meer distaal gelegen bronchi zijn bekleed met twee- of éénlagig, min of meer cilindrisch, plat tot cubisch epitheel (wederom met lichtgekleurde, blazige kernen), dat plotseling eindigt in een kleinere bronchus of bronchiolus geheel van epitheel ontdaan. In het lumen van de grote bronchi bevindt zich dezelfde inhoud als in de trachea, in de kleine bronchi en bronchioli liggen nog gesquameerde necrotische epitheelcellen, die soms als prop het lumen geheel afsluiten. Elders zijn zij geheel ledig, zijn zonder epitheelbekleding, of bevatten eiwitneerslagen uit oedeemvocht.

Er is soms peribronchiaal en perivascuair oedeem met een geringe infiltratie door overwegend mononucleaire cellen, perivascuair wel eens meer polymorphkernige leucocyten.

Long: Naast de sterke hyperaemie, is er veelal aan de hili van de kwabben, doch ook diffuus in de long, enige infiltratie door overwegend mononucleairen.

De graad van het oedeem is plaatselijk wisselend, wat weer aansluit op de wisselingen van de inhoud van de alveolairholten; oedeemvocht, kleine of grote mononucleairen, een enkele polymorphkernige leucocyt, zelden erythrocyten. Aan de longranden is het gebruikelijke emphyseem waargenomen, aan de hilus zijn de longen atelectatisch. De longbeelden komen gemiddeld vrijwel overeen met die beschreven bij de vorige groep.

BESPREKING

De veranderingen van het epitheel van de bronchiaalboom en in de longen bij de muis, veroorzaakt door het influenzavirus (A¹, stam V., 1949), komen dus vrijwel geheel overeen met de beelden die STRAUB (1940) bij de muizenlong heeft beschreven na de infectie met het A-virus (W.S.). Voor zover ik aan de hand van de beschrijving van STRAUB kan afleiden, is het enige wezenlijke verschil het geringe of vaak ontbrekende longoedeem in de aanvang van het proces bij de muizen besmet met A¹ virus. Reeds binnen 48 uur na de infectie met de W.S. stam blijkt in de alveolaire holten van de longen van muizen reeds uitgebreid oedeemvocht te zijn gevormd. De eerste maal dat in kleine groepjes alveoli gecoaguleerd oedeemvocht is aangetroffen, na de infectie met stam V. 1949, is geweest na 4 tot 5 dagen. Niet eerder dan de zevende dag na de besmetting is het voorkomen van eiwitneerslagen uit oedeemvocht in de alveolaire ruimten algemeen.

Mogelijk vindt dit zijn oorzaak in de nog geringe virulentie (ge passage) van dit virus voor de muizenlong. De bevindingen van

NELSON en OLIPHANT (1939) met de PR. 8 stam (A-virus) duiden erop, dat ook dit virus niet zo snel oedeem in de longen doet ontstaan (na ongeveer 3 à 4 dagen).

Aangezien echter de veranderingen van het bekleedende epitheel van de bronciaalboom en de secundaire longafwijkingen, geheel passen in het raam van het schema door STRAUB opgesteld, is verdere discussie over dit onderdeel overbodig.

HET HISTOLOGISCH ONDERZOEK VAN MUIZENLONGEN BESMET MET MICROCOCCLUSULTUUR

PROEFOPSTELLING:

Voor de infectieproeven bij muizen, zijn twee haemolytische micrococcusstammen aangewend, waarvan te voren is bepaald dat kleine doses cultuur intraperitoneaal toegediend, deze dieren binnen enkele dagen doodt.

Van genoemde stammen zijn 18 uur oude cultures op bloedagarbuizen gesuspendeerd in steriele physiologische zoutoplossing en met 0,05 cc. van ieder van deze suspensies zijn 24 muizen, na aethernarcose, intranasaal besmet. Gedurende 12 dagen na de besmetting zijn iedere dag van elke groep 2 muizen gedood en geseceerd. De longen zijn bacteriologisch onderzocht en, na formolfixatie, is van deze longen histologisch onderzoek verricht.

RESULTATEN:

Tabel 2 geeft een overzicht van de longafwijkingen die macroscopisch zijn waargenomen, alsmede de resultaten van het bacteriologisch onderzoek van de longen op haemolytische micrococci.

Uit dit bacteriologisch onderzoek van de longen is gebleken, dat *Micrococci* zich hoogstens twee dagen na de intranasale besmetting in deze organen hebben kunnen handhaven.

Voorts is geen van de 48 muizen tengevolge van de intranasale micrococcusinfectie spontaan gestorven. Wel zijn zij de eerste 24 uur na de besmetting wat suf geweest, doch geen enkel dier heeft daarna nog een zieke indruk gemaakt. De te doden dieren zijn zeer willekeurig gekozen, aangezien bij de muizen geen ziekteverschijnselen zijn waargenomen. Bezieet men voorts in de tabel de beschreven macroscopische veranderingen, dan blijkt dat, muizen na 24 uur en 48 uur gedood, alle een afwijkend aspect van de longen hebben.

Na drie tot elf dagen blijken slechts 1 of soms 2 muizen nog min of meer ernstige macroscopische veranderingen te vertonen en de muizen op de 12e dag na de infectie gedood, vertonen alle normale longen.

Aangezien de longafwijkingen voor geen enkele van de twee micrococcusstammen van elkaar verschilden en deze afwijkingen gelijkelijk over de beide groepen muizen, met één van de micrococcusstammen besmet, zijn verdeeld, zijn alle dieren in één groep samen-gevat.

Histologisch onderzoek

Muizen, 24 uur na de besmetting met 0,05 cc suspensie van een 18 uur oude micrococcuscultuur gedood.

(N.B. De longen van deze vier muizen hebben alle afwijkingen vertoond, waarvan hier een samenvatting volgt.)

Trachea: Het cilindrisch epitheel, noch de submucosa of het peritracheale bindweefsel tonen enige verandering, terwijl men in 't lumen een normale hoeveelheid slijm aantreft, gelegen tegen de bekleedende epitheelcellaag.

Bronchi: Ook hier is het epitheel intact, hoogstens maken de cellen aan de lumenzijde van de, enkele met purulent exsudaat gevulde, kleinere bronchi een enigszins gezwollen indruk. Peribronchiaal ziet men bij enkele bronchi reeds een beginnende infiltratie door polymorphkernige leucocyten, doch meestal beperkt deze infiltratie zich nog tot het interstitium rondom een aantal bloedvaten. In het lumen van deze bloedvaten ziet men tegen de wand plaatselijke ophopingen van polymorphkernige leucocyten, waarbij een beginnende emigratie van deze cellen door de wand valt waar te nemen.

Bronchioli: Het epitheel is ook hier intact. In het lumen treft men plaatselijk wat purulent exsudaat aan, doch nimmer gecoaguleerd oedeemvocht of fibrinedraden.

Alveoli: Over het algemeen maakt het alveolairepitheel een gezwollen indruk, vooral van die alveoli welke in het hilusdeel van de long zijn gelegen. Aan de periferie van de longkwabben, tonen de alveoli doorgaans geen afwijkingen, tenzij zij iets atelectatisch zijn of enkele die een weinig emphysemateus zijn.

Uitgaande van de hilus ziet men veelal verbrede alveolaire septa. Men ziet een geringe hyperaemie van de longcapillairen, doch nergens een oedemateuze zwelling van de alveolaire septa. Dat de alveolaire septa verdikt zijn, vindt grotendeels zijn oorzaak in het gezwollen

TABEL 2

Muis Nr	Aantal dagen gedood of gestorven na infectie												B.O.	Muis Nr	Macroscopische longafwijkingen	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12				
1	A													+	1	L. + R. hoofdkwab enkele kleine hyaline roze haardjes.
2	A													+	2	Gemarmerd longweefsel. L. topkwabje bloedrood.
3	A													+	3	Speciaal bij de hilus vlekkelig grauwoze longweefsel.
4	A													-	4	Speciaal bij de hilus vlekkelig grijsrood longweefsel.
5	.	A												+	5	Longkwabben bij de hilus gemarmerd grijsrood longweefsel.
6	.	A												+	6	Longkwabben bij de hilus gemarmerd grijs tot roodpaars. Pneumonie.
7	.	A												-	7	Longkwabben bij de hilus gemarmerd grijs tot roodpaars. Pneumonie.
8	.	A												-	8	Linker middenrikskwab aan de top een egaal gekleurd grijsrood pneumonisch haardje. Ook hilusgedeelten grijsrood, pneumonisch.
9	.	.	A											-	9	Beide topkwabben gemarmerd grijsrood, pneumonie.
10	.	.	A											-	10	Geen.
11	.	.	A											-	11	Geen.
12	.	.	A											-	12	Geen.
13	.	.	.	A										-	13	Top linker hoofdkwab gemarmerd roodpaars. Pneumonie, tot bij de hilus beperkt.
14	.	.	.	A										-	14	L. long hyperaemische plek.
15	.	.	.	A										-	15	Geen.
16	.	.	.	A										-	16	Verspreid over longweefsel kleine atelectatische plekjes.
17	A									-	17	R. middenrikskwab gemarmerde grijsrood-roodpaarse plekken. Pneumonie.
18	A									-	18	Geen.
19	A									-	19	Geen.
20	A									-	20	Geen.
21	A								-	21	1 Longkwab klein pneumonisch haardje, vlekkelig, roodpaars.

22	Linker topkwabben en hartekwab gemarmerd grauwood, pneumonisch.
23	Geen.
24	Geen.
25	Linker topkwab pneumonische haard, gemarmerd grijsrood.
26	L. longkwab klein pneumonisch haardje.
27	Geen.
28	Geen.
29	R. topkwab gemarmerd, pneumonisch. L. kwab bij de hilus grauwood, pneumonisch.
30	Geen.
31	Kleine alectatische plekjes longtop.
32	Geen.
33	R. topkwab gemarmerd paarsrood, pneumonisch. Andere kwabben rondom de hilus grijsrode plekken.
34	R. longkwab pneumonisch, grauwood, gemarmerd.
35	Geen.
36	Geen.
37	Linker longkwab gemarmerd grijsroze, pneumonisch.
38	Geen.
39	Geen.
40	Geen.
41	Geen.
42	Linker long pneumonie, gemarmerd, grauwood. R. long aan de hilus pneumonie en de rand gemarmerd, grijsroze.
43	Geen.
44	Geen.
45	Geen.
46	Geen.
47	Geen.
48	Geen.

22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
27	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
31	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
32	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
33	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
34	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
35	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
36	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
37	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
38	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
41	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
42	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
43	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
44	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
45	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
46	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
47	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

+ = Micrococi uit longen geïsoleerd. A = gedood.

— = Geen Micrococi uit longen geïsoleerd.

alveolair epitheel, de beginnende infiltratie van ontstekingscellen en het gedeeltelijk samenvallen van deze longgedeelten.

In een aantal complexen van alveoli, verspreid over de gehele kwab (sommige kwabben vertonen in het geheel geen of vrijwel geen veranderingen) ziet men ophopingen van polymorphkernige leucocyten, waardoor het beeld ontstaat van een beginnende haardvormige purulente pneumonie. De histologische beelden wijzen uit, dat men met een aërogene infectie te doen heeft, omdat de grootste veranderingen vooral rondom de hilus en rondom de kleine bronchi zijn gelegen en deze veranderingen zich in perifere richting over de aangetaste kwabben verspreiden.

Conclusie: Wij hebben bij deze muizen dus te maken met een haardvormige purulente pneumonie, van bronchogene oorsprong in het begin van zijn ontstaan, waarbij het bekleedende epitheel van de gehele bronchiaalboom volkomen intact is gebleven.

Muizen, 48 uur na de besmetting met 0,05 cc suspensie van een 18 uur oude micrococccuscultuur gedood.

(N.B. De longen van deze vier muizen hebben alle in mindere of meerdere mate afwijkingen vertoond, waarvan hier de samenvatting volgt.)

Trachea: Geen afwijkingen. De epitheelcellen zijn soms bedekt met een dun laagje slijm, waarin een sporadische polymorphkernige leucocyt is gelegen.

Bronchi: Het epitheel biedt geen afwijkende beelden. Tussen de epitheelcellen van de bronchi (ook de kleine) waarin zich een purulent exsudaat bevindt, ziet men een infiltratie door enkele polymorphkernige leucocyten. In de submucosa van enkele grote bronchi zijn infiltraten van polymorphkernige leucocyten gevormd, terwijl de peribronchiale infiltratie met deze cellen plaatselijk kan wisselen in intensiteit, ja, zelfs geheel kan ontbreken. De kleine bronchi en bronchioli vertonen geen of vrijwel geen infiltratie door ontstekingscellen in het omgevende bindweefsel, tenzij zij bij of in pneumonische hardjes liggen.

In het lumen van de bronchi liggen zeer uiteenlopende hoeveelheden purulent exsudaat, vaak ontbreekt het zelfs geheel. De lumina van de kleine bronchi en bronchioli zijn, voor zover laatstgenoemde door pneumonische hardjes zijn omgeven, gevuld met dit exsudaat.

De perivasculaire infiltratie is over het algemeen gering of ont-

breekt, behalve bij die bloedvaten, gelegen in de pneumonisch veranderde haardjes.

Ook bij deze muizen ziet men de meeste en ernstigste longveranderingen in de hilusgedeelten van de kwabben, hoewel verspreid in de longkwabben circumbronchiaal ook pneumonisch veranderde plekken voorkomen. In de pneumonisch veranderde haardjes ziet men een infiltratie door polymorphkernige leucocyten, met in de alveolairruimten een purulent exsudaat.

Nergens treft men in de longen gecoaguleerd oedeemvocht, erythrocyten of fibrine in de alveolaire ruimten aan. De alveolaire septa van de pneumonisch veranderde gedeelten zijn veelal verbreed, deels ten gevolge van de cellige infiltratie en deels doordat de alveoli enigszins samengevallen zijn. Aan de rand van de ontstekingshaarden treft men vaak enig emphyseem aan.

Nergens is abscesvorming waargenomen.

Conclusie: In tegenstelling tot de influenzalongen ziet men een volkomen gaaf epitheel, terwijl de longveranderingen sterk gelocaliseerd zijn (haardvormig), circumbronchiaal en nergens is het hele longweefsel in het ontstekingsproces betrokken. In vergelijking tot de longbeelden bij de vorige groep muizen (na 24 uur gedood) ziet men betrekkelijk weinig verschillen, hoogstens zijn de ontstekingshaarden iets groter.

Enkele longkwabben van deze groep muizen tonen zelfs in mindere mate veranderingen dan die van de groep muizen die na 24 uur zijn gedood.

Muizen, 3 dagen na de besmetting met 0,05 cc suspensie van een 18 uur oude micrococccuscultuur gedood.

(N.B. Slechts één paar longen heeft afwijkingen vertoond, waarvan hieronder een beschrijving is gegeven. De overige drie paren longen zijn hyperaemisch en soms plaatselijk (hili) wat atelectatisch. Rondom enkele bloedvaten is een geringe infiltratie door polymorphkernige leucocyten waargenomen. Ook is een dergelijk infiltraat in het interstitium rondom een bronchus gezien.)

Het epitheel van de *trachea* biedt een normaal beeld. In de submucosa ziet men een geringe hyperaemie, terwijl men peritracheaal soms een toename van mononucleaire cellen waarneemt. Het lumen bevat geen afwijkende inhoud.

Ook het epitheel van de *bronchi* en *bronchioli* is onveranderd. Het lumen ervan is leeg. Rondom de bronchi van een aantal kwabben

ziet men in het interstitium een infiltratie door soms overwegend mononucleaire cellen, elders meer polymorphkernige leucocyten. Hetzelfde geldt voor een aantal bloedvaten in deze kwabben, doch hier overheersen de polymorphkernige leucocyten.

In de lumina van de peribronchiaal gelegen alveoli van de ontstoken kwabben ziet men verspreide polymorphkernige leucocyten. Tevens treft men grote mononucleaire cellen aan, waarbij men in het protoplasma talrijke gefagocyteerde *Micrococci* ziet liggen. De alveolaire septa zijn sterk verbreed, deels tengevolge van de hyperaemie van de longcapillairen en deels door de infiltratie, speciaal met polymorphkernige leucocyten. Aan de periferie van deze kwabben is vaak een gering emphyseem.

De overige longkwabben tonen een geringe hyperaemie, doch weinig of geen infiltratie door ontstekingscellen. Deze laatste is dan meestal nog perivasculair.

Conclusie: Naast de beelden van een haardsgewijze purulente (broncho)pneumonie, in enkele kwabben, ziet men in deze longen een phagocytose van de ziekteverwekker. Het aspect van de pneumonie is aan het veranderen, waarbij een neiging tot resorptie van het proces valt waar te nemen.

Muizen, 4 dagen na de besmetting met 0,05 cc suspensie van een 18 uur oude micrococculuscultuur gedood.

(N.B. Hier geldt hetzelfde als bij de vorige groep muizen is vermeld.)

Het epitheel van de *trachea* is op verschillende plaatsen vrij sterk gezwollen. Plaatselijk kan de infiltratie door polymorphkernige leucocyten in het epitheel vrij sterk zijn, doch nergens is het epitheel necrotisch of gedesquameerd. Vooral het aantal bekerzellen lijkt soms sterk toegenomen. Subepitheliaal worden nu en dan kleine ophopingen van polymorphkernige leucocyten aangetroffen.

De submucosa bevat hyperaemische bloedvaten. Ook ziet men hier plaatselijk ophopingen van polymorphkernige leucocyten, doch deze groepjes zijn nimmer van grote omvang. In het peritracheale bindweefsel ziet men diffuus verbreed een geringe toename van polymorphkernige leucocyten.

Het lumen van de *trachea* wordt vrijwel geheel opgevuld met een purulent exsudaat, waartussen sporadisch een epitheelcel ligt.

Bij de bifurcatie en het begin van de *grote bronchi*, ziet men eveneens het gezwollen cilindrische epitheel en de bekerzellen, doch meer distaal krijgt het epitheel een meer normaal aspect.

Al mag het bekleedende epitheel van de bronchi en bronchioli een enigszins gezwollen indruk maken, het is overal intact. In de niet bronchopneumonisch veranderde kwabben treft men enkele verspreide polymorphkernige leucocyten in het lumen van de bronchi aan. Enkele longkwabben bieden, vooral aan het hilusdeel, het beeld van een haardvormige purulente (broncho)pneumonie. De longcapillairen zijn gestuwd, de alveoli bevatten purulent exsudaat, doch nergens ziet men abscesvorming. De tekening van de alveolaire septa is in de pneumonische haardjes overal nog te herkennen en men treft er geen necrotische cellen in aan.

De randen van de longkwabben zijn doorgaans niet in het ontstekingsproces betrokken. Wel zijn de longcapillairen daar hyperaemisch en ziet men atelectatische naast emphysemateuze plekken.

De niet pneumonisch veranderde kwabben tonen een geringe hyperaemie, zijn hier en daar enigszins atelectatisch, en rondom een aantal bloedvaten ziet men een geringe infiltratie door polymorphkernige leucocyten.

Conclusie: Het bronchopneumonische proces gaat hier dus ook uit van de hilus en verbreidt zich in perifere richting. *Micrococci* zijn niet waargenomen. Beelden die op resorptie duiden zijn in deze longen niet gezien.

Muizen, 5 dagen na besmetting met 0,05 cc suspensie van een 18 uur oude micrococccuscultuur, gedood.

(N.B. Als bij beide vorige groepen.)

Het *tracheaepitheel* maakt een volkomen normale indruk, evenals het overige weefsel van de luchtpijp.

Ook is het epitheel van de *bronchi* en bronchioli intact. De lumina van deze bronchi en bronchioli zijn, voor zover deze laatste in het bronchopneumonisch veranderde weefsel liggen, opgevuld met purulent exsudaat.

De kwabben zonder pneumonische veranderingen zijn hyperaemisch en rondom enkele bloedvaten ziet men infiltraties door polymorphkernige leucocyten.

Ook hier valt duidelijk de haardsgewijze purulente (broncho)pneumonie te herkennen.

De peribronchitis is betrekkelijk gering. Peribronchiolair is de infiltratie door polymorphkernige leucocyten zeer wisselend. Hetzelfde geldt voor de perivasculaire infiltratie. Het ontstekingsproces is vooral rondom de kleinere bronchi en bronchioli gelocaliseerd, waardoor

vooral de aan deze luchtwegen grenzende alveoli opgevuld zijn met purulent exsudaat. De alveolaire septa zijn hier ook sterk hyperaemisch.

De overige longgedeelten van deze kwabben zijn veelal atelectatisch, terwijl de hyperaemie slechts gering is. Plaatselijk is er soms enig emphyseem aan de periferie.

Conclusie: als bij vorige groep.

Muizen, 6 dagen na besmetting met 0,05 cc suspensie van een 18 uur oude micrococcuscultuur, gedood.

(N.B. Zoals bij beide vorige groepen muizen is vermeld.)

Tracheaweefsel ontbreekt.

Het epitheel van de *bronchi* heeft aan de lumenzijde een enigszins gezwollen aspect, is soms geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten, doch is overal geheel intact. In het lumen treft men wisselende hoeveelheden purulent exsudaat aan, waartussen soms enkele gesquameerde epitheelcellen zijn te herkennen. Vooral rondom deze ontstoken bronchi treft men de bronchopneumonische hardjes aan.

De alveoli hiervan zijn opgevuld met purulent exsudaat, evenals de bronchioli waarvan het epitheel onveranderd is. De alveolaire septa zijn verbreed, hyperaemisch, en overal duidelijk te herkennen (geen abscesvorming).

De longen zijn hyperaemisch. In de pneumonische kwabben ziet men flinke perivasculaire infiltraten rondom de grotere bloedvaten. De peribronchiale infiltratie kan plaatselijk sterk wisselen.

Rondom de longhaardjes is het longweefsel atelectatisch en hyperaemisch.

De niet pneumonisch veranderde kwabben tonen enige hyperaemie en soms enige infiltratie door mononucleaire en polymorphkernige cellen.

Conclusie: Hier dus weer de haardsgewijze purulente bronchopneumonie van bronchogene oorsprong met peribronchiale of circumbronchiale uitbreiding. De histologische beelden komen vrijwel overeen met de beelden bij de beide vorige groepen muizen beschreven.

Muizen, 7 dagen na besmetting met 0,05 cc suspensie van een 18 uur oude micrococcuscultuur, gedood.

(N.B. Slechts in twee van de vier longen zijn histologische afwijkingen gevonden, waarvan een samenvatting volgt.)

Trachea: Het epitheel maakt een gewoekerde indruk (hyperplastisch) en ligt sterk geplooid. Overigens is het intact, al ziet men plaatselijk

infiltraties door polymorphkernige leucocyten, die ook subepitheliaal kunnen voorkomen.

In de submucosa worden hyperaemie en een infiltratie door polymorphkernige leucocyten, waarvan het aantal plaatselijk zeer sterk kan wisselen, aangetroffen.

In het lumen bevindt zich een weinig purulent exsudaat.

Longen: Ook hier ziet men zeer uiteenlopende beelden in de verschillende longkwabben. Sommige bieden een normaal beeld, behoudens een geringe infiltratie door mononucleaire cellen en polymorphkernige leucocyten, andere zijn min of meer emphysemateus veranderd.

In een andere kwab ziet men bronchi met in het lumen wat slijm en enkele polymorphkernige leucocyten. In het peribronchiale bindweefsel van deze bronchi ziet men plaatselijk dichte infiltraties door polymorphkernigen, vooral rondom de begeleidende arteriën. Ook de alveoli, die aan deze bronchus grenzen, bevatten veelal een purulent exsudaat (circumbronchiale consolidatie), terwijl de alveolaire septa en het interlobulaire bindweefsel ook geïnfiltrerd zijn met polymorphkernige leucocyten. Het longweefsel rondom deze haarden ziet er rustig uit, waardoor men de indruk krijgt van een tot stilstand gekomen ontstekingsproces en niet van een nog voortschrijdende purulente haardvormige bronchopneumonie. Het omgevende longweefsel van deze haarden is atelectatisch, terwijl aan de periferie van de kwabben nog een geringe hyperaemie van longcapillairen en kleine emphysemateuze plekken zijn waar te nemen.

In de haarden zelf ziet men alveoli, waarin maar een betrekkelijk geringe hoeveelheid purulent exsudaat valt waar te nemen, terwijl tegen de alveolaire septa blazige cellen liggen. Ook in de corresponderende bronchioli ziet men maar een geringe hoeveelheid purulent exsudaat, hoewel de peribronchiale en perivasculaire infiltraten nog in dezelfde mate aanwezig zijn als bij de longen van de vorige groepen muizen.

Conclusie: Het aspect van de pneumonische processen is veranderd, zonder dat direct gezegd kan worden, dat er resorptie in het ontstoken weefsel is waar te nemen. Het geeft meer de indruk, dat verhoogd alveolair epitheel (phagocyten, adventitiacellen) de plaats van het purulente exsudaat gaat innemen.

Muizen, 8 dagen na de besmetting met 0,05 cc suspensie van een 18 uur oude micrococccuscultuur, gedood.

(N.B. Slechts 1 paar longen toont afwijkingen, de overige vertonen plaatselijk wat sterk gecollabeerde gedeelten.)

Tracheaweeftel is niet getroffen.

Ook hier wisselen de longbeelden niet alleen kwabsgewijs, maar in één kwab treft men zeer uiteenlopende beelden aan. Duidelijk is wederom de bronchogene ontwikkeling van het proces te herkennen. In elke kwab ziet men wel een purulente bronchitis en peribronchitis of nog aanwijzingen daarvan, doch de uitbreiding over de kwabben kan zeer uiteenlopen.

De *bronchi*, die nog deels of geheel met purulent exsudaat zijn gevuld, zijn bekleed met cilinderepitheel, dat hoegenaamd geen afwijkingen toont (photo 9), doch vaak maakt het lumendeel van deze cellen een gezwollen indruk. Het epitheel van de bronchi, in de kwabben met de meest uitgebreide pneumonische veranderingen, is veelal sterk gewoekerd, vaak meerrijig (hyperplastisch) en gefiltreerd met talrijke polymorphkernige leucocyten. De bekleedende epitheelcellen zijn vaak blazig, gezwollen, evenals de kernen, doch nergens treft men echte necrose aan. Wel ziet men tussen het purulente exsudaat in deze bronchi en bronchioli verschillende losliggende gedesquameerde epitheelcellen liggen. Op sommige plaatsen ontbreken wel eens enkele epitheelcellen van de bekleedende cellaag, doch nergens treft men het massale afstoten aan, zoals bij longen van muizen besmet met influenzavirus.

In het lumen van een enkele kleine bronchus vindt men enige kernloze homogeen gekleurde eiwitstolsels liggen, waarvan niet valt te bepalen of het ingedikt bronchiaalslijm of mogelijk ingedikt transsudaat is.

In de kwabben waar het pneumonisch proces het minst ver is voortgeschreden en slechts een gering aantal lobuli, die aan de bronchi grenzen, in het proces zijn betrokken, bestaat het peribronchiale infiltraat uit overwegend mononucleaire cellen. In de lumina van de omgevende lobuli treft men nog wel purulent exsudaat aan, echter door woekering van het alveolaire epitheel is het als het ware weggeduwd. In de interlobulaire septa ziet men nog kleine ophopingen van polymorphkernige leucocyten. Het alveolaire epitheel is vaak cubisch, doch soms ziet men grote blazige cellen met vacuolen, waarvan de kernen soms normaal gekleurd, soms flets-bleek gekleurd zijn (adventitiacellen of phagocyten).

Het overige longweeftel van deze kwabben kan er volkomen normaal uitzien, hoewel plaatselijk enig emphyseem en min of meer atelectatische gedeelten worden waargenomen. De hierboven beschreven beelden duiden op een aan de gang zijnd resorptie proces.

De kwabben die volledig pneumonisch zijn veranderd, bieden

weer duidelijk het beeld van een haardsgewijze purulente bronchopneumonie. Tussen de haarden, in het centrum waarvan men meestal een kleinere of grotere bronchus ziet liggen, is het longweefsel volkomen atelectatisch. De bekleedende epitheelcellen van deze alveoli zijn merendeels cubisch, terwijl men diffuus verspreid enkele polymorphkernige leucocyten in deze atelectatische longgedeelten aantreft.

Ook hebben de longhaarden hier een rustiger aspect. De infiltraatcellen rondom de bronchi en de bloedvaten bestaan uit vele of soms overwegend mononucleaire cellen. De bronchi zijn nog grotendeels opgevuld met purulent exsudaat en enkele epitheelcellen. Ook veel alveolairepitheel in de pneumonische haarden is cubisch geworden, waardoor het purulente exsudaat het longbeeld niet meer beheerst. Nergens is abscesvorming waargenomen.

Conclusie: Men vindt hier een bevestiging van de beelden bij de vorige groep muizen waarbij reeds aanduidingen zijn gezien van een resolutie van het ontstekingsproces. Het cellige karakter van de longbeelden is sterk veranderd.

Muizen, 9 dagen na de besmetting met 0,05 cc suspensie van een 18 uur oude micrococcuscultuur, gedood.

(N.B. Twee van de vier muizenlongen hebben afwijkingen vertoond, waarvan hieronder een samenvatting is gegeven.)

Het *trachea*epitheel van één van de muizen toont een volkomen normaal beeld, van een ander is het tot hyperplastisch cilinderepitheel geworden, dat vrij sterk geïnfilteerd is met polymorphkernige leucocyten. Ook de *propria mucosae* en de *submucosa* tonen uitgebreide infiltraties door polymorphkernige leucocyten. In het peritracheale bindweefsel treft men slechts enkele verspreide polymorphkernige leucocyten aan.

Nergens ziet men necrose of desquamatie van het epitheel van de *trachea*.

Het bronchiaal epitheel is ook geheel intact en maakt soms aan de lumenzijde een enigszins gezwollen indruk, doch is nergens hyperplastisch. Het lumen bevat wisselende hoeveelheden purulent exsudaat, terwijl het epitheel op verschillende plaatsen min of meer dicht is geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten. Ook subepitheliaal ziet men op enkele plekken ophopingen van deze cellen.

De peribronchiale en perivasculaire infiltratie wisselt al naar gelang de mate van ontsteking van de betrokken longkwab en wordt gevormd door overwegend polymorphkernige cellen. De ernstigste longver-

anderingen vindt men gelocaliseerd in de nabijheid van de hilus en zijn circumbronchiaal.

In de longkwabben die in geringe mate zijn aangetast ziet men plaatselijk hyperaemie, verbrede alveolaire septa, waarin wisselende aantallen en soms kleine ophopingen polymorphkernige en mononucleaire cellen liggen. Aan de hilus ziet men perivasculair en soms peribronchiaal plaatselijke ophopingen van polymorphkernige en mononucleaire cellen. De alveolaire holten bevatten geen exsudaat, evenmin de bronchioli of bronchi. Het longweefsel aan de hilus van deze kwabben is min of meer atelectatisch, waarbij het alveolaire epitheel vaak cubisch is geworden.

In de kwabben waar zich een haardvormige purulente bronchopneumonie heeft ontwikkeld, treft men in de bronchi en bronchioli wisselende hoeveelheden purulent exsudaat aan, waarbij het epitheel, behoudens plaatselijke infiltraties van leucocyten, slechts de hiervoor genoemde afwijkingen toont. De pneumonische hardjes liggen vooral circumbronchiaal en zijn in het hilusdeel van de kwab soms geconflueerd of worden gescheiden door atelectatisch longweefsel. In dit atelectatische weefsel liggen wat verspreide polymorphkernige leucocyten.

De beelden in de longhaarden worden deels beheerst door het purulente exsudaat in bronchi, bronchioli en in de alveoli en de perivasculaire en peribronchiale infiltratie. Nergens is abscesvorming waargenomen. Laatstgenoemde infiltraten kunnen overwegend uit polymorphkernige cellen bestaan, doch men ziet op verschillende plaatsen de mononucleairen in aantal toenemen.

Ook het epitheel van een aantal alveoli in deze haarden kan veranderd zijn in min of meer cubische epitheelcellen, terwijl men in de alveolaire holten macrophagen aantreft, waarvan het protoplasma kernkrumels bevat. Langs de longranden komen lokaal soms emphysemateuze gedeelten voor.

Conclusie: Bovenstaande beschrijving wijst erop, dat het ontstekingsproces ook hier van karakter is veranderd, ondermeer door het optreden van macrophagen met kernkrumels en de toename van mononucleaire cellen.

Muizen, 10 dagen na de besmetting met 0,05 cc van een 18 uur oude micrococcuscultuur, gedood.

(N.B. Slechts één paar longen heeft geringe afwijkingen getoond.)

Het *trachea*epitheel zelf toont geen histologische afwijkingen, doch op

een enkele plaats ziet men kleine infiltraties door polymorphkernige leucocyten. In het lumen bevindt zich geen abnormale inhoud.

Ook het epitheel van de *bronchi* en bronchioli biedt een normaal beeld. In het lumen van enkele bronchioli ziet men een spoortje purulent exsudaat.

In het *longweefsel* zijn enkele aanduidingen van een ontsteking te herkennen. Men ziet enkele kleine perivasculaire en peribronchiale infiltraten gevormd door polymorphkernige en mononucleaire cellen en kleine atelectatische longgedeelten met verbrede alveolaire septa. In deze plekken liggen verspreid kleine hoopjes polymorphkernige leucocyten en lymphocyten zowel in de alveolaire tussenschotten als in de alveolaire holten. Vaak is het alveolaire epitheel op deze plaatsen veranderd in cubisch epitheel. Deze haardjes liggen peribronchiaal, vooral in het hilusgedeelte van de longkwabben.

De lymphklieren zijn vergroot en hierin ziet men op enkele plaatsen phagocyten met in het protoplasma kernresten.

Conclusie: Deze longen tonen het beeld van een verder voortgeschreden resorptie.

Muizen, 11 dagen na de besmetting met 0,05 cc van een 18 uur oude micrococcuscultuur, gedood.

(N.B. Van één paar longen volgen hier de waargenomen afwijkingen. De overige longen bieden geen afwijkingen.)

Trachea: Over grote gedeelten ziet men hyperplasie van het trachea-epitheel. De infiltratie van dit epitheel met polymorphkernige cellen kan plaatselijk zeer uiteenlopen, doch is over het algemeen gering. Ook de infiltratie met deze cellen is in de submucosa weinig talrijk. Soms ziet men enige hyperaemie en plaatselijk wat emigratie van polymorphkernige leucocyten uit de bloedvaten. In het peritracheale bindweefsel zijn geen afwijkingen waargenomen, behalve bij de bifurcatie, waar een flinke infiltratie door polymorphkernigen is gezien. In het lumen bevinden zich kleine plaatselijke ophopingen van purulent exsudaat.

Long: In de verschillende kwabben heeft zich in uiteenlopende graden een haardvormige purulente bronchopneumonie ontwikkeld. In de kwab waar de veranderingen het minst uitgebreid zijn, ziet men enkele bronchi waarvan het epitheel aan de lumenzijde een enigszins gezwollen aspect heeft en waar men in het lumen een weinig purulent exsudaat op dit bronchiaalepitheel aantreft. Tussen deze epitheelcellen ziet men een geringe infiltratie door polymorphkernige leucocyten.

De peribronchiale infiltratie is hier nogal wisselend van aspect, soms overweegt het aantal polymorphkernige cellen, elders ziet men dat de verhouding van deze cellen tot de mononucleairen vrijwel gelijk is.

Circumbronchiaal treft men enkele kleine pneumonische haardjes aan, waarbij de alveolaire holten opgevuld zijn met purulent exsudaat. Het longweefsel rondom deze haardjes is atelectatisch doch het gaat snel in normaal of enigszins emphysemateus longweefsel over.

In andere kwabben is het ontstekingsproces tot over de gehele kwab voortgeschreden. Het bronchiaalepitheel van deze kwabben is hoogcilindrisch en aan de lumenzijde biedt het een gezwollen beeld. Op sommige plaatsen is het hyperplastisch (meerrijig). Een enkele maal ligt het in plooien ten gevolge van de atelectase van grote longgedeelten. Nergens is het bronchiaalepitheel necrotisch of gedesquameerd; wel ziet men in het lumen van de bronchi wisselende hoeveelheden purulent exsudaat, waartussen sporadisch een losliggende gedesquameerde epitheelcel.

Ook herkent men in deze kwabben weer duidelijk de circumbronchiale ontwikkeling van de pneumonie. De peribronchiale, zowel als de perivasculaire infiltraten, bestaan hoofdzakelijk uit mononucleaire cellen, al kunnen in kleine gebieden de polymorphkernigen nog overwegen. Vooral de perivasculaire infiltratie met mononucleaire cellen neemt soms enorme afmetingen aan. Peribronchiaal ziet men vaak een flinke hyperaemie.

In de pneumonische haarden, circumbronchiaal gelocaliseerd, ziet men een uitgebreide capillaire hyperaemie in de alveolaire septa. Op vele plaatsen ziet men in de alveolaire holten grote mononucleaire cellen, met blazige kernen, beladen met kernkruimels, terwijl er geen, of slechts een geringe hoeveelheid exsudaat over is. Men ziet dus een uitgebreide resorptie, en tengevolge daarvan een afname van het purulente exsudaat in de alveolaire holten. In een andere pneumonische haard kan het purulente exsudaat in de alveolaire holten soms nog domineren.

Tussen de pneumonische haarden in, is het longweefsel atelectatisch, langs de longranden treft men soms nog emphysemateuze gedeelten aan.

Conclusie: Wij zien plaatselijk hier dus weer resolutie van het ontstekingsproces, zoals ook in de longen van muizen, welke enkele dagen eerder zijn gedood, is waargenomen.

Muizen, 12 dagen na de besmetting met 0,05 cc van een 18 uur oude micrococcuscultuur, gedood.

Bij de longen van deze muizen zijn geen histologische afwijkingen waargenomen.

BESPREKING

De bovenvermelde onderzoeken beschrijven beelden van longen van muizen, die op verschillende, vooraf bepaalde tijdstippen na de intranasale besmetting met haemolytische micrococci, zijn gedood.

Wat leren ons de bovenbeschreven microscopische beelden nu?

Men vindt vrijwel een bevestiging van de resultaten van het klinisch zowel als van het bacteriologisch onderzoek, namelijk dat *Micrococci* zich vrijwel niet in de „gezonde” muizenlong kunnen handhaven en indien zij er een ontstekingsproces kunnen veroorzaken, dan gaat het proces vrij snel tot genezing over, zonder dat er abscesvorming optreedt. Uit de longbeelden van de muizen die drie dagen na de besmetting zijn gedood, blijkt dat daar de *Micrococci* reeds zijn gefagocyteerd.

Bij muizen, die 24 uur na de besmetting zijn gedood, ziet men bij alle dieren dezelfde longveranderingen, terwijl de afwijkingen bij de proefdieren die na 48 uur zijn gedood slechts bij één paar longen zijn verergerd doch bij de longen van de drie overige muizen ongeveer gelijk zijn gebleven of minder zijn geworden. Na de derde dag ziet men bij 1 of soms 2 van de 4 muizen nog haardvormige purulent (broncho)pneumonische veranderingen in één of enkele longkwabben. In de longen van de andere muizen ziet men nog wel enkele dagen hyperaemie en wat atelectatische longgedeelten bij het hilusdeel, en soms een geringe perivasculaire en peribronchiale infiltratie, als aanduiding van de besmetting die kortelings heeft plaatsgevonden.

Van de longen die zijn ontstoken, ziet men vaak, dat één of twee kwabben of soms één longhelft in mindere of meerdere mate in het bronchopneumonische proces is betrokken, terwijl de overige kwabben hoogstens enige hyperaemie of een geringe atelectase tonen.

Voorts blijkt, dat het ontstekingsbeeld van de bronchopneumonische kwabben na ongeveer een week van karakter verandert, het aantal mononucleaire cellen neemt toe, men ziet macrophagen, morphologische veranderingen (verhoging) van het alveolaire epitheel.

De meest belangrijke waarneming is echter, dat een primaire *Micrococcus*-infectie bij de muis, ondanks de vorming van een haardvormige purulente (broncho)pneumonie met een typisch peribronchiale verbreiding, geen laesies van het bronchiaal- en trachea-

epitheel veroorzaakt, die ook maar enigszins gelijken op de veranderingen van dit epitheel tengevolge van de intranasale besmetting van de muis met influenzavirus. Necrose en enige desquamatie van betekenis van dit epitheel zijn nimmer waargenomen bij de met *Micrococci* intranasaal besmette muizen. Een ander opvallend verschil met influenza is, dat de pneumonie tengevolge van de infectie met *Micrococci* peribronchiaal blijft gelocaliseerd en de secundaire longafwijkingen zelden diffuus over de gehele longkwab zijn verspreid.

Vervolgens neemt men bij longen van influenzamuizen nimmer een perivasculaire of peribronchiale infiltratie met polymorphkernige of later mononucleaire cellen waar in die mate zoals bij deze haardvormig bronchopneumonisch veranderde longen. Hoogstens ziet men bij muizenlongen, besmet met influenzavirus, na een aantal dagen een geringe toename van mononucleaire cellen, die later soms kan toenemen tijdens en na de regeneratieprocessen.

Tenslotte is nimmer, zoals bij influenza, waargenomen, dat een aantal alveoli gevuld zijn met gecoaguleerd oedeemvocht en dat de alveolaire septa soms sterk zijn verbreed tengevolge van oedeem en de uitgebreide hyperaemie van de longcapillairen.

De microscopische beelden van muizenlongen besmet met influenzavirus zijn zo geheel anders dan van muizenlongen besmet met *Micrococci*, dat overeenkomsten niet zijn aan te geven.

Uit bovengenoemd onderzoek is overigens gebleken, dat men bij muizen, hoewel moeilijk ($\pm 30\%$), door middel van een intranasale besmetting met *Micrococci* een betrekkelijk lichte, niet letaal verlopende, haardvormige purulente (broncho)pneumonie kan verwekken.

HOOFDSTUK III

DE EXPERIMENTELE SECUNDAIRE BACTERIËLE PNEUMONIE

DE GEVOLGEN VAN DE INTRANASALE TOEDIENING VAN PATHOGENE
MICROËRGANISMEN BIJ MET INFLUENZAVIRUS BESMETTE MUIZEN

LITERATUUROVERZICHT

Reeds STRAUB (1937) heeft, bij zijn onderzoek over de histopathologische veranderingen in de longen van muizen, die met influenzavirus waren besmet, waargenomen, dat tengevolge van het secundair optreden van bacteriële infecties het zuivere beeld van de „influenzapneumonie” wordt vertroebeld. Dat bacteriën aan het longproces deelnemen verklaart hij door de aanwezigheid van infiltraties door polymorphkernige leucocyten, die anders geheel ontbreken.

Leest men de literatuur na over gecombineerde infecties van het virus met microörganismen, dan hebben de meeste onderzoekers zich beperkt tot de beschrijving van de uitwerking op het ziekteverloop bij de muis, wanneer men dit dier aan een dubbele infectie blootstelt. Over de histopathologische veranderingen van de longen wordt niet of vrijwel niet gesproken. Toch zijn een aantal van deze onderzoeken te belangwekkend om er geheel onopgemerkt aan voorbij te gaan.

Bij hun studie over de isolatie van het influenzavirus uit het keelspoelsel van mensen, berichten HERZBERG en GROSZ (1940) dat wanneer men de muizen vooraf of gelijktijdig met een pneumococcus Type III besmet, het virus sneller zou aanslaan. Na 2 tot 4 muispassages filtreren zij de longsuspensie en krijgen op deze manier, naar zij beweren, een voor de muis aangepast influenzavirus. Gelijktijdige besmetting van virushoudende keelspoelsels waaraan *Haemophilus influenzae* of *Streptococci* zijn toegevoegd, blijkt geen invloed op het verloop van de infectie bij de muis te hebben.

Een soortgelijk onderzoek vermeldt STRAUB (1940), die muizen één dag vóór de infectie met een zwak virulent influenzavirus, diphtherietoxine in de neus heeft ingedruppeld. Er treden dan ver-

schijnselen op, die doen denken aan de infectie met een sterk virulent virus. Het diphtherietoxine geeft geen of vrijwel geen epitheelveranderingen, het zwakke virus slechts geringe, maar tezamen verwekken zij zeer uitgebreide longlaesies.

TAYLOR (1941), die bepalingen heeft verricht over de virusconcentratie in de longen van met influenzavirus besmette muizen op bepaalde tijdstippen na de infectie, heeft het volgende interessante verschijnsel waargenomen. Wanneer muizen met een subletale dosis virus worden geïnfecteerd en men dient na 1 tot 4 dagen intranasaal een steriele vloeistof toe (water, Tyrode-oplossing, bouillon, 10 % serum in physiologische zoutoplossing), dan stijgt de virusconcentratie in de long en de dieren sterven na 3 tot 8 dagen tengevolge van een „viruspneumonie”. TAYLOR veronderstelt, dat de steriele vloeistof het zwakke evenwicht tussen gastheer en virus doorbreekt, d.w.z. de vorming van antilichamen doet ophouden en de virusverbreiding bevordert. Naar analogie zou een soortgelijke werking van de gelijktijdige besmetting van virus en bacterie bij de mens kunnen worden verklaard. De microorganismen zouden het influenzavirus van de besmette cellen vrij maken en er op deze manier toe bijdragen, dat het virus zich sneller verspreidt in de nog niet aangetaste cellen, waar nog niet voldoende antilichamen zijn gevormd.

Of de pathogenese zo eenvoudig is als TAYLOR voorstelt, staat echter nog te bezien, al zal ongetwijfeld de factor virus bij de secundaire infecties een niet onbeduidende rol spelen bij het voortschrijden van de longprocessen.

WELLS en HENLE (1941) hebben 1 tot 5 dagen na de toediening van een voor de muis letale dosis influenzavirus, deze dieren in de neus besmet met een suspensie van pneumococci (type I). De dood treedt dan sneller in. Bij gebruik van een subletale dosis stijgt het sterftcijfer aanmerkelijk, terwijl men ernstige longlaesies bij de gestorven dieren waarneemt.

Ook SCHWAB, BLUBAUGH en WOOLPERT (1941) hebben in zekere mate een synergisme waargenomen na infecties van muizen met mengsels van influenzavirus en haemolytische streptococci (Groep C-Lancefield). Meestal sterft een groter aantal muizen na de dubbele besmetting. Bij de meeste dieren zijn *Streptococci* uit het hartebloed geïsoleerd.

BALLOWITZ (1944) heeft muizen per os besmet met een *Salmonella*-cultuur en daarna intranasaal met het influenzavirus. Onder deze omstandigheden wordt de algemene verspreiding van de bacteriën door het lichaam sterk bevorderd.

DUBIN (1945) die muizen heeft besmet met het influenzavirus van varkens, heeft naast proeven met het bacteriëel steriele virus, gelijktijdig muizen besmet met virus waaraan *E. coli* of een *Salmonella*-stam is toegevoegd. Bij de dieren die met het dubbele agens zijn besmet, ziet men naast de door hem beschreven veranderingen tengevolge van het influenzavirus, een geringe toename van het aantal lymphocyten en polymorphkernige leucocyten in het interstitium.

Bewust zijn hier niet die onderzoeken vermeld, waarbij *Haemophilus influenzae* als secundaire bacterie bij besmettingsproeven is aangewend, omdat dit microorganisme gedurende lange tijd is aangezien als de verwekker van influenza en later door velen, toen eenmaal het influenzavirus als het werkelijke pathogene agens is onderkend, nog wel als constant voorkomende bacterie bij deze ziekte is genoemd.

Enkele jaren geleden (1945) hebben FRANCIS en DE TORREGROSA bij muizen nog eens een onderzoek ingesteld naar de betekenis van *H. influenzae* als mogelijke primaire en als secundaire ziekteverwekker. Zij hebben daartoe muizen intranasaal besmet met suspensies van avirulente, zwak virulente en sterk virulente stammen van deze microorganismen. Geen enkele nadelige invloed is bij deze muizen waargenomen, noch is bij deze muizen het microorganisme uit de longen gekweekt.

Een tweede proef hebben zij genomen met het virus alleen, waar bij een verdunning van de longsuspensie van met de P.R. 8-stam besmette muizen van 10^{-7} nog enkele muizen, doch bij een verdunning van 10^{-8} geen enkele muis meer dood is gegaan aan de gevolgen van de besmetting met het virus zelf.

Deze beide virusverdunningen hebben zij nu gebruikt om muizen gecombineerd te besmetten met een drietal microorganismen n.l. *H. influenzae*, een haemolytische streptococcusstam en een haemolytische micrococcusstam. Deze besmetting hebben zij gelijktijdig of 1 tot 5 dagen na de virusinfectie verricht met een cultuursuspensie in physiologische zoutoplossing, om een eventuele toxische invloed van bouillon uit te kunnen sluiten (zie TAYLOR 1941).

Muizen die gelijktijdig met een virus-bacteriemengsel worden besmet, overleven vrijwel alle deze infectie. De dieren die evenwel 1 tot 5 dagen na de besmetting met het virus, worden geïnfecteerd met een suspensie van *H. influenzae*, sterven vrijwel alle 4 tot 8 dagen na de besmetting met het virus. De *Micrococci*, en in nog mindere mate de *Streptococci*, blijken vaak bij de subletale verdunning van het virus (10^{-8}) na 10 dagen nog geen sterfte bij de muizen te veroor-

zaken. Na de secundaire infectie met *Micrococci* blijkt bij de virusverdunding 10^{-7} ongeveer 40 % van de dieren na 6 tot 9 dagen en bij de verdunding 10^{-8} slechts 20 % van de muizen na 8 dagen, te zijn gestorven. Contrôledieren met alléén een micrococcussuspensie of alléén met het virus besmet, zijn niet gestorven.

Dit onderzoek heeft dus duidelijk aangetoond, dat secundaire microörganismen, die gewoonlijk niet in de ademhalingsorganen blijven leven, zich in een eenmaal door het virus aangetast orgaan wel kunnen handhaven en daardoor bij kunnen dragen tot de ernst van de infectie.

Tenslotte is door HARFORD, SMITH en WOOD (1946) onderzocht in hoeverre gedode microörganismen invloed uitoefenen op de longprocessen van muizen die herstellende zijn van een besmetting met influenzavirus. Naast de veranderingen, veroorzaakt door het virus, zien zij een infiltratie door polymorphkernige leucocyten in de longen en een toename van het aantal alveoli met gecoaguleerd oedeemvocht erin.

BESMETTING VAN MUIZEN MET INFLUENZAVIRUS EN MICROCOCCI

Voor de eerste serie besmettingsproeven bij muizen is gebruik gemaakt van het influenzavirus A¹, Stam V. 1949. E₅ M₉. Dat hiervoor de onverdunde longsuspensie van deze muispassage is aangewend vindt zijn reden in het feit dat, zoals uit de virulentietitratie is gebleken, deze suspensie een L.D. 50 bezit.

Voorts zijn op grond van de resultaten uit de besmettingsproeven bij muizen met de beide micrococcusstammen, slechts met de cultures van één van deze *Micrococci*, muizen geïnfecteerd.

Er zijn in totaal vier groepen muizen intranasaal besmet met 0.05 cc van de bovengenoemde virushoudende longsuspensie na aethernarcose. De eerste groep is direct daarna, dezelfde werkwijze volgende, geïnfecteerd met 0.05 cc van een suspensie in physiologische zoutoplossing van een 18 uur oude micrococcuscultuur op bloedagar gekweekt. Een tweede groep is na 24 uur intranasaal besmet met 0.05 cc suspensie van een eveneens 18 uur oude micrococcuscultuur, terwijl bij de beide laatste groepen het tijdsverloop tussen de besmettingen respectievelijk 2 en 3 dagen is geweest.

Van de eerste groep muizen zijn iedere 24 uur na de besmetting 3 willekeurige muizen gedood of indien er gestorven muizen waren, zijn hiervan de longen voor histologisch onderzoek gebruikt.

Van de tweede, derde en vierde groep muizen zijn ook elke 24 uur na de micrococcusinfectie drie muizen gedood, zolang, tot allen waren gedood resp. gestorven.

In aansluiting op bovengenoemde serie proeven zijn op precies dezelfde wijze groepen muizen geïnfecteerd met een virushoudende suspensie van de longen van influenzamuizen, in een verdunning van 10^{-5} (Stam W.S.) en eveneens met een L.D. 50, door een voorafgaande titratie bepaald.

Daarenboven is één groep muizen nog 4 dagen na de virusinfectie besmet met een suspensie van een 18 uur oude micrococccuscultuur.

I. MUIZEN GELIJKTIJDIG BESMET MET INFLUENZAVIRUS EN MICROCOCCI
Evenals bij de vorige onderzoekingen is bij al deze muizen bacteriologisch onderzoek verricht uit de longen en zijn de macroscopische afwijkingen, waargenomen aan deze organen, vastgelegd. Tabel 3 geeft hiervan de resultaten.

Deze tabel leert ons, dat slechts de eerste dagen na de besmetting met micrococccussuspensie, deze bacteriën uit de longen zijn geïsoleerd. Het histologisch onderzoek, zoals zal blijken, heeft op deze bevinding licht geworpen.

Voorts ziet men, hoewel bij de virustitratie is gebleken dat slechts de helft van de muizen, en daarvan de eerste, niet vroeger dan 7 dagen na de infectie zijn gestorven; de sterfte hier reeds intreedt op de vijfde dag, terwijl de laatste drie dieren allen op de zevende dag zijn gestorven.

Histologisch onderzoek

Muizen na 24 uur gedood:

Trachea: Het epitheel van het proximale deel van de trachea heeft aan de lumenzijde een enigszins gezwollen aspect en is bedekt met een dun laagje slijm, waarin enkele polymorphkernige leucocyten. Ter hoogte van de bifurcatie toont het bekleedende epitheel een rommelig beeld, vanwege de infiltratie door grote aantallen van deze polymorphkernige cellen. Ook hier is het epitheel bedekt door een dun laagje slijm, waarin talrijke ontstekingscellen.

In de membrana propria is ook enige infiltratie door polymorphkernigen, in de submucosa of in het peritracheale bindweefsel zijn geen afwijkingen gevonden.

Bronchi: In de grote bronchi dezelfde beelden van het bekleedende epitheel als in het distale gedeelte van de trachea, doch op enkele plaatsen neemt men een beginnende necrose van de epitheelcellen waar (pycnotische kernen).

Het epitheel van de kleinere bronchi en bronchioli biedt geen

TABEL 3

Muis nr.	Aantal dagen, gedood of gestorven na de infectie							B.O.	Macroscopische longafwijkingen
	1	2	3	4	5	6	7		
1	A							+	Enkele verspreide kleine subpleurale bloedingen in de kwabben. Slecht samengevallen longen.
2	A							+	Enkele verspreide speldeknoopgrote subpleurale bloedingen over de kwabben verspreid.
3	A							+	Gemarmerd aspect longen. Slecht samengevallen longen.
4	.	A						+	Enkele kleine subpleurale bloedinkjes. Longen gemarmerd aspect, emphysemateus.
5	.	A						—	Longen gemarmerd aspect, slecht samengevallen.
6	.	A						—	idem.
7	.	.	A					—	Grauwrode, vlekkelijke pneumonische haardjes uitgaande van de hili. Het overige deel van de kwabben is gemarmerd en emphysemateus.
8	.	.	A					—	idem.
9	.	.	A					—	Pneumonisch topkwabje linker long. Overige kwabben als bij 7.
10	.	.	.	A				—	Pneumonische gedeelten, speciaal bij de hili. Overige long emphysemateus.
11	.	.	.	A				—	idem.
12	.	.	.	A				—	Vrijwel hele long pneumonisch met een grauw-rood wolkig aspect. Langs de longranden emphysemateus.
13	†			—	idem.
14	A			—	idem.
15	A			—	idem.
16	†		—	Vrijwel de gehele long pneumonisch. Het aspect is echter meer homogeen rood. Langs de randen emphyseem.
17	A		—	idem.
18	A		—	idem.
19	†	—	idem.
20	—	idem.
21	†	—	idem.

A = gedood † = gestorven + = *Micrococci* uit longen geïsoleerd.
 — = géén *Micrococci* uit longen geïsoleerd.

afwijkende beelden, bij vele is het echter plaatselijk bedekt door een dun laagje mucopurulent exsudaat.

Long: De longen zijn eensdeels sterk samengevallen, anderdeels vrij flink emphysemateus. De alveolaire septa van vrijwel de gehele long zijn sterk verbreed tengevolge van een hyperaemie, maar vooral door een diffuse vrij uitgebreide infiltratie door polymorphkernige cellen. Er zijn reeds enkele kleine purulent bronchopneumonische hardjes gevormd in groepjes peribronchiaal gelegen alveoli. Deze alveolaire holten zijn opgevuld met purulent exsudaat. De omgevende alveolaire septa zijn oedemateus gezwollen. De meeste alveolaire holten zijn echter nog ledig of bevatten sporadisch een polymorphkernige leucocyt.

Er is reeds een flinke perivasculaire infiltratie door polymorphkernigen, de peribronchiale infiltratie door deze cellen is nog maar gering.

Muizen na 2 dagen gedood.

Trachea: Ook hier ziet het lumendeel van het protoplasma van de epitheelcellen, gelegen in het proximale gedeelte van de trachea, er enigszins gezwollen uit, doch het ligt nog als cilinderepitheel op de membrana propria. Op deze epitheellaag een laagje muco-purulent exsudaat, waartussen enkele necrotische epitheelcellen. In de submucosa verspreid bevinden zich polymorphkernige leucocyten. Peritracheaal zijn geen afwijkingen gevonden.

Even distaal van de bifurcatie is op enkele plekken necrotisch epitheel waargenomen.

Bronchi: Het epitheel is hier over grote gebieden necrotisch, waarbij nog enkele, gaaf uitzierende, platte epitheelcellen op de basaalmembraan zijn overgebleven. Overigens is de membrana propria bedekt met een laag necrotische epitheelcellen, vaak vermengd met wat mucopurulent exsudaat. Ook van de kleinere bronchi en vele bronchioli is het epitheel necrotisch en het bedekt dan, vermengd met min of meer grote hoeveelheden mucopus, nog de basaalmembraan. Enkele kleine bronchi en bronchioli zijn nog bekleed door cilinderepitheel dat een gezwollen aspect heeft.

Long: Deze zijn aan de periferie wederom emphysemateus. De infiltratie door polymorphkernige cellen, zowel perivasculair als in de alveolaire septa, is niet toegenomen in vergelijking tot de vorige groep muizen. Wel is er enige peribronchiale infiltratie door deze cellen.

De pneumonische veranderingen zijn weer beperkt tot in de omgeving van enkele bronchi, waar de alveolaire septa sterk

verbreed zijn door een infiltratie door polymorphkernige leucocyten.

Door het uitgebreide longemphyseem in de meeste kwabben is het pneumonisch gedeelte scherp gescheiden van het overige. Slechts enkele peribronchiaal gelegen alveolaire holten bevatten purulent exsudaat, van de overige alveoli zijn de lumina sterk verwijd door het emphyseem.

In de longen van deze muizen ziet men, dat de veranderingen, veroorzaakt door het influenzavirus, snel voortschrijden, terwijl het purulent pneumonische proces zich vrijwel niet verder heeft uitgebreid in vergelijking tot de eerste groep dieren.

Muizen na 3 dagen gedood.

Trachea: In het begindeel heeft het epitheel een normaal aspect, meer distaal is het protoplasma aan de lumenzijde licht gezwollen, doch het epitheel is volkomen intact; vervolgens ziet men gedeelten waar, tussen normale epitheelcellen, cellen met pycnotische kernen liggen, terwijl bij de bifurcatie het vrijwel geheel necrotisch is, en vermengd met wat mucopurulent exsudaat op de basaalmembraan ligt. Het nog intacte epitheel is wisselend dicht geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten.

In het lumen bevinden zich gedesquameerde, necrotische epitheelcellen, vermengd met wat purulent exsudaat. Submuceus en in de membrana propria ziet men infiltraties door polymorphkernige leucocyten, peritracheaal soms enige hyperaemie. Vooral bij de bifurcatie waar het epitheel necrotisch is, ziet men in de membrana propria en de submucosa uitgebreide infiltraties door polymorphkernige leucocyten.

Bronchi: Het bekleedende epitheel van vrijwel de gehele bronchiaalboom is necrotisch. Deels is het gedesquameerd, deels bedekt het nog de basaalmembraan. Het lumen van de grote bronchi heeft nog enige inhoud, bestaande uit gedesquameerde epitheelcellen en soms wat exsudaat, van de kleine bronchi en bronchioli is het lumen meestal ledig.

Long: Wederom tonen de longen eensdeels pneumonische veranderingen, anderdeels zijn zij flink emphysemateus. De alveolaire septa in de pneumonisch veranderde gedeelten zijn sterk verbreed tengevolge van de capillaire hyperaemie en een infiltratie door overwegend polymorphkernige cellen. De pneumonische gedeelten liggen vooral in de hili van de kwabben en peribronchiaal. In de alveolaire holten van deze peribronchiaal gelegen alveoli, ziet men wisselende hoeveelheden purulent exsudaat. Deze plekken zijn maar beperkt

van omvang. Uiteraard zijn de septa van de sterk emphysemateuze gedeelten niet verdikt.

De perivasculaire en peribronchiale infiltratie kan plaatselijk niet alleen wisselen in graad, maar ook wat de cellulaire samenstelling betreft. Men ziet een toename van het aantal mononucleaire cellen, die op verschillende plaatsen zelfs gaan domineren over de polymorphkernige leucocyten.

Ook hier zijn de longveranderingen veroorzaakt door het influenzavirus verder voortgeschreden, terwijl de purulente ontsteking vooral tot de hili van de kwabben beperkt blijft.

Muizen na 4 dagen gedood.

Trachea: Het epitheel toont zelf vrijwel geen afwijkingen, doch is geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten. Ook in de membrana propria en de submucosa bevinden zich locale infiltraties door deze cellen. Submucosa en peritracheaal wordt een geringe hyperaemie gevonden. In het lumen liggen hoopjes gedesquameerde necrotische epitheelcellen vermengd met wat purulent exsudaat.

Bronchi: Deze zijn bij de bifurcatie bekleed met éénlagig min of meer plat tot cubisch epitheel, doch de rest van de bronchiaalboom is geheel van epitheel ontdaan. Meestal is het necrotische epitheel van de bronchi en bronchioli nu gedesquameerd. Slechts enkele hoopjes van deze cellen vindt men in het lumen terug, waartussen slechts een sporadische polymorphkernige leucocyt ligt.

Long: Vooral in het hilusdeel van de kwabben zijn de longen vrij sterk pneumonisch veranderd, slechts aan de longranden ziet men nog emphysemateuze gedeelten. Voorts is er een flinke hyperaemie.

De alveolaire septa van de pneumonisch veranderde gedeelten zijn verdikt tengevolge van deze hyperaemie en de infiltratie door zowel mononucleaire als polymorphkernige cellen. Ook in de alveolaire holten komen deze cellen wel gemengd voor. In de aangrenzende alveolaire ruimten treft men weleens gecoaguleerd oedeemvocht aan en enkele grote mononucleaire cellen (macrophagen?). De perivasculaire en peribronchiale infiltratie bestaat uit overwegend polymorphkernige leucocyten al ziet men wel enige toename van het aantal mononucleaire cellen.

Men ziet in feite geen zuiver purulent exsudaat meer in de peribronchiaal gelegen alveolaire holten, terwijl het gehele beeld aan de periferie van de kwabben, behoudens de diffuse infiltratie door polymorphkernige leucocyten, veel gelijk op de afwijkingen waargenomen bij muizen, die alleen besmet zijn met influenzavirus.

Muizen, na 5 dagen gestorven of gedood.

Trachea: Hier geldt hetzelfde als bij de vorige groep muizen is vermeld.

Bronchi: Wederom is de gehele bronchiaalboom nog van epitheel ontdaan, hoewel in de bronchioli nog resten van necrotische cellen op de basaalmembraan liggen. In het lumen liggen hoopjes gedesequameerde necrotische epitheelcellen met enkele polymorphkernige leucocyten. Enkele kleine bronchi en bronchioli bevatten wat oedeemvocht.

Long: De longveranderingen zijn vrijwel in overeenstemming met die bij de vorige groep muizen beschreven. Opvallend zijn echter het hevige longoedeem, dat zich zowel perivascuair als peribronchiaal, heeft ontwikkeld; en de verschuiving van het beeld van de ontstekingscellen. Het aantal mononucleairen is vrijwel gelijk aan of domineert over, het aantal polymorphkernige leucocyten. Dit ziet men zowel perivascuair, peribronchiaal als in de alveolaire septa. Voorts ziet men een overvulling van vele lymphebanen. Ook in enkele peribronchiaal gelegen alveolaire holten treft men infiltraatcellen aan, waarbij vaak de mononucleairen overheersen. Langs de periferie is in de alveolaire holten soms ge-coaguleerd oedeemvocht gezien; enkele grote mononucleaire cellen (macrophagen?) en op een plek, bij een longbloeding, erythrocyten.

De alveolaire septa van de emphysemateus veranderde longgedeelten (randen) bezitten wel hyperaemische capillairen; de cellige infiltratie is hier meestal echter gering of ontbreekt.

Steeds meer treden afwijkingen, veroorzaakt door het influenzavirus, op de voorgrond, terwijl de etterige ontsteking van karakter verandert.

Muizen na 6 dagen gestorven of gedood.

Trachea: De trachea is plaatselijk bekleed met meerrijig cilinderepitheel, dat een wat onregelmatig aspect heeft. Dit epitheel is evenals de basaalmembraan en de submucosa matig geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten. Het peritracheale bindweefsel biedt geen afwijkingen. In het lumen bevindt zich soms wat purulent exsudaat met enkele gedesequameerde necrotische epitheelcellen.

Bronchi: Bij de bifurcatie zijn de bronchi bekleed met twee tot drie-lagig niet-verhoornd plaveiselepitheel, (cellen met lichtgekleurde blazige kernen), dat spoedig in éénlagig cubisch epitheel overgaat en meer distaal eindigt op de overigens „naakte” basaalmembraan. De kleinere bronchi en bronchioli zijn nog geheel ontdaan van epitheel.

Long: De longbeelden komen geheel overeen met die, welke be-

schreven zijn bij de na 5 dagen gedode muizen, alleen is het emphyseem aan de longranden soms hevig evenals het longoedeem.

Muizen na 7 dagen gestorven.

Trachea: Het epitheel is meerrijig cilindrisch, en is in geringe mate geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten. Deze infiltratie ziet men ook in de membrana propria en de submucosa. Peritracheaal zijn geen afwijkingen waargenomen.

Bronchi: In de grote bronchi is wederom regeneratie van het bekleedende epitheel tot metaplastisch meerlagig plaveiselepitheel in de proximale gedeelten, doch dat zich iets verder voortzet, waardoor de meer centraal gelegen kleinere bronchi gedeeltelijk weer zijn bekleed met eenlagig plat tot cubisch epitheel, met „jonge” kernen. Enkele mitosen zijn waargenomen. In het lumen zijn enkele polymorphkernige leucocyten gezien.

Long: Ook bij deze longen domineren de afwijkingen welke zijn veroorzaakt door het influenzavirus, alhoewel er nog enkele aanwijzingen zijn van een etterig, peribronchiaal gelocaliseerd, ontstekingsproces. Men treft daar nog enkele alveolaire holten gevuld met purulent exsudaat aan. Voor het overige overheerst de infiltratie door mononucleaire cellen, zowel perivasculair, peribronchiaal, als in de alveolaire septa. Er is weer overvulling van de lymphebanen.

De hyperaemie, een hevig longoedeem, de pneumonische longgedeelten aan de hili en het emphyseem aan de longranden, vormen, naast de reeds vermelde „naakte” bronchi en bronchioli, de hoofdschotel. In een enkele longkwab is een bloedinkje waargenomen.

BESPREKING

De hiervoor beschreven histologische beelden doen ons zien, dat wanneer men muizen intranasaal met een influenzavirus (L.D. 50) besmet en deze korte tijd daarna laat volgen door een indruppeling met een micrococcussuspensie, de longen de veranderingen tonen die men ziet na een infectie met het influenzavirus alléén. Deze beelden worden slechts doorkruist, maar niet overtroffen, door die van een purulente bronchitis en bronchopneumonische processen van beperkte omvang, welke laatste spoedig van karakter veranderen.

Opmerkelijk is, dat de *Micrococci* zich in deze longen, besmet met het virus, toch maar kort kunnen handhaven (2 dagen). Op die tweede dag ziet men toch reeds necrose van het epitheel van de grote bronchi.

Wel ziet men infiltraties door polymorphkernige leucocyten, doch

mononucleairen en grote mononucleaire cellen ziet men ook niet eerder dan de vierde dag in kleine aantallen in de longbeelden. Ditzelfde geldt voor het optreden van oedeemvocht in de alveolaire holten; dat ziet men ook niet eerder, dan op de vierde tot vijfde dag na de infectie.

In ieder geval ziet men ook histologisch, dat het beeld van de purulente ontsteking in bronchi, bronchioli, alveolaire holten en -septa, reeds na een tweetal dagen van karakter verandert, terwijl het influenzaproces voortschrijdt en in ernst toeneemt, doch niet de graad van veranderingen van het „gebruikelijke” beeld van influenza van de muizenlong in belangrijke mate overschrijdt.

MUIZENBESMETTINGSPROEVEN MET 0.05 CC 10^{-5} LONGSUSPENSIE (W.S. STAM) EN DIRECT EROP GEVOLGD, 0.05 CC SUSPENSIE VAN EEN 18 UUR OUDE MICROCOCCUSCULTUUR (s. 4845) OP BLOEDAGAR

Direct in aansluiting op de vorige proef, volgt die, genomen met de W.S.-Stam (A. virus). Tabel 4 geeft een overzicht van de uitkomsten van de 10 overgebleven muizen van de 21 dieren, die met dit virus en kort daarop met de micrococcussuspensie zijn besmet. De elf gestorven dieren, moet men haast wel aannemen, zijn „verdronken” in het vele toegevoerde vocht. Hoewel zij de eerste uren na de infectie slechts een wat suffe indruk hebben gemaakt, zijn zij in de loop van de nacht gestorven.

Opmerkelijk is verder, dat van de overige 10 muizen geen enkel dier is gestorven, hoewel bij de virulentiebepaling van de virushoudende longsuspensie iets meer dan de helft van de muizen is gestorven bij de verdunning 10^{-5} . Mogelijk is door de te snel opeenvolgende indruppeling met de bacteriesuspensie het influenzavirus te sterk verdund, zodat de L.D. 50 niet meer is bereikt. Wederom is slechts korte tijd (3 dagen) het secundaire microörganisme uit de longen door bacteriologisch onderzoek geïsoleerd.

Histologisch onderzoek

Muis, na 1 dag gedood:

Trachea en bronchi: Het trilhaar epitheel van de trachea en van het centrale deel van de bronchiaalboom, biedt op verschillende plaatsen aan de lumenzijde een wat gezwollen aspect, doch toont overigens geen afwijkingen. In het lumen van een aantal bronchi ziet men plaatselijk wisselende hoeveelheden purulent exsudaat, een enkele maal vermengd met kleine aantallen erythrocyten.

TABEL 4

Muis nr.	Aantal dagen gedood na de infectie										B.O.	Macroscopische longafwijkingen	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
12	A											+	De longen hebben een gemarmerd, aspect. Emphysemateuze gedeelten naast donkerrode vochtrijke plekken.
13	.	A										+	De longkwabben bij de hili vast, grauwrood, vlekkelig (pneumonie). Het overige deel van de kwabben is gemarmerd, emphysemateus.
14	.	.	A									+	Vlekkelig grauwrode pneumonische gedeelten bij de hili van de kwabben. Longen slecht samengevallen.
15	.	.	.	A								—	Een enkel pneumonisch gedeelte bij de hilus van een kwab. Deze is vlekkelig, rood van kleur.
16	A							—	L. longkwab homogeen kersrood („splenisatie”). Longen overigens emphysemateus.
17	A						—	Slechts bij de hili wat vlekkelig aspect. De longen zijn overigens emphysemateus.
18	A					—	Bij de hili paarsrode, soms vlekkelige pneumonische gedeelten. De longranden hebben een gemarmerd aspect en zijn emphysemateus.
19	A				—	Bij de hili homogeen rode gedeelten („splenisatie”), voor het overige zijn de kwabben wolkig, emphysemateus.
20	A			—	Beide longhelften bij de hili van de kwabben, kleine homogeen rode, vaste gedeelten. Langs de randen van de kwabben emphyseem.
21	A		—	idem.

A = gedood

+ = *Micrococci* uit longen geïsoleerd— = géén *Micrococci* uit longen geïsoleerd

Long: De meeste longkwabben zijn bij de hili pneumonisch, hyperaemisch en diffuus geïnfiltriseerd met polymorphkernige cellen. Meestal bevatten de alveolaire holten, in het hilusgedeelte van de kwabben en peribronchiaal gelegen, purulent exsudaat; de meer distaal gelegen alveoli, bevatten meermalen gecoaguleerd oedeemvocht, anderen zijn weer emphysemateus verwijfd.

In het peribronchiale en perivasculaire bindweefsel rondom de grote bronchi, resp. bloedvaten, bevindt zich enig oedeem en een infiltratie door een enkel laagje polymorphkernige leucocyten.

Muis, na 2 dagen gedood.

Trachea en bronchi: Wederom zijn aan het bekleedende epitheel van trachea en bronchi geen afwijkingen waargenomen, behoudens een geringe zwelling van het protoplasma aan de lumenzijde. In het lumen van een aantal bronchi purulent exsudaat.

Long: De longen tonen een geringe hyperaemie. Vooral in het hilusdeel van vele kwabben treft men purulent pneumonische plaatsen aan, waardoor in dit gedeelte de infiltratie van het longweefsel door polymorphkernige leucocyten zeer dicht is. Daar bevinden zich ook groepen alveoli in wisselende graad gevuld met purulent exsudaat. De perifere gedeelten van de meeste longkwabben zijn emphysemateus, in andere gedeelten komen alveolaire holten voor gevuld met eiwitneerslagen uit oedeemvocht.

Muis, na 3 dagen gedood.

Trachea en bronchi: Het tracheaepitheel is in wisselende mate geïnfiltriseerd met polymorphkernige leucocyten en biedt daardoor een wat onregelmatig beeld. Het bekleedende epitheel van de gehele bronchiaalboom is intact, doch men ziet ook hier plaatselijke infiltraties door polymorphkernige leucocyten in de grote bronchi. In het lumen van enkele van deze bronchi bevinden zich geringe hoeveelheden purulent exsudaat.

Long: De longen zijn hyperaemisch, ook langs de longranden zijn de alveolaire septa verbreed door oedeem en een diffuse infiltratie door polymorphkernige cellen. Plaatselijk is er wat emphyseem.

Bij de hili van de kwabben zijn de longen pneumonisch, groepen alveoli bevatten hier purulent exsudaat, waarin cocci zijn waargenomen. Er is een perivasculaire en peribronchiale infiltratie vooral rondom de grotere bronchi en bloedvaten door polymorphkernige leucocyten.

Muis, na 4 dagen gedood.

Trachea en bronchi: Het bekleedende epitheel van trachea en bronchi toont een geringe en plaatselijk wisselende infiltratie door polymorphkernige leucocyten. Het is op bepaalde gedeelten bedekt met een dun laagje slijm vermengd met wat exsudaat. Slechts in de hilus van één kwab is het epitheel van enkele bronchi necrotisch. In het lumen van deze bronchi bevinden zich groepjes gedesquameerde necrotische epitheelcellen zonder verder exsudaat.

Long: Het omgevende longweefsel van de grote bronchi is hyperaemisch, wat atelectatisch, terwijl de alveolaire septa zijn geïnfiltriseerd met overwegend mononucleaire cellen. Er is enige mononucleaire infiltratie ook in het peribronchiale en perivasculaire bindweefsel in en rondom dit longgebied.

Muis, na 5 dagen gedood.

Trachea: Het tracheaepitheel toont geen afwijkingen, plaatselijk is het bedekt door slijm, vermengd met enkele necrotische epitheelcellen.

Bronchi: Het epitheel van een aantal bronchi is necrotisch, maar eronder bevindt zich vaak reeds nieuw gevormd min of meer cubisch epitheel. Het lumen bevat eveneens slijm vermengd met enkele gedesquameerde necrotische epitheelcellen en soms enig gecoaguleerd oedeemvocht.

Long: Het longweefsel is bij de hili wat atelectatisch, licht hyperaemisch, oedemateus en geïnfiltriseerd met vooral mononucleaire cellen. Peribronchiaal ontbreekt vrijwel elke infiltratie, perivasculaair enkele monocytten. Er is een geringe overvulling van de lymfhebanen.

De alveolaire holten bevatten vaak eiwitneerslagen uit oedeemvocht, waarin soms enkele grote mononucleaire cellen liggen. De necrose van het epitheel van de bronchi, dat vrijwel direct regenerereert, de hyperaemie, de infiltratie door mononucleairen en het longoedeem wijzen op een infectie met een zwak virulent influenzavirus (STRAUB 1940).

Muis, na 6 dagen gedood.

Trachea en bronchi: Het tracheaepitheel, dat histologisch geen afwijkingen toont, is bedekt met een dun laagje slijm. Hetzelfde geldt voor het epitheel van de bronchi.

Long: Dit weefsel laat vooral bij de hili hyperaemische gedeelten zien, en is voor het overige slecht samengevallen. Geen oedeem of cellige infiltratie.

Muis, na 7 dagen gedood.

Trachea: ontbreekt.

Bronchi: Het epitheel van een aantal grote bronchi biedt op verschillende plaatsen aan de lumenzijde een wat gezwollen aspect, doch is overal intact. Het epitheel van enkele kleine bronchi is daarentegen necrotisch en ligt deels nog op de membrana propria. In het lumen van deze bronchi bevinden zich kleine groepjes gedesquameerde necrotische epitheelcellen.

Long: Het longweefsel van deze kwabben is in geringe mate hyperaemisch, oedemateus en geïnfilteerd met overwegend mononucleaire cellen. Langs de longranden wat emphyseem, bij de hilus min of meer atelectatische plekken.

Een longkwab biedt het beeld van een purulente bronchopneumonie. Ondanks het feit, dat het lumen van de bronchi in deze kwab vol purulent exsudaat ligt, is de epitheelbekleding volkomen intact. In de andere longkwabben daarentegen is geen purulent exsudaat in het lumen van de bronchi waargenomen, maar wel necrose van het epitheel.

Muis, na 8 dagen gedood.

Trachea: Het epitheel van de trachea biedt, behoudens een enigszins gezwollen aspect, geen afwijkende beelden. In het lumen van de trachea enig slijm vermengd met een kleine hoeveelheid purulent exsudaat en enkele necrotische epitheelcellen.

Bronchi: Van de meeste bronchi is het epitheel intact, hoewel enkele gedeelten opvallen, waar men necrotische epitheelcellen aantreft. Ook in enkele kleinere bronchi is het bekleedende epitheel necrotisch en ligt, indien gedesquameerd, vrij in het lumen. In een enkele bronchiolus zijn proppen necrotische epitheelcellen gezien die soms het gehele lumen opvullen. Opmerkelijk is evenwel dat dan vaak reeds geregenereerd epitheel de membrana propria bekleedt.

Long: Over het algemeen zijn de longen bij de hilus atelectatisch. Men ziet een matige hyperaemie en zij zijn in geringe mate oedemateus. Langs de longranden bevinden zich emphysemateuze plekken. De infiltratie in de alveolaire septa door mononucleaire cellen is diffuus en matig dicht. Evenzo de peribronchiale infiltratie. Het perivasculaire bindweefsel bevat talrijke monocytten en enkele polymorphkernigen. Er is enige overvulling van de lymfhebanen. In een aantal alveolaire holten bevindt zich gecoaguleerd oedeemvocht, bij de hili soms kleine en grote monocytten, en enkele polymorphkernige leucocyten.

Men ziet veranderingen in de long, gelijk aan die beschreven en veroorzaakt na de infectie met een zwak virulent influenzavirus.

Muis, na 9 dagen gedood.

Trachea: Het tracheaepitheel biedt een wat gezwollen aspect. In het lumen bevindt zich enig gecoaguleerd oedeemvocht, soms vermengd met enkele epitheelcellen en polymorphkernige leucocyten.

Bronchi: Het epitheel van de bronchi biedt een onregelmatig aspect. Het bronchiaal epitheel is hyperplastisch veranderd in meerrijig cilinderepitheel, waarin veel donkergekleurde cellen met blazige lichtgekleurde kernen. Meer perifeer in de long treft men kleinere bronchi aan, eensdeels ontdaan van een epitheelbekleding, terwijl het andere deel van proximaal uit, een ingroeien van nieuw epitheel te zien geeft.

Long: De longen zijn vooral bij de hili atelectatisch, hyperaemisch en matig dicht geïnfilteerd met monocyten. In een aantal alveolaire holten bij de hilus, is een ingroeien van nieuw epitheel vanuit de bronchioli waargenomen, identiek aan de beelden die STRAUB (1937) heeft beschreven in longen bij influenzamuizen, die de besmetting overleven. (Photo 7).

Langs de longranden emphyseem.

Muis, na 10 dagen gedood.

De histologische beelden komen vrijwel geheel overeen met die beschreven bij de vorige muis. Alleen zijn hier enkele kleinere bronchi waargenomen waar nog necrotische epitheelcellen op de membrana propria liggen.

BESPREKING

Deze besmettingsproef met de W.S.-stam (A-virus), als verdunning van een virushoudende longsuspensie, is weinig bevredigend verlopen. Bij de aanhef is reeds gewezen op de waarneming dat 11 van de 21 muizen vrijwel direct zijn gestorven.

Aan de hand van de longbeelden kan men tenslotte nog enkele conclusies trekken. Waarschijnlijk is het influenzavirus te sterk verdund geworden door de te snel gevolgde tweede indruppeling met micrococussuspensie. Daardoor zijn slechts de longveranderingen ontstaan, zoals zijn beschreven na de besmetting met een zwak virulent influenza virus (STRAUB, 1940). Vervolgens is, vermoedelijk wegens het nog aanwezige vocht in bronchi en longen afkomstig van de eerste indruppeling, de micrococcultuursuspensie bij de

meeste dieren niet perifeer genoeg in de longen doorgedrongen om een purulente bronchopneumonie te veroorzaken. Men mag welhaast aannemen dat beide bovengenoemde factoren aanleiding zijn geweest van het onbevredigende verloop van deze besmettingsproef.

II. MUIZEN 24 UUR NA DE BESMETTING MET INFLUENZAVIRUS, INTRANASAAL MET MICROCOCCI GEÏNFECTEERD

Tabel 5 geeft het verloop van de sterfte weer bij muizen, waarbij één dag na de virusbesmetting (A¹-virus, Stam V. 1949) de bacteriële infectie heeft plaats gevonden. Evenals in vorige tabellen, is de uitslag van het bacteriologisch onderzoek op *Micrococci* in de tabel opgenomen, alsmede de macroscopisch zichtbare veranderingen van de longen. Men ziet reeds vanaf de tweede dag na de infectie met *Micrococci* het spontaan sterven van enkele muizen, wat zijn hoogtepunt vindt op de zesde dag na de besmetting, waarop de resterende dieren zijn gestorven.

Bevreemdend is wederom, dat het bacteriologisch onderzoek van de longen op *Micrococci*, niet altijd een positief resultaat heeft gegeven.

Histologisch onderzoek

Muizen na 48 uur gedood.

Trachea: Het epitheel van het voorste deel van de trachea biedt een enigszins gezwollen beeld. De kernen van de epitheelcellen tonen geen afwijkingen. Het epitheel is bedekt met een dun laagje slijm vermengd met enkele polymorphkernige leucocyten. Tussen de epitheelcellen en in de submucosa liggen wat verspreide polymorphkernige cellen. Peritracheaal zijn geen veranderingen waargenomen. Bij de bifurcatie ziet men necrotische epitheelcellen.

Bronchi: Deze zijn over grote gedeelten bekleed met necrotische epitheelcellen. Deze cellen bevatten kernkrumels. Direct op de basaalmembraan herkent men nog enkele platte niet necrotische epitheelcellen. Meer distaal in de kleine bronchi biedt het epitheel doorgaans nog een normaal beeld, al ziet men tussen deze cellen er verscheidene met pycnotische kernen.

In het lumen van de grote bronchi is vrijwel geen inhoud, in de kleinere soms groepjes gedesquameerde, necrotische epitheelcellen, vaak vermengd met polymorphkernige leucocyten. In de kleine bronchi bevindt zich vaak alleen purulent exsudaat in het lumen, hoewel de epitheelbekleding overigens nog volkomen intact kan zijn.

TABEL 5

Muis nr.	Aantal dagen na de besmetting met influenzavirus gedood of gestorven							B.O.	Macroscopische longafwijkingen
	1	2	3	4	5	6	7		
1	.	A						+	Bij de hili, maar ook diffuus verspreid, kleine grauw-rode vlekkelijke pneumonische haardjes. De perifere gedeelten zijn slecht samengevallen en hebben een glanzend aspect.
2	.	A						+	
3	.	A						+	
4	.	.	A					+	Vooral bij de hili, grauw-rode vlekkelijke pneumonische haarden, soms diffuus verspreide pneumonische plekjes. Het overige longweefsel is glanzend en emphysemateus.
5	.	.	A					+	
6	.	.	†					+	Het longweefsel is uitgebreid pneumonisch veranderd. Het aspect is vochtig, vlekkelig grauw-rood.
7	.	.	.	A				+	Bij de hili en diffuus verspreid pneumonische haardjes met een wolkig grauwood aspect. Het overige longweefsel is glanzend, emphysemateus.
8	.	.	.	†				—	Longen zijn uitgebreid pneumonisch veranderd. Zij hebben een glanzend, vlekkelig grauwood aspect. Aan de longranden ziet men vaak emphysemateuze gedeelten.
9	.	.	.	†				—	
10	A			+	Longkwabben met uitgebreide pneumonische veranderingen. Bij de hili grauwood van aspect, met soms gelige „sterretjes“-tekening, perifeer glanzend, min of meer homogeen paarsrood. Longranden vaak emphysemateus.
11	†			+	
12	†			—	
13	A		+	Bij de hili grauw-rode vlekkelijke pneumonische haarden. Voor het overige is het longweefsel meer homogeen kersrood en glanzend.
14	†	—	Beperkte vlekkelig, grauwoode pneumonische veranderingen bij de hili. Voor het overige zijn de longen vrij homogeen donkerrood, glanzend van aspect. Längs de rand wat emphysemateuze gedeelten.
15	†	—	
16	†	+	Vrijwel alle kwabben tonen pneumonische veranderingen. Bij de hili is het aspect vlekkelig grauwood, naar de longranden toe wordt dit meer homogeen donkerrood, glanzend. Veelal aan de longranden enig emphyseem.
16	†	—	
18	†	—	
19	†	—	
20	†	—	
20	†	—	
21	†	—	

A = gedood

— = geen *Micrococci* uit de longen geïsoleerd.

† = gestorven

+ = *Micrococci* uit de longen geïsoleerd.

In enkele middelgrote bronchi is het epitheel gedesquameerd, het lumen is opgevuld met purulent exsudaat.

Het circumbronchiaal gelegen longweefsel van laatstgenoemde bronchi is dan meestal ook purulent pneumonisch veranderd.

Long: Vooral in het hilusdeel van de kwabben, verder peribronchiaal en soms ook wel peribronchiolair ziet men purulent pneumonische haarden. De alveoli aldaar bevatten purulent exsudaat. Liggen de pneumonische haarden in elkaars nabijheid, dan is het tussenliggende longweefsel atelectatisch. Vooral in de hilusgedeelten wekt het de indruk van één grote geconflueerde pneumonische haard.

In de niet-pneumonisch veranderde longgedeelten ziet men een, plaatselijk sterk wisselende, hyperaemie van de capillairen in de alveolaire septa, met op enkele plekken een geringe infiltratie door polymorphkernige leucocyten. Aan de longranden zijn emphysemateuze gedeelten.

Er bestaat een perivascuair oedeem rondom de grotere bloedvaten met plaatselijk zeer wisselende infiltraties door polymorphkernige cellen.

Muizen na 3 dagen gedood of gestorven.

Trachea: De beelden waargenomen bij de gedode muizen komen vrijwel overeen met die van de vorige groep. In het lumen van de trachea vindt men evenwel een toename van de hoeveelheid purulent exsudaat.

Het epitheel van de trachea van de gestorven muis biedt op enkele plaatsen het beeld van meerlagig cubisch epitheel, dat in wisselende mate geïnfiltreerd is met polymorphkernige cellen. Het epitheel is bedekt met purulent exsudaat. De tunica propria en de submucosa zijn oedemateus verbreed. In laatstgenoemde laag bevindt zich een diffuus verspreide infiltratie door overwegend mononucleairen.

Bronchi: Deze zijn òf nog bekleed met necrotische epitheelcellen òf zij zijn geheel ontdaan van een epitheelbekleding. Het lumen bevat zeer wisselende hoeveelheden exsudaat vermengd met gedesquameerde, necrotische epitheelcellen. Vaak is het lumen geheel opgevuld, terwijl men er ophopingen van *Micrococci* in waarneemt. Een enkele maal herkent men op de basaalmembraan nog een platte „intacte” epitheelcel. Vaak is de tunica propria van de grotere bronchi oedemateus verdikt, waarmee gepaard gaat oedeem van het peribronchiale bindweefsel.

Ook het epitheel van de kleinere bronchi is necrotisch, en vaak gedesquameerd. Het lumen wordt dan meestal geheel opgevuld met deze epitheelcellen, vermengd met purulent exsudaat en plaatselijke

ophopingen van *Micrococci*. In vele bronchioli is het epitheel nog intact al kan het lumen geheel zijn opgevuld met purulent exsudaat.

De graad van infiltratie van het peribronchiale bindweefsel door polymorphkernigen houdt nauw verband met de graad van de purulente ontsteking van het omringende longweefsel.

Long: Vele kwabben zijn purulent pneumonisch veranderd, terwijl men aan de longranden over het algemeen emphysemateuze gedeelten onderkent. Vooral het longweefsel van de gestorven muis is sterk hyperaemisch en oedemateus.

De purulente pneumonie is nog haardsgewijs, veelal circumbronchiaal en circumbronchiolair, al zijn deze haarden vooral in het hilusdeel veel groter dan bij de vorige groep muizen. Ook zijn enkele haarden geconflueerd (speciaal bij het gestorven dier). In een aantal alveolaire holten, opgevuld met purulent exsudaat, treft men soms ophopingen van *Micrococci* aan.

In de overige gedeelten ziet men over het algemeen sterk verbrede alveolaire septa ten gevolge van de hyperaemie, het oedeem en de infiltratie door polymorphkernige leucocyten. Ook de septa van de emphysemateuze longgedeelten zijn vaak verbreed en geïnfilteerd met laatstgenoemde celsoort. In de alveolaire holten ziet men daar een zeer wisselende inhoud, vaak eiwitneerslagen uit oedeemvocht, elders deze eiwitneerslagen tezamen met enkele polymorphkernige cellen, soms erythrocyten of enkele mononucleairen. In de emphysemateuze gebieden zijn de alveolaire holten vaak luchthoudend.

Vooral bij de gestorven muis is er een uitgesproken perivascuair oedeem en infiltratie, waarin soms vrij talrijke mononucleaire cellen, in het bijzonder rondom de buiten de purulent pneumonische haarden gelegen bloedvaten.

De purulent ontstoken longgedeelten bij de gedode muizen zijn grotendeels beperkt gebleven tot de hili van de longkwabben.

Muizen na 4 dagen gedood of gestorven.

Trachea: Het epitheel is, behoudens dat het een gezwollen aspect heeft, intact. Bij de gedode muis is in de submucosa en peritracheaal geen verandering waargenomen, bij de gestorven muizen ziet men een flinke hyperaemie, oedeem en een geringe infiltratie door polymorphkernige leucocyten. In het lumen bevinden zich enkele necrotische gedesquameerde epitheelcellen en enig purulent exsudaat.

Bronchi: De necrotische epitheelcellen zijn thans vaak ook gedesquameerd, elders bedekken zij nog de basaalmembraan en zijn dan vaak geïnfilteerd met enkele polymorphkernige leucocyten. Sub-

epitheliaal soms enig oedeem. In andere bronchi is het lumen geheel opgevuld met eiwitneerslagen uit oedeemvocht, naast gedesquameerde, necrotische epitheelcellen.

Even distaal van de bifurcatie bedekt een laag cubische epitheelcellen de bronchi. De kernen van deze cellen zijn blazig en lichtgekleurd. Deze cubische cellen gaan spoedig over in platte epitheelcellen, die op hun beurt meer distaal ergens eindigen in bronchi ontstaan van bekleedend epitheel. Dit laatste beeld is alleen bij de nog overlevende muis waargenomen en duidt op een beginnende regeneratie van het epitheel uitgaande van het epitheel van de grote bronchi.

Long: Vooral in de hilusgedeelten van de longkwabben ziet men uitgebreide purulent pneumonische haarden. De bronchi naar en in deze haarden bevatten veel purulent exsudaat, evenals de circumbronchiaal gelegen alveolaire holten. Het epitheel van deze bronchi is over het algemeen geheel verdwenen, dus ziet men een „naakte” basaalmembraan bedekt met purulent exsudaat. Voorts is er een dichte infiltratie door polymorphkernige cellen in het peribronchiale weefsel en rondom de bloedvaten in de pneumonische haarden.

Meer distaal in de kwabben treft men nog vooral veranderingen aan ten gevolge van het influenzavirus (hyperaemie, oedeem). Daar is de cellige infiltratie afwezig of nog gering, behoudens bij een enkel verspreid liggend purulent pneumonisch hardje.

Voor de longen van de gestorven muizen zijn sterk hyperaemisch en oedemateus. Zelfs zijn bij deze muizen de afwijkingen, veroorzaakt door het influenzavirus, heviger dan de longveranderingen verwekt door de secundaire besmetting met *Micrococci*.

In geen enkele longkwab zijn overigens nog *Micrococci* in het purulente exsudaat van bronchi of alveolaire holten waargenomen.

Muizen na 5 dagen gedood of gestorven.

Trachea: Het beeld van de epitheelbekleding is bij de diverse muizen nogal wisselend. Bij de gestorven dieren maakt het lumendeel van de cellen een wat gezwollen indruk, de kernen tonen geen afwijkend beeld. Bij de gedode muis zijn de epitheelcellen lange draad- tot knotsvormige cellen met soms pycnotische, platgedrukte kernen (hyperplasie). Elders zijn de cellen meer cubisch en bevatten blazige, lichtgekleurde kernen („jonge cellen”?). De submucosa en het peritracheale bindweefsel bieden geen afwijkende beelden. In het lumen bevindt zich geen inhoud.

Bronchi: In het begingedeelte van de grote bronchi van de gestorven muizen ziet men een bekleding van niet verhoornd plaveiselepitheel,

dat in eenlagig plat tot cubisch epitheel overgaat en ongeveer ter hoogte van de intreeplaats in de kwabben eindigt. Distaal zijn de bronchi ontdaan van epitheel, terwijl hier en daar resten van necrotische epitheelcellen nog op de basaalmembraan aanwezig zijn. In het lumen van de bronchi van de longkwabben, die vooral in het hilusdeel een haardvormige purulente pneumonie vertonen, treft men naast necrotische epitheelcellen, purulent exsudaat en vaak ophopingen van *Micrococci* aan.

Long: Rondom de purulent pneumonische haarden zijn de longen veelal atelectatisch en de septa van de alveoli geïnfiltriseerd met polymorphkernigen, doch men ziet nu naast de afwijkingen tengevolge van de indruppeling met influenzavirus in de meer distaal gelegen longgedeelten in de septa in sterkere mate dan bij de vorige groepen muizen, ook een infiltratie door deze cellen.

Bij de gedode muis is in de meeste kwabben abscesvorming of zijn reeds abscessen waargenomen, waarin talrijke ophopingen van *Micrococci*. Deze *Micrococci* liggen vooral aan de rand van de detritusmassa. Bij de gestorven muizen overheersen wederom de afwijkingen verwekt door het influenzavirus in de periferie van de kwabben (hyperaemie en longoedeem), terwijl in de hili geen abscessen zijn waargenomen. Slechts purulent pneumonische veranderingen van een beperkte uitbreiding zijn in deze longen gezien.

Muizen na 6 dagen gedood of gestorven.

Bronchi: Bij de gestorven muizen is de gehele bronchiaalboom nog ontdaan van epitheel, slechts in het begin van de grote bronchi is er een beginnende regeneratie. In het peribronchiale bindweefsel bevinden zich plaatselijke infiltraties door polymorphkernige leucocyten.

Long: Op enkele plaatsen in het hilusgedeelte van enkele kwabben treft men circumbronchiaal nog enkele groepen alveoli aan, waar in de holten polymorphkernige cellen liggen (purulente pneumonie). In het longweefsel ziet men op die plaatsen ook een geringe infiltratie door deze cellen. *Micrococci* zijn niet waargenomen.

Trachea: Bij de *gedode* muis is het epitheel van de trachea hoogcilindrisch, ligt vaak geplooid en biedt een rommelig aspect (meerrijig). In het lumen ziet men gedesquameerde, necrotische epitheelcellen en enkele polymorphkernige leucocyten.

Bronchi: De bronchus van een longkwab is bekleed met cylinder epitheel, vaak geplooid, met donker gekleurde cellen. In enkele

bronchi bevindt zich purulent exsudaat in het lumen waarin groepjes *Micrococci*. Ondanks de aanwezigheid van deze *Micrococci* is het epitheel toch geregenereerd. (Photo 8). Distaal zijn de bronchi en bronchioli nog ontdaan van een epitheelbekleding en bestaat de inhoud van het lumen grotendeels uit gedesquameerde, necrotische epitheelcellen.

Long: De longen zijn, bij deze muizen in wisselende graad, diffuus geïnfilteerd met overwegend mononucleaire cellen. Slechts bij de hilus en perivascuair ziet men plaatselijk uitgebreide infiltraties bestaande uit polymorphkernige leucocyten. Ook hier ziet men, dat de purulente ontsteking geheel van karakter is veranderd en zich niet heeft verbreid over de gehele long, maar eerder is geresorbeerd, waarbij mononucleaire cellen meer en meer op de voorgrond treden en de plaats van de polymorphkernigen gaan innemen.

Voor het overige tonen de longen hyperaemie en oedeem. In de alveolaire holten veelal eiwitneerslagen uit oedeemvocht. Langs de longranden emphysemateuze gedeelten.

Muizen na 7 dagen gestorven.

Trachea: Het epitheel is op verschillende gedeelten hyperplastisch veranderd in meerrijig cilinderepitheel. De membrana propria en de submucosa van de trachea zijn plaatselijk geïnfilteerd met overwegend mononucleaire cellen, al kan hier en daar het aantal polymorphkernige leucocyten nog vrij talrijk zijn. Voorts ziet men in de submucosa hyperaemie en een gering oedeem. In het lumen verspreide groepjes gedesquameerde, necrotische epitheelcellen vermengd met enig purulent exsudaat.

Bronchi: De regeneratie van het epitheel heeft zich voortgezet tot ver distaal in de grotere bronchi. Even perifeer van de bifurcatie bestaat de bekleding uit metaplastisch veranderd niet verhoord plaveiselepitheel. Even verder in de bronchi gaat genoemd epitheel over in éénlagig plat tot cubisch epitheel. Dit éénlagig epitheel eindigt ergens abrupt, zodat distaal hiervan de epitheelbekleding in de bronchi nog ontbreekt. Het protoplasma van deze epitheelcellen is veelal donker gekleurd, de kernen zijn daarentegen licht gekleurd, blazig. In het lumen van de grote bronchi wat gedesquameerde, necrotische epitheelcellen, in wisselende mate vermengd met purulent exsudaat. Peribronchiaal enig oedeem, terwijl het peribronchiale bindweefsel vaak geïnfilteerd is met overwegend mononucleaire cellen. Perivascuair ziet men ook oedeem, doch hier overheerst nog de infiltratie door polymorphkernige leucocyten.

In de kleinere bronchi en bronchioli ontbreekt nog elke bekleding

met epitheel, meestal vindt men in het lumen nog wel groepjes of proppen gedesquameerde, necrotische epitheelcellen en soms eiwitneerslagen uit oedeemvocht.

Long: In de longen zelf wordt het microscopische beeld beheerst door de hyperaemie en het oedeem, waarbij de infiltratie van de alveolaire septa vrijwel alleen uit diffuus verspreide mononucleairen bestaat. Deze infiltratie is bij de verschillende muizenlongen nogal uiteenlopend. Slechts bij de hilus is de infiltratie het meest dicht, waartussen veel polymorphkernige leucocyten zijn te herkennen. In een aantal alveolaire holten treft men bij de hili nog enig purulent exsudaat aan.

Vaak ziet men overvulde lymphebanen. *Micrococci* zijn niet waargenomen.

Langs de longranden bevinden zich emphysemateuze gedeelten, waarbij de alveolaire holten, evenals in de rest van de long, opgevoeld kunnen zijn met eiwitneerslagen uit oedeemvocht.

BESPREKING

Een van de opmerkelijke waarnemingen van deze proef is, dat ondanks het voorkomen van soms grote hoeveelheden exsudaat in de bronchi, terwijl daarin en vaak ook in de long *Micrococci* worden aangetroffen, de regeneratie van het bekleedende epitheel toch begint en voortgang vindt. Deze waarneming zal in de nog volgende onderzoekingen steeds weer worden bevestigd.

Het is overigens ook zeer merkwaardig, dat ondanks het feit, dat het bronchiaalepitheel in een toestand van actieve regeneratie verkeert, de dieren sterven. Deze sterfte kan het gevolg zijn van de bijkomstige longveranderingen, waarbij naar mijn gevoelen, de aanwezigheid van vaak grote hoeveelheden oedeemvocht in de alveolaire holten een niet te verwaarlozen factor vormt, al mag men een „toxische” werking van het influenzavirus zonder meer niet geheel uitsluiten.

Een uitgebreid oedeem van de longen ziet men bij deze dieren reeds op de derde dag na de virusinfectie en op de tweede dag na het indruppelen met *Micrococci* optreden. In hoeverre de toxinen, gevormd door de *Micrococci*, nog een rol spelen, zal moeilijk te bepalen zijn, want muizen, besmet met een sterk virulent influenzavirus, sterven ook en hun longen bevatten doorgaans geen microorganismen.

Vooraf de longen van de gestorven muizen zijn sterk hyperaemisch en oedemateus. Zelfs zijn bij deze muizen de afwijkingen veroorzaakt door het influenzavirus vaak meer uitgebreid en ernstiger dan de

longveranderingen, verwekt door de secundaire besmetting met *Micrococci*.

Zij gelijken op de veranderingen die STRAUB (1940) en TAYLOR (1941) hebben beschreven bij muizen, die na de infectie met een zwak virulent influenzavirus, ingedruppeld zijn met een steriele vloeistof en waarop de longen veranderingen hebben getoond, gelijk aan die, welke men waarneemt na een besmetting met een zeer virulent virus.

Toch meen ik, dat het oedeemvocht in de alveolaire ruimten één van de belangrijkste letale factoren vormt. Ten eerste omdat de normale ventilatie sterk of er soms geheel door wordt belemmerd. Vervolgens wordt door dit oedeemvocht het diffunderen van „toxinen” naar het lichaam toe aanmerkelijk bevorderd (hierbij laat ik de mogelijkheid van een intoxicatie door het virus of door bacteriele toxinen buiten beschouwing). Tenslotte vormt dit oedeemvocht bij aanwezigheid van secundaire microörganismen een niet te onderschatten „aankweek”-voedingsbodem. Ongetwijfeld zal laatstgenoemde factor een belangrijker rol spelen op het moment, dat de secundaire infectie plaats vindt, dan het ontbreken van een epitheelbekleding van de bronchiaalboom.

MUIZENBESMETTINGSPROEF MET DE W.S.-STAM, 24 UUR DAARNA GEVOLGD
DOOR DE INFECTIE MET EEN MICROCOCCUSCULTUURSUSPENSIE

De gegevens verzameld in tabel 6, geven een enigszins ander beeld dan die vermeld in de vorige tabel. Bij deze proef zijn de meeste dieren 4 tot 5 dagen na de infectie met het influenzavirus gestorven.

Ook de uitkomsten van het bacteriologisch onderzoek van de longen lopen zeer uiteen. In betrekkelijk weinig longen vindt men weer *Micrococci* terug.

Letten wij thans op de resultaten van het histologisch onderzoek van deze longen.

Muizen, na 2 dagen gedood.

Trachea: Deze is bekleed met trilhaarepitheel, dat op enkele plaatsen een enigszins gezwollen aspect heeft, en geïnfilteerd is met enkele polymorphkernige leucocyten. Dit epitheel kan bedekt zijn met een dun laagje slijm, vermengd met al of niet necrotische epitheelcellen en soms enig exsudaat. De tunica propria toont enige infiltraten van polymorphkernige cellen. Het overige tracheaweefsel geeft geen afwijkingen te zien.

TABEL 6

Muis nr.	Aantal dagen na de besmetting met influenzavirus gedood of gestorven								B.O.	Macroscopische longafwijkingen	
	1	2	3	4	5	6	7	8			
1	.	A								+	<p>Kleine paarsrode hyaline hardjes in de hilus van de linker long. Voor het overige zijn de longen bloedrijk en slecht samengevallen.</p> <p>Slecht samengevallen longen met een gemarmerd aspect.</p> <p>Grauwrode hardjes bij de hili van de kwabben. Longranden slecht samengevallen, bloedrijk.</p> <p>Bij hili grauwrode pneumonische plekken met een bont aspect. Longranden emphysemateus, glanzend, bloedrijk.</p> <p>idem.</p> <p>Bij de meeste longen ziet men bij de hili vlekkelijke, grauwrode pneumonische harden, welke naar de longrand toe meer paarsrood en iets gewolkt van aspect zijn. Langs de longranden emphysemateuse gedeelten. De longen zijn vochtig glanzend.</p> <p>In de hilusgedeelten grauwrode pneumonische plekken omgeven door een vrij homogene paarsrode zône. De longen zijn vochtig glanzend. Langs de longranden enig emphyseem.</p> <p>idem.</p> <p>Bij de hili kleine grauwrode pneumonische hardjes. Het distale deel van de kwabben is kersrood, homogeen van aspect, terwijl langs de longranden een smalle emphysemateuze zône te zien is. De longen zijn vochtig, glanzend.</p> <p>idem.</p>
2	.	A								+	
3	.	.	A							+	
4	.	.	A							—	
5	.	.	†							+	
6	.	.	.	†						—	
7	.	.	.	†						—	
8	.	.	.	†						—	
9	.	.	.	†						—	
10	.	.	.	†						—	
11	.	.	.	†						+	
12	.	.	.	†						+	
13	.	.	.	†						—	
14	.	.	.	†						+	
15	.	.	.	†						—	
16	†					+	
17	†					+	
18	†					—	
19	A				—	
20	†			—	
21	A		—	

A = gedood
† = gestorven

+ = *Micrococci* uit de longen geïsoleerd
— = géén *Micrococci* uit de longen geïsoleerd

Bronchi: Het bekleedende epitheel van de meeste bronchi biedt geen afwijkingen, bij een aantal echter is er epitheelnecrose in de grote bronchi. Men vindt de necrotische cellaag nog terug op de basaal-membraan. De overgang van het proximaal necrotische naar het distaal gelegen intacte epitheel is scherp. Soms vindt men onder de necrotische epitheelcellen op enkele plaatsen spoelvormige, „gaaf” uitzierende cellen op de membrana propria. Elders zijn kleine gedeelten van het bekleedende epitheel necrotisch. In het lumen bevinden zich wisselende hoeveelheden gedesquameerde, necrotische epitheelcellen, al of niet vermengd met purulent exsudaat, soms alleen dit exsudaat.

Peribronchiaal van deze grote bronchi met necrotisch epitheel, is soms enige infiltratie door overwegend mononucleaire cellen. Het perivasculaire bindweefsel bij de hili is in geringe mate oedemateus verbreed, waarin kleine aantallen polymorphkernige en mononucleaire cellen.

Long: De longen zijn hyperaemisch, bij de hili zijn de kwabben soms atelectatisch en plaatselijk ziet men dan een wisselende infiltratie door overwegend mononucleaire cellen, tenzij er zich tevens in een kwab een beginnende purulente bronchopneumonie heeft ontwikkeld, dan overheerst de exsudatie met polymorphkernigen. Langs de longranden ziet men soms enig emphyseem.

Bij een aantal kwabben heeft zich, vooral gelocaliseerd bij de hili, een beginnend purulent bronchopneumonisch proces ontwikkeld. Soms ziet men dan in het centrale deel een purulente ontsteking en meer distaal een necrotiserende bronchitis en bronchiolitis, met hyperaemie en een geringe infiltratie door mononucleaire cellen in het longweefsel, tengevolge van de infectie met het influenzavirus.

Muizen, na 3 dagen gedood of gestorven.

Trachea: Het epitheel van de trachea is geheel intact. De cellen hebben aan de lumenzijde op verschillende plaatsen een gezwollen aspect en tussen de cellen in, bevinden zich enkele polymorphkernige leucocyten. In de submucosa en het peritracheale bindweefsel is er soms enige toename van polymorphkernige cellen. In het lumen bevindt zich soms enig eiwitneerslag uit oedeemvocht of slijm, al of niet vermengd met necrotische epitheelcellen en/of purulent exsudaat.

Bronchi: Bij een aantal longen ziet men op korte afstand van de bifurcatie necrose van het epitheel van de bronchi, bij andere treedt deze necrose wat meer distaal op. Per longkwab lopen de beelden, wat het epitheel betreft, zeer uiteen. Bij enkele heeft dit epitheel een wat gezwollen aspect, necrose ontbreekt. Soms bevindt zich dan in,

het lumen purulent exsudaat naast wat eiwitneerslag uit oedeemvocht.

Andere bronchi tonen gehele of gedeeltelijke necrose van het kledende epitheel, dat nu en dan gedesquameerd is. In het lumen treft men dan necrotische epitheelcellen aan, soms vermengd met purulent exsudaat.

De uitbreiding van deze epitheelnecrose kan per kwab maar ook per dier verschillen. Bij enkele kwabben is alleen het epitheel van de bronchioli nog intact. In de kleine bronchi is het lumen dan soms geheel opgevuld met proppen gedesquameerd, necrotisch epitheel, waarin een enkele maal ook polymorphkernige leucocyten voorkomen.

Het peribronchiale bindweefsel van de grotere bronchi is oedeemateus verbreed, de infiltratie, door vooral polymorphkernigen, kan plaatselijk sterk wisselen en wordt bepaald door de aard van de ontsteking van het omgevende longgedeelte. Perivasculair geldt hetzelfde.

Long: De longen zijn over het algemeen bij de hili van de kwabben purulent pneumonisch en distaal emphysemateus. Tengevolge van de hyperaemie, het veel voorkomend oedeem en de plaatselijk wisselende infiltratie door polymorphkernigen, zijn de alveolaire septa sterk verbreed. Bij de hili bevatten vele alveolaire holten purulent exsudaat, distaal eiwitneerslagen uit oedeemvocht. Overgangen komen uiteraard voor. Ook macrophagen zijn waargenomen, waarin kernkruiemels of *Micrococci*. In deze longen ziet men meestal dat de necrotische veranderingen van het epitheel van de bronchiaalboom verder zijn voortgeschreden dan bij de vorige groep dieren, waarbij men nog, vooral tot de hilus gelocaliseerde bronchopneumonische processen, waarneemt.

Muizen, na 4 dagen gestorven.

Trachea: Het epitheel is intact, toont in het distale gedeelte meestal een wat gezwollen aspect en lijkt nu en dan meerijg. In het lumen bevindt zich soms eiwitneerslag uit oedeemvocht of slijm al of niet vermengd met groepjes gedesquameerde, necrotische epitheelcellen of wat purulent exsudaat.

Bronchi: Behoudens in 2 van de 9 paren muizenlongen, waar niet met zekerheid een necrotiserende bronchitis of bronchiolitis kon worden vastgesteld, zijn in de overige longen bronchi gezien, waar zich de epitheelnecrose in wisselende mate heeft verbreed. Niet alleen dat de necrose van het epitheel in de long van de ene muis verder voortschrijdt dan in de andere, maar ook kwabsgewijs zijn grote verschillen waarneembaar. Men ziet dus longkwabben zonder necrotisch bron-

chiaalepitheel, andere met alleen necrose van het epitheel van de grotere bronchi, vervolgens kan het epitheel van de kleinere bronchi in het necrose-proces zijn betrokken, terwijl tenslotte bij $\frac{1}{3}$ deel van de muizen kwabben zijn gezien, waar de epitheelnecrose tot in de bronchioli is voortgeschreden. In een aantal bronchi en bronchioli is naast deze epitheelnecrose, nog een purulente bronchitis en bronchiolitis waargenomen. In het laatstgenoemde geval ziet men ook een peribronchiale infiltratie door polymorphkernige leucocyten.

Opmerkelijk is wel, dat in enkele longkwabben, waar de epitheelnecrose tot in de bronchioli is voortgeschreden, het epitheel van de grote en middelgrote bronchi geen necrose te zien geeft. Of het epitheel van laatstgenoemde bronchi reeds is geregenereerd (*restitutio ad integrum*) is niet vastgesteld kunnen worden.

Long: In de hili van vele kwabben ziet men purulent bronchopneumonische gedeelten, meestal circumbronchiaal van de grotere bronchi gelegen. Men ziet groepjes alveoli, waarvan het lumen opgevuld is met purulent exsudaat en waar men in de septa talrijke polymorphkernige leucocyten aantreft. Vele alveoli direct rondom deze pneumonische haardjes gelegen zijn atelectatisch. Het peribronchiale bindweefsel nabij deze pneumonische gedeelten is geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten. In het lumen van de bronchi ziet men meestal betrekkelijk geringe hoeveelheden purulent exsudaat. In vergelijking tot de vorige groep dieren, is het beeld van de purulent bronchopneumonische processen weinig of niet van karakter veranderd en zij hebben zich vrijwel niet uitgebreid.

In de hili van een aantal kwabben ziet men een infiltratie door polymorphkernige leucocyten in de alveolaire septa, het peribronchiale en het perivasculaire bindweefsel, echter zonder purulent exsudaat in de alveolaire holten. In een aantal van deze alveolaire holten zijn wel macrophagen gezien, waarbij in het protoplasma van een aantal, gefagocyteerde *Micrococci* zijn gezien.

De meeste longen zijn in de perifere gedeelten hyperaemisch en sterk oedemateus. De infiltratie door polymorphkernige leucocyten of mononucleairen houdt nauw verband met de uitbreiding van het purulent bronchopneumonische proces bij de hili. Zo ook lopen de mate en de aard van de peribronchiale en perivasculaire infiltraten plaatselijk sterk uiteen.

De meeste alveolaire holten in de perifere longgedeelten bevatten eiwitneerslagen uit oedeemvocht of zij zijn emphysemateus verwijd. De inhoud van het lumen van de bronchi en bronchioli wordt uiteraard ook grotendeels bepaald door de veranderingen, die in en rondom

deze delen in het longweefsel zijn opgetreden. Men treft eiwitneerslag uit oedeemvocht, necrotische epitheelcellen, proppen gedequameerd, necrotisch epitheel en soms purulent exsudaat aan, in wisselende mate en op uiteenlopende wijze vermengd. Soms is er enig subepitheliaal oedeem. Vele lymphanen zijn overvuld. Op enkele plaatsen ziet men atelectase.

Muizen, na 5 dagen gestorven.

Trachea: Ook bij deze dieren is het epitheel intact, doch toont meestal in het distale deel een enigszins gezwollen aspect aan de lumenzijde van de cellen. De membrana propria en de submucosa zijn plaatselijk wat oedemateus verbreed, terwijl in laatstgenoemde laag soms kleine ophopingen van polymorphkernige leucocyten zijn waargenomen en enige overvulling van de bloedvaten is gezien. In het lumen bevindt zich nu en dan eiwitneerslag uit oedeemvocht of slijm, in wisselende graad vermengd met gedequameerde, necrotische epitheelcellen of enig purulent exsudaat.

Bronchi: Het epitheel van de meeste grote bronchi is necrotisch en gedequameerd. Necrotische epitheelcellen liggen vermengd met eiwitneerslagen uit oedeemvocht en wisselende hoeveelheden purulent exsudaat in het lumen. Over het algemeen heeft het necrotiserend proces van het epitheel zich voortgezet tot in de bronchioli. Het lumen van vele kleinere bronchi en bronchioli is dan vaak opgevuld met hoopjes necrotische epitheelcellen, waarin soms polymorphkernige cellen of eiwitneerslagen uit oedeemvocht. Een epitheelbekleding ontbreekt dan. In enkele longkwabben is geen epitheelnecrose waargenomen.

In het peribronchiale bindweefsel rondom een aantal grotere bronchi ziet men een infiltratie door overwegend polymorphkernige leucocyten.

Longen: Wederom ziet men in de hilusgedeelten van vele kwabben purulent bronchopneumonische haarden. Vooral circumbronchiaal ziet men alveoli opgevuld met purulent exsudaat, terwijl de alveolaire septa zijn verbreed ten gevolge van hyperaemie en infiltratie door polymorphkernigen. Direct rondom deze pneumonische hardjes treft men atelectatische gedeelten aan. Perivascuair zijn hier ophopingen van polymorphkernigen gezien. Overigens wekt het niet de indruk, dat men met „actieve” bronchopneumonische processen te doen heeft.

In de meer perifere longgedeelten ziet men hyperaemie, oedeem en een infiltratie, waarbij de mononucleaire cellen overheersen. In de alveolaire holten bevinden zich plaatselijk eiwitneerslagen uit oedeemvocht en soms macrophagen.

Uiteraard ziet men overgangen van de aard van de infiltraatcellen. Langs de longranden bevinden zich emphysemateuze gedeelten.

Muis, na 6 dagen gedood.

Trachea: De beelden komen overeen met die bij de vorige dieren beschreven.

Bronchi: Het epitheel van vele bronchi is necrotisch en gedesquameerd. Over het algemeen is het lumen van de bronchi ledig behoudens enig gecoaguleerd oedeemvocht en enkele verspreide necrotische epitheelcellen. Slechts in een enkele kwab ziet men in het lumen van de bronchi enig purulent exsudaat. Peribronchiaal bevindt zich meestal enige infiltratie door overwegend mononucleaire cellen, soms ziet men ophoppingen van polymorphkernigen. Het perivasculaire bindweefsel is veelal verbreed tengevolge van oedeem, waarin mononucleairen en polymorphkernige leucocyten naast elkaar in wisselende graad kunnen voorkomen.

Long: Ook in de hili van deze longen komen vaak kleine omschreven purulent bronchopneumonische hardjes voor met een rustig aspect. Meer distaal in de kwabben ziet men hyperaemie, een matig oedeem en een diffuse infiltratie door overwegend mononucleaire cellen. Langs de randen ziet men emphysemateuze gedeelten. Kleine groepjes alveoli zijn opgevuld met eiwitneerslagen uit oedeemvocht, en hier en daar in de omgeving van de pneumonische harden treft men een enkele macrophaag aan.

Muis, na 7 dagen gestorven.

Trachea: als bij vorige groepen.

Bronchi: Van de grote bronchi is het epitheel intact, doch het heeft aan de lumenzijde van de cellen een wat gezwollen aspect. Van vele kleinere bronchi is het epitheel, soms over gedeelten, soms over de gehele oppervlakte, necrotisch en ligt nog op de membrana propria of in het lumen, en dan vaak als proppen. Men ziet sporadische polymorphkernige leucocyten in het lumen, meestal wel wat ge-coaguleerd oedeemvocht. Er bestaat meestal enige peribronchiale en perivasculaire infiltratie door overwegend mononucleaire cellen. De peribronchiaal gelegen lymfhebanen zijn vaak overvuld.

Long: Bij de hili van de kwabben ziet men kleine circumbronchiaal gelegen purulent bronchopneumonische hardjes, omgeven door wat atelectatische alveoli. Deze harden bieden een rustig aspect.

Meer distaal bevatten vele alveoli eiwitneerslag uit oedeemvocht en hier en daar een macrophaag. De septa zijn daar matig dicht en

diffuus geïnfiltreerd met mononucleairen, hyperaemisch en oedeematus verbreed.

Langs de longranden bevinden zich enkele emphysemateuze gedeelten.

Muizen, na 8 dagen gedood.

Trachea: Deze toont geen afwijkingen.

Bronchi: Plaatselijk is necrose van het epitheel gezien met vaak een regeneratie tot metaplastisch plat tot cubisch epitheel. In het lumen van deze bronchi ziet men kleine celophoppingen, gevormd door gesquameerde, necrotische epitheelcellen en wat eiwitneerslagen uit oedeemvocht. Er is een geringe peribronchiale en perivasculaire infiltratie door vrijwel alleen mononucleaire cellen.

Long: Bij de hili van de kwabben ziet men atelectatische plekken. Het longweefsel is daar hyperaemisch en diffuus geïnfiltreerd met mononucleaire en polymorphkernige cellen. Vele septa zijn oedeematus verbreed. In de perifere longgedeelten is hyperaemie en een diffuse infiltratie door vrijwel alleen mononucleairen waargenomen. In enkele alveolaire holten ziet men eiwitneerslagen uit oedeemvocht en wat verspreide macrophagen. Weer is enig emphyseem langs de longranden waargenomen.

BESPREKING

Er bestaan enkele onderlinge afwijkingen tussen de histologische beelden van de longen van deze groep muizen, besmet met de W.S.-stam en de groep besmet met stam V. 1949. Toch beperkt zich dit hoogstens tot wat graduele verschillen en er valt soms enig onderscheid in tempo waar te nemen bij het vergelijken van bepaalde onderdelen.

Zo ziet men eiwitneerslagen uit oedeemvocht in de alveolaire holten bij beide groepen op vrijwel gelijke tijden na de besmetting optreden, echter met dit verschil, dat de graad en de omvang van het longoedeem veel heviger is bij de dieren besmet met de W.S.-stam. Waarschijnlijk is dit ook de reden van de grote sterfte op de vierde en vijfde dag na de virusinfectie.

Vervolgens valt de meestal vertraagde necrose van het epitheel van de bronchioli op. Deze spreidt zich uit over een periode van 4 tot 7 dagen na de virusinfectie met de influenza-stam W.S., vóórdat het epitheel van de bronchioli van alle longen necrotisch is. In dezelfde lijn valt het vertraagde tempo van de eerste waarneming, dat regene-

ratie op de plaats van het necrotische epitheel in de bronchi, niet eerder dan 7 dagen na de virusbesmetting is gezien.

Een meer wezenlijk onderscheid is waargenomen bij de purulent bronchopneumonische processen. Bij de dieren besmet met de W.S.-stam, zijn geen abscessen in de longen waargenomen, mogelijk zijn deze dieren daarvoor te vroegtijdig gestorven (binnen 5 dagen). Bij de overgebleven muizen is mogelijk de infectie met *Micrococci* te licht geweest, aangezien bij deze dieren purulent bronchopneumonische veranderingen van beperkte omvang en uitsluitend veranderingen door het influenzavirus veroorzaakt, in de longen zijn aangetroffen.

Daarentegen is het optreden van kleine en grote mononucleaire cellen in de longbeelden, na besmetting met de influenzastam V. 1949 vertraagd (5—6 dagen), ten opzichte van de vroegste waarneming van deze cellen bij dieren, besmet met de influenzastam W.S. (3—4 dagen).

MUIZEN 48 UUR NA DE BESMETTING MET INFLUENZAVIRUS (STAM V. 1949),
INTRANASAAL MET MICROCOCCI GEÏNFECTEERD

Evenals bij de vorige groep muizen sterven reeds vanaf de tweede dag na de besmetting met *Micrococci* een groot aantal van deze dieren spontaan. Tabel 7 geeft van een en ander een overzicht.

Histologisch longonderzoek

Muizen, na 3 dagen gedood.

Trachea: Deze is bekleed met cilindrisch epitheel. Tussen de cellen ziet men een geringe infiltratie door polymorphkernige leucocyten. Het bekleedende epitheel is bedekt door een dun laagje purulent exsudaat.

Distaal, ter hoogte van de bifurcatie, wordt het epitheel laag-cylindrisch of twee-lagig cubisch of plat epitheel, dat bij de bifurcatie eindigt in een laag necrotische epitheelcellen, die nog op de tunica propria liggen. In het lumen van de grote bronchi bij de bifurcatie bevindt zich purulent exsudaat.

De submucosa van de trachea is in geringe mate hyperaemisch, licht oedemateus, en plaatselijk vrij dicht geïnfiltreerd met overwegend mononucleaire cellen.

Bronchi: Deze zijn grotendeels bekleed met necrotische epitheelcellen, slechts in de bronchioli is nog een normale epitheelbekleding aanwezig. In de lumina van de bronchi bevinden zich wisselende hoeveelheden purulent exsudaat. Enkele kleinere bronchi en bron-

chioli, waarvan het lumen geheel opgevuld is met purulent exsudaat, zijn nog bekleed met epitheel, dat mogelijk een licht gezwollen aspect heeft, doch overigens histologisch geen veranderingen toont. Vooral peribronchiaal bevinden zich uitgebreide infiltraties door polymorphkernige cellen. In een aantal kwabben ziet men dat de circumbronchiaal gelegen alveoli nog maar in geringe mate in het purulente ontstekingsproces zijn betrokken. De meeste bronchi zijn dan nog omgeven door hyperaemisch en atelectatisch longweefsel.

Long: In een groot aantal longkwabben ziet men vooral gelocaliseerd bij de hili uitgebreide purulent bronchopneumonische haarden, terwijl meer distaal in de kwab deze haarden wat meer verspreid in de long liggen. Op die plaatsen in de longen waar geen purulente ontsteking is waargenomen, ziet men op verscheidene plekken necrose van het bekleedende epitheel van de bronchi, hyperaemie, oedemateus verbrede alveolaire septa, in een aantal alveoli eiwitneerslagen uit oedeemvocht, vrijwel geen cellige infiltratie. Direct rondom de purulent pneumonische haarden vindt men een flinke hyperaemie, atelectatische alveoli en de septa zijn daar dicht geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten.

Langs de longranden ziet men emphysemateuze gedeelten.

Muizen, na 4 dagen gestorven.

Trachea: Deze is bekleed met cilindrisch epitheel. Ter hoogte van de bifurcatie ziet men enkele necrotische cellen en cellen met pycnotische kernen tussen de nog normale cilindrische epitheelcellen in liggen. Het epitheel is geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten met soms een enkele mononucleaire cel er tussen. In de tunica propria en de submucosa treft men vele polymorphkernige leucocyten aan; echter bij een muis, waar in het peritracheale bindweefsel overvulling van de lymfhebanen is waargenomen, is daarnaast nog een infiltratie door mononucleaire cellen gezien. Voorts zijn deze lagen in geringe mate oedemateus verbreed en hyperaemisch.

Bronchi: Deze zijn vrijwel alle geheel van hun epitheelbekleding ontdaan, terwijl het lumen opgevuld is met gedesquameerde, necrotische epitheelcellen en purulent exsudaat. In het lumen van een bronchus, bekleed met meerrijig cilinderepitheel, is dezelfde inhoud gezien als in de overige bronchi.

Het lumen van vele bronchi is verwijd. In het purulente exsudaat van vele bronchi zijn ophoppingen van *Micrococci* aangetroffen. Peribronchiaal bevinden zich vaak uitgebreide infiltraties door polymorphkernige leucocyten.

TABEL 7

Muis nr.	Aantal dagen na de besmetting met influenzavirus gedood of gestorven							B.O.	Macroscopische longafwijkingen
	1	2	3	4	5	6	7		
1	.	.	A					+	} Aan de hilus, maar ook diffuus verspreid, grauwrøde, pneumonische haardjes. De overige longgedeelten zijn slecht samengevallen, vochtig glanzend, hyperaemisch. Langs de randen enig emphyseem.
2	.	.	A					+	
3	.	.	A					+	
4	.	.	.	†				+	} Uitgebreide pneumonie van alle kwabben. Enkele kwabben hebben een bont aspect (grauwrood), anderen zijn meer homogeen donkerrood en vochtig glanzend. Langs de randen vaak enig emphyseem.
5	.	.	.	†				+	
6	.	.	.	†				+	
7	†			—	} Uitgebreide pneumonie van vrijwel alle longkwabben uitgaande van de hili. De longen zijn vrij homogeen donkerrood van kleur, vochtig glanzend. Langs de randen enig emphyseem.
8	†			—	
9	A			—	
10	†		+	} Longen doorspekt met grauwrøde pneumonische haarden.
11	†		—	
12	A	—	} Uitgebreide pneumonie van vrijwel alle longkwabben uitgaande van de hili. De longen zijn vrij homogeen donkerrood van kleur, vochtig glanzend. Langs de randen enig emphyseem.
13	A	—	
14	A	—	
15	†	—	} Uitgebreide grijsrode pneumonische haarden in alle longkwabben, vooral uitgaande van de hili. In de periferie zijn de haarden meer kersrood van aspect. De longen zijn vochtig glanzend. Langs de longranden vaak enig emphyseem.
16	†	—	
17	†	—	
18	†	—	
19	†	—	
20	†	—	
21	†	—	

A = gedood

† = gestorven

+ = *Micrococci* uit de longen geïsoleerd— = géén *Micrococci* uit de longen geïsoleerd

In vele kwabben liggen, vooral bij de hili, perivasculaire infiltraten, en er is overvulling van lymfhebanen en bloedvaten, waardoor het aspect van deze infiltraten plaatselijk sterk kan wisselen in karakter.

Long: Wederom ziet men in de longkwabben zeer uiteenlopende beelden. In een aantal treft men soms diffuus verspreid, in anderen speciaal bij de hili, purulent bronchopneumonische haarden aan, waarbij het longweefsel tussen deze haarden veelal atelectatisch is. Distaal in deze kwabben bevindt zich slechts een enkel verspreid purulent pneumonisch haardje, circumbronchiaal gelegen, terwijl het overige longweefsel hyperaemisch en oedemateus is. De bronchi en bronchioli, waarbij men geen purulent exsudaat in het lumen ziet, zijn geheel ontdaan van epitheel en bevatten dan slechts necrotisch epitheel en/of eiwitneerslagen uit oedeemvocht.

In andere kwabben ziet men bronchi met een purulente inhoud (vaak vermengd met *Micrococci*), peribronchiale infiltraten gevormd door polymorphkernige leucocyten, de circumbronchiaal gelegen alveolaire holten bevatten echter geen cellige inhoud, zodat slechts gesproken mag worden van een purulente bronchitis en peribronchitis.

De longen zijn dan verder of atelectatisch of uitgebreid emphysemateus en in deze gedeelten vindt men vaak infiltraties waar de mononucleaire cellen overwegen.

In de niet atelectatische alveolaire holten treft men dan veelal eiwitneerslagen uit oedeemvocht aan, waarin soms enkele grote mononucleaire cellen zijn gelegen.

In enkele kwabben ziet men alleen een uitgebreide necrose van het bekleedende epitheel van de bronchi en van een aantal bronchioli. In het lumen hiervan ziet men geen purulent exsudaat, doch daarin bevinden zich dan ophopingen van gedesquameerde, necrotische epitheelcellen en soms eiwitneerslagen uit oedeemvocht. Het longweefsel is hyperaemisch, oedemateus, min of meer atelectatisch en langs de longranden wat emphysemateus. Er is een geringe infiltratie door lymphocyten en zelden door polymorphkernigen. In een aantal alveolaire holten ziet men gecoaguleerd oedeemvocht en soms een enkele grote mononucleaire cel.

Muizen, na 5 dagen gedood of gestorven.

Trachea: Deze is bekleed met cilinderepitheel, waarvan het protoplasma aan de lumenzijde vaak een gezwollen aspect biedt en soms hyperplastisch veranderd is in meerrijig cilinderepitheel. Tussen de epitheelcellen zijn enkele polymorphkernige leucocyten waargenomen. De submucosa toont enige hyperaemie. In het lumen groepjes ge-

desquameerde, necrotische epitheelcellen vermengd met wat purulent exsudaat.

Bronchi: Slechts in het lumen van een aantal grote bronchi, waarvan de epitheelbekleding ontbreekt, treft men naast gedesquameerde, necrotische epitheelcellen nog purulent exsudaat aan. In het lumen van de kleinere bronchi en bronchioli is slechts zelden enig purulent exsudaat waargenomen, wel ziet men propfen necrotisch epitheel.

Het peribronchiale interstitium van de grote bronchi is oedemateus verbreed en dicht geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten, rondom de kleinere bronchi ziet men veelal alleen enkele verspreide lymphocyten in het bindweefsel liggen.

Long: Slechts bij de hili van de kwabben treft men enkele circumbronchiaal gelegen alveoli aan, waarin men enig purulent exsudaat ziet. Aldaar en op enkele verspreide plaatsen in de longen zijn de alveolaire septa geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten, voor het overige ziet men een diffuse, geringe infiltratie door lymphocyten. Bij de hili zijn de longen atelectatisch, hyperaemisch, meer distaal hyperaemisch en oedemateus. In een aantal alveolaire holten ziet men eiwitneerslagen uit oedeemvocht, en een enkele verspreide grote mononucleaire cel. Vele lymphebanen zijn overvuld. Langs de longranden emphysemateus verwijde alveoli.

Muizen, na 6 dagen gedood of gestorven.

Bij de gedode muis zijn veranderingen waargenomen welke in overeenstemming zijn met die beschreven bij de vorige groep dieren.

Bij de gestorven muizen ziet men in de verschillende longkwabben nogal uiteenlopende histologische veranderingen.

Trachea: Het cilinderepitheel is plaatselijk hyperplastisch veranderd in meerrijig epitheel, doch het is overal intact. De infiltratie door polymorphkernige leucocyten kan pleksgewijs in graad verschillen. Ook in de membrana propria en de submucosa ziet men enige infiltratie door deze cellen en een geringe hyperaemie. Peritracheaal zijn geen afwijkingen waargenomen.

Bronchi: Op de basaalmembraan van de meeste grote bronchi ziet men nog resten van necrotische epitheelcellen of hier en daar een of enkele platte „gave” epitheelcellen. In het lumen bevindt zich purulent exsudaat al of niet vermengd met gedesquameerde, necrotische epitheelcellen. Peribronchiaal is oedeem en een dichte infiltratie door polymorphkernige leucocyten gezien.

In de kleinere bronchi en bronchioli ontbreekt het bekledende epitheel. De inhoud van het lumen kan zeer sterk wisselen en wordt

vrijwel beheerst door de veranderingen in het omgevende longweefsel. Soms ziet men alleen purulent exsudaat, elders purulent exsudaat vermengd met necrotische epitheelcellen en op weer andere plaatsen alleen groepjes of proppen necrotisch epitheel. Hier en daar zijn eiwitneerslagen uit oedeemvocht gezien.

Evenzo worden de veranderingen in het peribronchiale interstitium grotendeels bepaald door de longveranderingen, waargenomen in het omgevende longgedeelte. Ziet men daar purulent bronchopneumonische veranderingen, dan ziet men alleen of overheerst het aantal polymorphkernige leucocyten. Voor het overige ziet men een plaatselijk wisselende infiltratie door overwegend of alleen enkele lymfocyten. Het peribronchiale interstitium is meestal oedemateus verbreed.

Long: Men ziet niet alleen kwabsgewijs uiteenlopende beelden, ook in eenzelfde kwab verschillen de afwijkingen plaatselijk. In enkele kwabben wordt het beeld vrijwel beheerst door afwijkingen zoals men waarneemt bij muizen die alleen ingedruppeld zijn met influenzavirus, d.w.z. necrose en daarop aansluitend desquamatie van het epitheel van de bronchi en bronchioli, atelectase gelocaliseerd vooral bij de hili, hyperaemie, een geringe diffuse infiltratie door overwegend mononucleaire cellen, zowel peribronchiaal als perivascuair, longoedeem en emphysemateus verwijde alveoli bij de longranden.

In de meeste kwabben ziet men echter purulent bronchopneumonische veranderingen, welke zich in wisselende mate in de kwabben hebben verbreed. In een aantal kwabben zijn slechts de hili in het purulente ontstekingsproces betrokken; daar treft men naast de necrotiserende en purulente bronchitis en peribronchitis, bronchopneumonische haarden en soms abscesvorming in het longweefsel aan. In enkele kwabben ziet men meer distaal nog een enkel purulent bronchopneumonisch haardje. In het lumen van de bronchi bevinden zich purulent exsudaat en gedesquameerde, necrotische epitheelcellen. Peribronchiaal, maar vooral perivascuair liggen uitgebreide infiltraten gevormd door polymorphkernige leucocyten. In het purulente exsudaat van bronchi en alveoli zijn geen *Micrococci* waargenomen, wel in de abscesinhoud.

Het meer perifeer gelegen longweefsel is deels atelectatisch. Men ziet verbrede alveolaire septa tengevolge van de hyperaemie, het longoedeem en de infiltratie door overwegend mononucleaire cellen. In de alveolaire holten langs de longranden bevinden zich vaak eiwitneerslagen uit oedeemvocht met soms enkele grote mononucleaire cellen, andere zijn emphysemateus verwijde.

Muizen, na 7 dagen gedood of gestorven.

Trachea: zie vorige groep. In het lumen bevindt zich soms gecoaguleerd oedeemvocht.

Bronchi: Het bekleedende epitheel van de bronchiaalboom is overal necrotisch en gedesquameerd. Bij de bifurcatie ziet men echter in een aantal grote bronchi een klein gedeelte bekleed met éénlagig cubisch tot min of meer plat epitheel. Deze cellen hebben meestal een donker gekleurde kern en protoplasma. Een enkele maal ziet men een mitose. In het lumen bevindt zich purulent exsudaat vermengd met necrotische epitheelcellen, soms gecoaguleerd oedeemvocht. Het peribronchiale bindweefsel is hier oedemateus verbreed en dicht geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten, naar de periferie van de kwabben neemt deze infiltratie in graad af en verandert van karakter (mononucleairen).

In de kleinere bronchi en bronchioli ziet men zelden purulent exsudaat, meestal treft men groepjes necrotische, gedesquameerde epitheelcellen aan vermengd met eiwitneerslagen uit oedeemvocht.

Long: Bij de hili van de kwabben treft men meestal purulent bronchopneumonische gedeeltes aan, doch deze zijn van beperkte omvang. Abscessen zijn niet waargenomen. In de perifere longgedeelten ziet men bij deze muizen een hevig longoedeem. In de alveolaire holten aan de periferie ziet men eiwitneerslagen uit oedeemvocht, een enkele grote mononucleaire cel en soms wat erythrocyten. De longen zijn hier in geringe mate geïnfilteerd met vooral mononucleaire cellen, de lymfhebanen zijn overvuld. Langs de longranden ziet men enkele emphysemateus verwijde alveoli.

MUIZENBESMETTINGSPROEF MET DE W.S.-STAM, 48 UUR DAARNA GEVOLGD
DOOR DE INFECTIE MET EEN MICROCOCCUSCULTUURSUSPENSIE

Tabel 8 geeft een overzicht van het verloop van de sterfte, de macroscopisch zichtbare longafwijkingen en het resultaat van het bacteriologisch onderzoek van de longen op *Micrococci*. Opmerkelijk is weer, dat slechts korte tijd na de infectie met deze microorganismen, isolatie uit de long mogelijk blijkt.

Histologisch onderzoek

Muizen, na 3 dagen gedood.

Trachea: Het epitheel toont plaatselijk aan de lumenzijde een wat gezwollen aspect en is hier en daar geïnfilteerd met enkele polymorph-

TABEL 8

Muis nr.	Aantal dagen na de besmetting met influenzavirus gedood of gestorven								B.O.	Macroscopische longafwijkingen	
	1	2	3	4	5	6	7	8			
1	.	.	A							+	Bij de hili grijsrode-donkerrode pneumonische haardjes. Het overige deel van de kwabben is slecht samengevallen, bloedrijk.
2	.	.	A							—	
3	.	.	.	A						+	Bij de hili grauwoode pneumonische plekken. De longen zijn vochtig-glanzend. Langs de randen emphyseem.
4	.	.	.	A						—	
5	†					—	Idem.
6	†					+	
7	†					+	
8	†					+	
9	†					+	
10	†					—	
11	†					—	
12	†					—	
13	†					—	
14	†					—	
15	†				—	
16	†				—	
17	†				—	
18	†				—	
19		A		—	++ (Longveranderingen gewaardeerd volgens Bijlmer, zie blz. 26).
20			A	—	++ Idem.
21	.	.	†								(Gestorven tijdens tweede besmetting).

A = gedood

† = gestorven

+ = *Micrococci* uit de longen geïsoleerd— = geen *Micrococci* uit de longen geïsoleerd

kernige leucocyten. In de submucosa ziet men enige hyperaemie. In het lumen ligt diffuus verspreid wat purulent exsudaat.

Bronchi: Het bekleedende epitheel van de bronchi is op enkele plaatsen necrotisch. In de grotere bronchi is het hier en daar geïnfiltreerd met een enkele polymorphkernige leucocyt. Er is een geringe peribronchiale infiltratie door polymorphkernige leucocyten rondom de centraal gelegen bronchi. In het lumen liggen diffuus verspreide polymorphkernige cellen.

Long: De longen zijn hyperaemisch en meestal vrij diffuus geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten.

Bij de hili zijn kleine omschreven purulent bronchopneumonische gedeelten waargenomen. Het peribronchiale interstitium is wat oedemateus verbreed en hier dicht geïnfiltreerd met polymorphkernige cellen. Het perivasculaire bindweefsel is ook wat verbreed door oedeem, emigratie en infiltratie door polymorphkernige leucocyten is waargenomen. Enkele lymphebanen zijn wat overvuld.

In de perifere gedeelten van de kwabben ziet men atelectatische plekken en in enkele alveolaire holten eiwitneerslagen uit oedeemvocht. Rondom deze plekken emphysemateus verwijde alveoli.

Muizen, na 4 dagen gedood.

Trachea: Het epitheel heeft soms een enigszins onregelmatig aspect. In het lumen ziet men, wat verspreid liggend, purulent exsudaat.

Bronchi: Van vele bronchi en bronchioli is het epitheel necrotisch en daarbij ten dele afgestoten. In het lumen van de grotere bronchi bevinden zich vaak necrotische epitheelcellen, wat eiwitneerslagen uit oedeemvocht en kleine hoeveelheden purulent exsudaat. Enkele kleinere bronchi bevatten proppen necrotisch epitheel, die het lumen geheel opvullen. In andere bronchi, met een normale epitheelbekleding, ziet men in het lumen vaak enig purulent exsudaat.

Long: De beelden lopen plaatselijk nogal uiteen.

Bij de hili ziet men over het algemeen purulent bronchopneumonische haardjes, waarbij het longweefsel dicht geïnfiltreerd is met polymorphkernige cellen. Meer naar de periferie zijn de longen atelectatisch, hyperaemisch en oedemateus. In deze gedeelten ziet men in de alveolaire holten vaak eiwitneerslagen uit oedeemvocht en ook macrophagen waar in het protoplasma *Micrococci* zijn gezien. Langs de longranden zijn enkele emphysemateuze gedeelten.

Het peribronchiale en perivasculaire bindweefsel is oedemateus verbreed, bij de hili dicht geïnfiltreerd met polymorphkernigen, in

de periferie van de kwabben ziet men meestal enkele mononucleaire cellen. Vele lymfhebanen zijn overvuld.

Muizen, na 5 dagen gestorven.

Trachea: Meestal toont het epitheel geen histologische afwijkingen. Slechts in het distale gedeelte komen plaats en wat gezwollen aspect biedt. Hier en daar is er enige infiltratie door polymorphkernige leucocyten. In het lumen liggen wat eiwitneerslagen uit oedeemvocht, soms vermengd met gedesquameerde, necrotische epitheelcellen en/of purulent exsudaat.

In de submucosa ziet men een geringe hyperaemie met hier en daar enige infiltratie door polymorphkernige leucocyten.

Bronchi: In de longen van alle dieren is necrose van het bekleedende epitheel van een aantal grote of kleine bronchi en ook van vele bronchioli waargenomen. Bij vele kwabben begint de necrose meestal iets distaal van de bifurcatie ter hoogte van de plaats waar de bronchus door het longweefsel omgeven is. Van tijd tot tijd liggen de necrotische epitheelcellen nog op de basaalmembraan, over het algemeen zijn zij gedesquameerd. In de grote bronchi ziet men hier en daar een platte tot driekantige, nog gaaf uitziende epitheelcel op de basaalmembraan liggen.

Het lumen van een aantal bronchi toont geen inhoud, slechts de epitheelbekleding ontbreekt. In andere bronchi ziet men ophopingen of proppen necrotisch epitheel, soms vermengd met eiwitneerslagen uit oedeemvocht en purulent exsudaat.

Er bestaat een peribronchiaal oedeem, dat nogal wisselt in graad. Bij de hili is het peribronchiaal gelegen bindweefsel meestal dicht geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten, meer naar de periferie van de kwabben ziet men een enkel laagje mononucleaire cellen.

De bovenbeschreven beelden vormen het gemiddelde van vele waarnemingen in de longen van de verschillende muizen. In enkele grote bronchi is reeds regeneratie van het epitheel gezien. De bekleedende epitheelcellen van deze bronchi bezitten een donkergekleurd protoplasma met erin lichtgekleurde, blazige kernen. Dit epitheel loopt distaal uit in plat epitheel. Er zijn enkele mitosen gezien.

Het lumen van vele bij de hili gelegen bronchi bevatten naast gedesquameerde, necrotische epitheelcellen nog purulent exsudaat. Meer naar de periferie van de kwabben is het epitheel van de bronchi wel necrotisch en vaak gedesquameerd, zonder dat men in het lumen evenwel een spoor van purulent exsudaat behoeft waar te nemen.

Het lumen van een aantal bronchi is daarentegen opgevuld met purulent exsudaat, terwijl de epitheelbekleding volkomen intact is.

Long: Deze tonen bij de hili meestal purulent bronchopneumonische hardjes. Deze hardjes zijn meestal scherp afgescheiden van het overige deel van de kwabben door een atelectatische zône. De alveolaire septa in deze zône zijn hyperaemisch en diffuus geïnfiltreerd met polymorphkernige cellen.

Voor het overige tonen de perifere gedeelten van de kwabben een flinke hyperaemie, zijn hevig oedemateus, doch in geringe mate geïnfiltreerd met overwegend mononucleaire cellen. In vele alveolaire holten ziet men eiwitneerslagen uit oedeemvocht, hier en daar een enkele macrophaag, soms met gephagocyteerde cocci erin.

In een aantal alveoli met gecoaguleerd oedeemvocht in de holte (meestal groepsgewijs) ziet men grote ophopingen van *Micrococci*, zonder dat er echter in het omgevende longweefsel (septa) maar ook enige cellige reactie op die cocci is waargenomen. (Photo 10).

In de perifere longgedeelten en soms langs de randen ziet men enig emphyseem.

Over het algemeen is het perivasculaire bindweefsel sterk verbreed door oedeem. Bij de hili van de kwabben is het dicht geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten, meer distaal in de kwabben neemt dit aantal af, waarbij soms talrijke mononucleaire cellen zijn te onderkennen. Er is overvulling van de lymfhebanen.

Muizen, na 6 dagen gestorven.

Trachea: Zie vorige groep muizen.

Bronchi: Het epitheel van de grote bronchi toont regeneratie. Iets distaal van de bifurcatie is het epitheel metaplastisch veranderd in meerlagig min of meer cubisch epitheel, dat in perifere richting overgaat in éénlagig cubisch en in éénlagig plat epitheel, om ergens in een „naakte” bronchus te eindigen. Het protoplasma van deze cellen is veelal donker, de kernen zijn daarentegen licht gekleurd. Een enkele mitose is waargenomen.

In het lumen van de grote bronchi bevindt zich meestal gecoaguleerd oedeemvocht, soms ziet men enkele necrotische epitheelcellen of in enkele bevindt zich wat purulent exsudaat.

Het peribronchiale bindweefsel rondom de grotere bronchi is oedemateus verbreed en dicht geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten. Ook bestaat er een perivascuair oedeem en een perivasculaire infiltratie door polymorphkernigen.

Van de meeste kleine bronchi en bronchioli is het epitheel nog

necrotisch en ligt als proppen in het lumen of als een „pseudomembraan” tegen de wand. (Photo 4). Daarnaast ziet men in het lumen vaak purulent exsudaat of eiwitneerslagen uit oedeemvocht. De peribronchiale en peribronchiolaire cellige infiltratie kan plaatselijk sterk van karakter verschillen. Deze wordt vrijwel bepaald door de aard van de veranderingen in het omgevende longweefsel. Bij een purulente ontsteking is de infiltratie dicht en wordt gevormd door polymorphkernigen; in de meer perifere longgedeelten, waar de purulente ontstekingsveranderingen veelal ontbreken, ziet men meestal een enkel laagje overwegend mononucleaire cellen.

In het perivasculaire bindweefsel ziet men veelal oedeem. Ook hier is de infiltratie door polymorphkernigen in de periferie van de kwabben minder dicht dan in de centrale gedeelten. Vrijwel alle lymfhebanen zijn overvuld.

Long: Wederom ziet men bij de hili meestal purulent bronchopneumonische haarden, omgeven door een zône atelectatisch longweefsel. Perifeer daarvan ziet men hyperaemie, longoedeem, terwijl de long hier diffuus geïnfiltreerd is met soms vooral mononucleaire cellen. Langs de randen zijn de longen enigszins emphysemateus. Vele alveoli zijn opgevuld door eiwitneerslagen uit oedeemvocht, iets perifeer van de bronchopneumonische haarden treft men er macrophagen in aan, soms met gefagocyteerde cocci in het protoplasma. Er is geen abscesvorming waargenomen.

Muis, na 7 dagen gedood.

Trachea: Het epitheel toont geen afwijkingen. Submuceus bestaat een geringe hyperaemie. In het lumen is geen inhoud waargenomen.

Bronchi: In de grote bronchi vindt men regeneratie van het epitheel tot metaplastisch cubisch epitheel, dat distaal weer uitloopt in éénlagig plat epitheel.

In de perifeer gelegen bronchi en bronchioli ziet men nog necrotische epitheelcellen, deels op de basaalmembraan, deels gedesquameerd, liggend in het lumen. In het lumen is geen purulent exsudaat waargenomen.

Peribronchiaal ziet men slechts een geringe infiltratie door vrijwel uitsluitend mononucleaire cellen. Er bestaat een gering perivascuair oedeem evenals een infiltratie door overwegend mononucleairen.

Long: In de longen ziet men hyperaemie, bij de hili atelectatische plekken, doch nergens purulent bronchopneumonische veranderingen. De longen zijn diffuus en matig geïnfiltreerd met vooral mononucleaire cellen. Slechts in een enkele alveolaire holte is eiwit uit oedeemvocht

waargenomen, waarin hier en daar een grote mononucleaire cel. Langs de longranden zijn emphysemateuze gedeelten. Enkele lymphebanen zijn wat overvuld.

Muis, na 8 dagen gedood.

Hier zijn vrijwel dezelfde beelden waargenomen als bij de hiervoor beschreven muis. De regeneratie van het bekleedende epitheel van de bronchiaalboom heeft zich evenwel in de verschillende bronchi meestal in de meer perifere gedeelten voortgezet.

BESPREKING: (van de beide besmettingsproeven bij muizen die 48 uur na de indruppeling met influenzavirus zijn besmet met *Micrococci*). Vergelijkt men de histologische veranderingen in de muizenlongen uit beide proeven met elkaar, dan blijkt er eerder een kwantitatief, dan een kwalitatief verschil te bestaan.

Bij alle dieren is een vrijwel parallel lopend en voortschrijdend necrotiserend proces van het bekleedende epitheel van de bronchiaalboom gezien, onafhankelijk met welke influenza virusstam zij zijn besmet. De maximale necrose is bij vrijwel alle dieren op de vierde tot vijfde dag na de indruppeling met het virus tot stand gekomen. Het enige verschil is, dat bij enkele muizen, besmet met de W.S.-stam, na 5 à 6 dagen een beginnende regeneratie van het epitheel in enkele grote bronchi is opgemerkt.

Hetzelfde kan gezegd worden van het eerste optreden van longoedeem. De derde dag na de virusinfectie ziet men bij de muizen in de longen plaatselijk een wat oedemateus verbreed interstitium rondom de bloedvaten en iets verbrede alveolaire septa, doch zelden treft men eiwitneerslagen uit oedeemvocht in de alveolaire holten zelf aan. De volgende dag echter is er wel gecoaguleerd oedeemvocht in vele alveolaire ruimten waargenomen. Nu is gebleken, dat bij muizen besmet met de W.S.-stam, dit oedeem enorme afmetingen aanneemt, wat naar mijn gevoelen de oorzaak is, dat de meeste dieren op die dag sterven, voordat het mogelijk is geweest om voldoende te reageren op de secundaire bacteriële infectie.

In een iets vertraagd tempo heeft deze oedeemvorming ook plaats gevonden bij de muizen besmet met Stam V. 1949, waardoor bij een enkel dier purulent bronchopneumonische hardjes en zelfs een enkel abscesje in de longen is gezien.

Deze waarneming strookt met de bevindingen bij de reeds eerder vermelde proeven van STRAUB (1940) en TAYLOR (1941). De dieren die het laatst gedood zijn en die op de een of andere onver-

klaarbare reden vermoedelijk geen micrococcussuspensie in de long hebben gekregen, reageren, zoals uit de longbeelden blijkt, alsof zij alléén een infectie met influenzavirus hebben ondergaan.

Tenslotte nog de opmerking, dat bij een aantal muizen besmet met de W.S.-stam, in de longen gedeelten zijn gezien, waar in de alveolaire holten, die geheel opgevuld zijn met eiwitneerslagen uit oedeemvocht, grote ophopingen van *Micrococci* zijn waargenomen. In de septa van deze alveoli, noch in het omgevende longparenchym is maar enige cellige reactie op de aanwezigheid van die cocci gezien. Deze alveoli, opgevuld met gecoaguleerd oedeemvocht en *Micrococci*, en die in longweefsel liggen dat overigens geen enkele reactie toont, zijn ook beschreven bij personen die tijdens een influenzaepidemie acuut aan „influenza” sterven (o.a. STOKES en WOLMAN, 1940).

MUIZEN, 3 DAGEN NA DE BESMETTING MET INFLUENZAVIRUS (STAM V. 1949)
INTRANASAAL MET MICROCOCCI GEÏNFECTEERD

Uit tabel 9 blijkt, dat reeds de tweede dag na de indruppeling met een suspensie van een 18 uur oude micrococccuscultuur op bloedagar, vele muizen spontaan sterven. Evenals in de vorige tabellen is in deze tabel het verloop van de sterfte weergegeven, evenals de resultaten van het bacteriologisch onderzoek van de longen op *Micrococci* en de macroscopisch waargenomen longveranderingen.

Histologisch onderzoek

Muizen, na 4 dagen gedood.

Trachea: Het epitheel toont een vrijwel normaal beeld, slechts op een enkele plek ziet het lumendeel er wat gezwollen uit. Ter hoogte van de bifurcatie is het in geringe mate geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten. In het lumen bevinden zich een geringe hoeveelheid purulent exsudaat en enkele necrotische epitheelcellen.

De membrana propria, de submucosa en het peritracheale bindweefsel tonen geen histologische afwijkingen.

Bronchi: Iets distaal van de bifurcatie zijn de bronchi bekleed met meerlagig niet verhoornd plat epitheel, waarvan de kernen licht gekleurd zijn en een blazig aspect hebben. Spoedig gaat dit epitheel in éénlagig min of meer plat tot cubisch epitheel over dat vrijwel direct eindigt ter hoogte van de intreeplaats van de bronchus in de long. Voor het overige ziet men op de basaalmembraan resten van necrotisch epitheel. In het lumen bevinden zich necrotische epitheelcellen ver-

mengd met veel purulent exsudaat. Het interstitium rondom deze grotere bronchi is vrij dicht geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten.

Het epitheel van de kleinere bronchi en bronchioli is necrotisch, doch men treft zelden in het lumen, behalve gedesequameerde epitheelcellen, purulent exsudaat aan. Hier ziet men in het peribronchiale bindweefsel slechts enkele polymorphkernige leucocyten en lymphocyten.

TABEL 9

Muis nr.	Aantal dagen na de besmetting met influenzavirus gedood of gestorven							B.O.	Macroscopische longafwijkingen
	1	2	3	4	5	6	7		
1	.	.	.	A				+	} Uitgaande van de hili grijsrode pneumonische haarden, die langs de randen meer donkerrood van kleur zijn. De longranden zelf zijn emphysemateus.
2	.	.	.	A				+	
3	.	.	.	A				—	
4	†			+	} De longen zijn vrijwel geheel pneumonisch veranderd. De kleur ervan is grauw tot paarsrood. Langs de randen een smalle emphysemateuze zône. De longen zijn vochtig, glanzend.
5	†			+	
6	†			—	
7	A		—	} Idem.
8	†		+	
9	†		—	
10	†	+	} De longen van deze muizen zijn vrijwel geheel pneumonisch. Bij de hili van een aantal kwabben zijn geelrode hardjes waargenomen. Voor het overige zijn de kwabben grauwrood, vochtig glanzend, bont van aspect. Hier en daar langs de longranden ziet men een smalle emphysemateuze zône.
11	†	—	
12	†	—	
13	†	+	
14	†	+	
15	†	—	
16	†	+	
17	†	—	
18	†	—	
19	†	+	
20	†	+	
21	†	+	

A = gedood

† = gestorven

+ = *Micrococci* uit de longen geïsoleerd

— = geen *Micrococci* uit de longen geïsoleerd

Long: In een aantal kwabben ziet men, grotendeels gelocaliseerd in de hilusgedeelten, kleine purulent bronchopneumonische haarden. Slechts zelden treft men in de meer perifere longgedeelten een purulent bronchopneumonisch haardje aan.

Direct rondom deze haardjes is het longweefsel min of meer atelectatisch, diffuus geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten en hyperaemisch. Voor het overige zijn de alveolaire holten meestal ledig, in een enkele ziet men wat eiwitneerslag uit oedeemvocht. Langs de longranden zijn zij veelal emphysemateus verwijd. De perifere longgedeelten tonen hyperaemie en men ziet een geringe toename van het aantal lymphocyten.

Muizen, na 5 dagen gestorven.

Trachea: Bij deze muizen geldt hetzelfde als bij de vorige groep dieren. Alleen is bij deze dieren hyperaemie van de submucosa en het peritracheale bindweefsel waargenomen.

Bronchi: Ook in het begindeel van de grote bronchi van deze dieren is regeneratie van het epitheel gezien. Voor het overige is het bekleedende epitheel van de gehele bronchiaalboom nog necrotisch en ligt nog op de basaalmembraan of los in het lumen. Ook hier ziet men vrijwel alleen in de grotere bronchi purulent exsudaat.

Long: Men ziet purulent bronchopneumonische haardjes grotendeels tot de hili van de kwabben beperkt. In een aantal alveoli zijn in het purulente exsudaat ophopingen van *Micrococci* gezien. Abscesjes zijn niet waargenomen.

Direct rondom deze haarden is het longweefsel atelectatisch, dicht geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten en hyperaemisch. Meer naar de periferie is de long diffuus geïnfiltreerd met polymorphkernigen en enkele lymphocyten, hyperaemisch en oedemateus. In enkele alveoli ziet men eiwitneerslagen uit oedeemvocht. Bij een van de muizenlongen zijn in een aantal alveolaire holten perifeer van de atelectatische plekken grote mononucleaire cellen (macrophagen) waargenomen, waarvan het protoplasma vaak talrijke *Micrococci* bevat.

Peribronchiaal zowel als perivascuair ziet men een infiltratie door polymorphkernige leucocyten. Een aantal lymphanen is overvuld.

Muizen, na 6 dagen gedood of gestorven.

Trachea: Zie vorige groep.

Bronchi: Bij al deze muizen is regeneratie van het bekleedende epitheel van de grote bronchi waargenomen. In het begin ziet men méérslagig, niet verhoornd, plat epitheel met donkergekleurd protoplasma en

kernen, dat distaal uitloopt in éénlagig plat epitheel, met meestal lichtgekleurde kernen, die een blazig aspect hebben. Enkele mitosen zijn in dit epitheel gezien. Voor het overige ontbreekt bij de kleinere bronchi en bronchioli nog een epitheelbekleding.

In het lumen van de grote bronchi ziet men wisselende hoeveelheden purulent exsudaat, vermengd met necrotische epitheelcellen. In de kleine bronchi en bronchioli bevinden zich vrijwel alleen groepjes necrotische epitheelcellen. Peribronchiaal bestaat een infiltratie door polymorphkernige leucocyten, die in perifere richting in dichtheid afneemt. Dit geldt ook voor de perivasculaire infiltratie.

Long: Wederom treft men vooral in de hilusgedeelten purulent bronchopneumonische plekken aan, circumbronchiaal gelegen, en omgeven door atelectatische gedeelten. Het overige longweefsel is hyperaemisch, iets oedemateus en diffuus geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten en enkele mononucleaire cellen.

In een aantal alveolaire holten in en direct rondom de atelectatische zône ziet men vaak macrophagen waarvan het protoplasma soms vol cocci ligt (photo 11). Ook een aantal alveolaire ruimten bevat eiwitneerslagen uit oedeemvocht. De meeste perifeer gelegen alveoli zijn emphysemateus verwijd. Een aantal lymfhebanen is overvuld.

Muizen, na 7 dagen gestorven.

Trachea: Men ziet bij vele dieren plekken waar het epitheel meerrijig is. De lumenzijde van het protoplasma heeft een gezwollen aspect en puilt in het lumen uit. Bij een aantal muizen ziet men een plaatselijke infiltratie door polymorphkernige leucocyten.

In het lumen zijn zeer wisselende hoeveelheden purulent exsudaat waargenomen. Vrijwel parallel daarmee loopt de graad van infiltratie door polymorphkernigen in de basaalmembraan en de submucosa. Veelal is er enige hyperaemie.

Bronchi: Bij alle muizen ziet men een beginnende regeneratie van het bekledende epitheel van de bronchiaalboom. Deze regeneratie zet zich in de verschillende longkwabben meer of minder ver in de bronchi voort. Bij een aantal kwabben is het tot in de kleinere bronchi voortgeschreden.

Het begint in de grote bronchi wederom met metaplastisch veranderd meerlagig, niet verhoord plat epitheel en loopt in distale richting uit in éénlagig plat tot cubisch epitheel, waarin enkele mitosen, om ergens te eindigen, terwijl perifeer daarvan resten van necrotische epitheelcellen op de basaalmembraan liggen. Het regenerereerde epitheel is op sommige plaatsen tot 8 cellagen dik.

De kernen van deze epitheelcellen zijn vaak rond en lichtgekleurd.

In het lumen van de bronchi treft men soms wel, soms geen purulent exsudaat aan. Of er nu wel of geen exsudaat in het lumen is, dit heeft geen invloed op de regeneratie van het epitheel. Men ziet dus zowel bronchi zonder epitheelbekleding, als met nieuwgevormd epitheel, waar in het lumen purulent exsudaat wordt aangetroffen.

Ook is opgemerkt, dat in de bronchi bekleed met geregenereerd epitheel, die tevens purulent exsudaat in het lumen hebben, het epitheel vaak meer cilindrisch is geworden en deze cellen een wat gezwollen aspect hebben. Dus ondanks de aanwezigheid van purulent exsudaat in de bronchi vindt de regeneratie van het bronchiale epitheel gewoon voortgang.

Het epitheel (indien aanwezig), de basaalmembraan en de submucosa van die bronchi, waar men in het lumen purulent exsudaat aantreft, is geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten. In de kleinere bronchi en bronchioli ziet men vaak in het lumen nog hoopjes of proppen gedesquameerde, necrotische epitheelcellen.

De peribronchiale infiltratie kan plaatselijk sterk van karakter en in graad wisselen, soms domineren de polymorphkernige leucocyten, elders treft men wat talrijker mononucleaire cellen aan. Bij de hilusgedeelten van de kwabben is het perivasculaire interstitium dicht geïnfiltreerd met polymorphkernigen, naar de periferie is deze minder dicht en men treft er daar dan wel mononucleairen tussen aan.

Long: De longveranderingen bij de diverse muizen en in de verschillende longkwabben geven nogal uiteenlopende beelden te zien. Over het algemeen zijn de verschillen meer kwantitatief dan kwalitatief.

Een aantal kwabben toont een verhoogde infiltratie door polymorphkernige leucocyten, vooral in de hilusgedeelten, doch een purulent ontstekingsproces in bronchi of alveoli ontbreekt. In deze kwabben treft men atelectatische plekken aan. De septa zijn hyperaemisch, dicht en diffuus geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten. Rondom deze plekken ziet men enkele alveoli waarin soms een enkele grote mononucleaire cel, maar vaak eiwitneerslagen uit oedeemvocht. Het longweefsel is hier hyperaemisch, matig en diffuus geïnfiltreerd met polymorphkernige en mononucleaire cellen. Langs de longranden ziet men weer het gebruikelijke emphyseem.

In andere kwabben daarentegen ziet men in het hilusdeel een purulente bronchopneumonie. Deze haarden zijn omgeven door een hyperaemische atelectatische zône, dicht geïnfiltreerd met polymorphkernige cellen. Meer naar de periferie ziet men alveolaire holten veelal

opgevuld met gecoaguleerd oedeemvocht en een enkele macrophaag, waar in het protoplasma cocci zijn gezien. Ook hier is het longweefsel geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten. De alveoli langs de rand zijn emphysemateus verwijd.

In een enkel geval zijn abscessen waargenomen, vooral in het hilusdeel van de kwabben. In het purulente exsudaat van deze abscessen ziet men ophopingen van *Micrococci*. Rondom deze abscessen liggen vaak pneumonische haarden, wederom omgeven door een atelectatische zône.

In de purulent bronchopneumonische haarden ziet men een enkele maal een bronchus bekleed met één- tot tweelagig plat epitheel, waarvan de kernen lichtgekleurd en blazig zijn. In het lumen van de bronchus bevindt zich purulent exsudaat. Men ziet dan dus regeneratie van het bekleedende epitheel van zulk een bronchus ondanks de purulente ontsteking. In het exsudaat van deze bronchi zijn weleens verspreid liggende cocci waargenomen.

Voor het overige zijn deze kwabben diffuus geïnfiltreerd met polymorphkernige leucocyten en enkele mononucleaire cellen. De alveolaire ruimten bevatten eiwitneerslagen uit oedeemvocht en soms enkele grote mononucleaire cellen. Vele lymphebanen zijn overvuld. Langs de longranden bevinden zich enkele emphysemateus verwijde alveoli.

MUIZENBESMETTINGSPROEF MET DE W.S.-STAM, 3 DAGEN DAARNA GEVOLGD
DOOR DE INFECTIE MET EEN MICROCOCCUSCULTUUR-SUSPENSIE

In tabel 10 is weergegeven het verloop van de sterfte, de uitkomsten van het bacteriologisch longonderzoek en de macroscopisch zichtbare longveranderingen.

Muizen, na 4 dagen gedood of gestorven.

Trachea: Het epitheel heeft aan de lumenzijde een enigszins gezwollen aspect terwijl het in de distale gedeelten, vanwege een verhoogde infiltratie door polymorphkernige leucocyten, een wat onregelmatig beeld geeft. In het lumen ziet men hier en daar enig slijm, gedesquameerde necrotische epitheelcellen en een kleine hoeveelheid purulent exsudaat. In de membrana propria is ook enige toename van het aantal polymorphkernigen gezien.

Bronchi: Van vele bronchi is het epitheel intact, slechts op enkele plaatsen ontbreekt de normale epitheelbekleding, terwijl hier en daar nog enige resten van necrotische cellen op de basaalmembraan liggen.

TABEL 10

Muis nr.	Aantal dagen na de besmetting met influenzavirus gedood of gestorven										B.O.	Macroscopische longafwijkingen	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1	.	.	.	A								+	} Uitgaand van de hili van de kwabben, grijsrode pneumonische haarden, die aan de rand meer homogeen donkerrood zijn. De longen zijn vochtig-glanzend. Langs de longranden emphyseem.
2	.	.	.	†								+	
3	†							+	} In de nabijheid van hili grauwrøde, vlekkelijke pneumonische haarden, meer naar de periferie zijn zij donkerrood. De longen zijn vochtig-glanzend. Bij de longranden een smalle emphysemateuze zône.
4	†							—	
5	†							+	
6	†							+	
7	†							+	} De longen zijn vrijwel geheel pneumonisch. Zij hebben een bont, grauwood aspect en zijn vochtig-glanzend. Langs de longranden een smal emphysemateus gedeelte.
8	†							+	
9	†						+	
10	†						—	
11	†						—	
12	†						+	} Longen diffuus grijs-donkerrood, vochtig-glanzend. Niet samengevallen.
13	†						—	
14	†						+	
15	:	†					+	} Longen homogeen donkerrood pneumonisch. Langs de randen enig emphyseem.
16	†				+	
17	A			—	} Rondom de hili grauwrøde, vlekkelijke pneumonische haarden met een onregelmatig oppervlak. Slecht samengevallen longen. Wat onregelmatig uitgebloed.
18	A		—	
19	.	.	†										} Tijdens de tweede indruppeling gestorven.
20	.	.	†										
21	.	.	†										

A = gedood

† = gestorven

— = géén *Micrococci* uit de longen geïsoleerd+ = *Micrococci* uit de longen geïsoleerd

In het lumen bevinden zich wat slijm, soms enkele necrotische epitheelcellen en wisselende hoeveelheden purulent exsudaat, waarin op verscheiden plaatsen groepjes cocci zijn gezien.

Er is een beginnende peribronchiale en perivasculaire infiltratie (emigratie) van polymorphkernige leucocyten. Voorts is er enige overvulling van de lymphanen waar te nemen.

Long: De bij de hilus gelegen gedeelten zijn in meestal wisselende graad atelectatisch en diffuus geïnfiltreerd met polymorphkernige cellen. Ook hier ziet men wel kleine purulent bronchopneumonische haardjes, waarbij in een aantal alveolaire holten cocci in het purulente exsudaat zijn waargenomen. De longen zijn overigens hyperaemisch en oedemateus en matig geïnfiltreerd met polymorphkernigen en lymphocyten. In enkele alveolaire holten bevindt zich gecoaguleerd oedeemvocht. Langs de longranden zijn de alveoli emphysemateus verwijd.

Muizen, na 5 dagen gestorven.

Trachea: Het epitheel is intact en maakt plaatselijk een soms wat gezwollen indruk. In het distale gedeelte en bij de bifurcatie heeft het vaak een rommelig aspect wegens een infiltratie door polymorphkernige leucocyten. In het lumen bevindt zich slijm, hier en daar vermengd met gedesquameerde, necrotische epitheelcellen en/of purulent exsudaat. Een enkele maal wordt in de membrana propria en de submucosa enige infiltratie door polymorphkernige cellen waargenomen.

Bronchi: Meestal begint de epitheelnecrose ter hoogte van de intreeplaats van de bronchus in de longkwab. Deze necrose kan betrekkelijk plaatselijk zijn, maar kan zich ook tot in de kleine bronchi en bronchioli hebben voortgezet.

Alle tussenstadia zowel per long als per longkwab zijn uiteraard ook waargenomen. Bij twee stel longen is reeds een beginnende regeneratie van het epitheel gezien, juist distaal van de bifurcatie. De nieuwgevormde epitheelcellen zijn plat tot cubisch, hebben donkergekleurd protoplasma en een lichtgekleurde, blazige kern.

De inhoud van het lumen van de bronchi wordt vrijwel weer bepaald door de veranderingen van het omgevende longweefsel. Deze kan bestaan uit gedesquameerde, necrotische epitheelcellen van de bronchi, celproppen daarvan, slijm, of gecoaguleerd oedeemvocht en purulent exsudaat, of een bonte mengeling van deze. Een enkele maal zijn groepjes cocci waargenomen.

Op dezelfde manier is het karakter en de graad van de peribron-

chiale en perivasculaire infiltratie zeer wisselend. Bij de hili ziet men een vrij dichte infiltratie door polymorphkernige leucocyten, in de perifere gedeelten meestal slechts enkele lymphocyten.

Long: In de hilusgedeelten van vele kwabben ziet men purulent bronchopneumonische haarden. In de circumbronchiaal gelegen alveoli, vol purulent exsudaat, zijn op verschillende plaatsen groepjes *Micrococci* waargenomen. In een kwab heeft zich een abscesje gevormd, met in de abscesholte ophopingen van cocci. Rondom deze purulente bronchopneumonische haarden ziet men een min of meer brede zône van atelectatisch longweefsel. Deze laag is vrij dicht geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten en hij is hyperaemisch. Naar de periferie wordt het longweefsel oedemateus, hyperaemisch en is in mindere mate geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten, men ziet hier echter meer mononucleairen. In de alveolaire holten treft men daar vaak eiwitneerslagen uit oedeemvocht aan en in een aantal een of enkele grote mononucleaire cellen met hier en daar cocci in het protoplasma. Er zijn ook (vaak groepen) alveoli gezien vol cocci, waarvan het omgevende longweefsel (septa) geen enkele cellige reactie toont.

Langs de longranden wat emphysemateus verwijde alveoli. Vrij vele lymphebanen zijn overvuld.

Muizen, na 6 dagen gestorven.

Trachea: Zie vorige groep.

Bronchi: Evenals bij de vorige groep is bij een aantal muizen in de grote bronchi regeneratie van het epitheel waargenomen, waarbij in de centrale gedeelten het epitheel vaak metaplastisch is veranderd in meerlagig plat epitheel, dat in perifere richting overgaat in éénlagig min of meer plat tot cubisch epitheel.

Voor het overige is het epitheel in vele bronchi en bronchioli necrotisch en ligt nog op de basaalmembraan of is afgestoten. In het lumen ziet men pleksgewijs uiteenlopende soorten van cellen of exsudatie. In de centraal gelegen bronchi overheerst het purulente exsudaat in wisselende graad vermengd met necrotische epitheelcellen. Meer naar de periferie neemt de hoeveelheid exsudaat meestal af. Men vindt dan naar verhouding meer gedesquameerde necrotische epitheelcellen, en plaatselijk een weinig gecoaguleerd oedeemvocht.

In het purulente exsudaat zijn hier en daar ophopingen van *Micrococci* gezien.

Long: Vooral in de hilusgedeelten van de kwabben zijn naast purulent bronchopneumonische haarden vrij veel abscessen waar-

genomen. In de abscesinhoud zijn, evenals in vele alveolaire holten, groepjes cocci gezien. Rondom deze abscessen en bronchopneumonische haarden is het longweefsel atelectatisch, de alveolaire septa zijn dicht geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten. Meer naar de periferie is de long hyperaemisch, oedemateus en men ziet enkele emphysemateuze gedeelten. In verhouding tot de vorige groep dieren ziet men minder alveoli opgevuld met eiwitneerslagen uit oedeemvocht, er zijn bij deze longen meer abscessen gevormd. Het perifere longweefsel is ook vrij dicht geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten, hoewel op verschillende plaatsen ook mononucleaire cellen zijn gezien. In vele alveolaire holten zijn grote mononucleaire cellen gezien, een enkele maal met cocci in het protoplasma. Een aantal lymphebanen zijn overvuld.

Muis, na 7 dagen gestorven.

Trachea: Het epitheel is op verschillende plaatsen meerrijig cilinderepitheel. In het lumen ziet men vrij veel gecoaguleerd oedeemvocht en slechts kleine hoeveelheden purulent exsudaat.

Bronchi: Van een aantal bronchi is het epitheel necrotisch, echter in vele bronchi is bij deze muis, veelal onder het epitheel met een normaal aspect, gecoaguleerd oedeemvocht waargenomen, waardoor dit epitheel vaak geslingerd in het lumen ligt (Photo 12).

Long: De meeste kwabben zijn diffuus geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten, doch een bronchopneumonie is nergens waargenomen. Bij de hili is meestal atelectatisch longweefsel, voor het overige ziet men een hevig longoedeem. Vrijwel alle alveolaire holten zijn opgevuld met eiwitneerslagen uit oedeemvocht, de alveolaire septa zijn oedemateus verbreed, er is hyperaemie en de lymphebanen zijn overvuld.

Muis, na 8 dagen gestorven.

Trachea: Het epitheel toont een vrij regelmatig beeld, slechts in het distale gedeelte heeft het lumendeel een wat gezwollen aspect. In het lumen zelf bevindt zich wat gecoaguleerd oedeemvocht met groepjes necrotische epitheelcellen. In de submucosa is enige overvulling van de bloedvaten gezien.

Bronchi: Vrijwel direct bij de intreepplaats van de grote bronchi in de longen ziet men de bronchi bekleed met geregenereerd epitheel. Dit nieuwgevormde epitheel is metaplastisch veranderd in meerlagig plaveiselepitheel dat in distale richting overgaat in éénlagig cubisch

epitheel om ergens te eindigen als éénlagig plat epitheel. Dit nieuwgevormde epitheel toont meestal een donkergekleurd protoplasma met lichtgekleurde blazige kernen. Men ziet hier vrij veel mitosen. In de perifeer gelegen bronchi en bronchioli ziet men nog necrotische epitheelcellen op de basaalmembraan of in het lumen.

Peribronchiaal en perivascuair is in de perifere longgedeelten enige infiltratie door uitsluitend mononucleaire cellen, slechts bij de hili ziet men een dichte infiltratie door polymorphkernige leucocyten.

Long: Bij de hili van de kwabben zijn de longen hyperaemisch, oedemateus, atelectatisch. In de alveolaire septa ziet men hier een infiltratie door polymorphkernige leucocyten, doch geen exsudaat in de alveolaire holten. De perifere longgedeelten zijn in geringe mate geïnfiltréerd met mononucleaire cellen. In een aantal alveolaire holten ziet men grote mononucleaire cellen.

Langs de longranden bevinden zich emphysemateus verwijde alveoli.

Muis, na 9 dagen gestorven.

Trachea: Hier en daar heeft het epitheel aan de lumenzijde een wat gezwollen aspect. In het lumen ziet men een weinig purulent exsudaat.

Bronchi: Nergens is necrose van het bekleedende epitheel van de bronchiaalboom waargenomen. Wel ziet men bronchi waarvan het epitheel aan de lumenzijde een gezwollen aspect heeft. In het lumen van deze bronchi bevindt zich purulent exsudaat.

Long: In een aantal kwabben ziet men in de hilusgedeelten purulent bronchopneumonische haardjes. Rondom deze haardjes is het longweefsel hyperaemisch, atelectatisch en diffuus geïnfiltréerd met polymorphkernige leucocyten. De perifere longgedeelten tonen hyperaemie en een diffuse infiltratie der septa door polymorphkernige leucocyten.

Het peribronchiale en perivasculaire bindweefsel is dicht geïnfiltréerd met polymorphkernige leucocyten. In de overige kwabben ziet men het microscopische beeld van een purulente bronchitis en peribronchitis, zonder purulente pneumonie. In geen enkele kwab zijn abscessen waargenomen.

Muis, na 10 dagen gedood.

In *trachea* en *bronchi* zijn geen afwijkingen waargenomen.

Long: Deze zijn diffuus en licht geïnfiltréerd met polymorphkernige en mononucleaire cellen. Hier en daar ziet men emphysemateuze gedeelten.

BESPREKING (van de beide besmettingsproeven bij muizen die 72 uur na de indruppeling met influenzavirus zijn besmet met *Micrococci*). Evenals bij de vorige groepen muizen is vermeld, is er geen wezenlijk verschil in het verloop van het necrotiserend proces van het epitheel van de bronchiaalboom bij dieren besmet met de V-stam of met de W.S.-stam. Na de vierde tot vijfde dag zijn de eerste regeneratieverschijnselen, uitgaande van het epitheel van de grote bronchi, in de longbeelden waargenomen.

Als vergelijkingsmateriaal bij deze proeven kunnen slechts dienen die muizen, welke tussen de 4de en de 7de dag na de infectie met het influenzavirus zijn gedood of gestorven. De overige dieren zijn, zoals uit het histologisch onderzoek van de longen blijkt, slechts voldoende blootgesteld aan een infectie met één van de agentia (alléén virus of alléén *Micrococci*).

Het bacteriologisch onderzoek van de longen heeft bij beide groepen vrijwel overeenkomstige resultaten afgeworpen. In ieder geval is het aantal malen, dat *Micrococci* zijn geïsoleerd, in vergelijking tot de vorige groepen dieren, het grootst. Mogelijk is het praedisponerende moment voor deze secundaire bacteriën het meest gunstig geweest 3 dagen na de virusinfectie. Dat deze bacteriologische resultaten de histologische bevindingen in grote mate dekken blijkt uit de aanwezigheid van *Micrococci* in het purulente exsudaat van bronchi, alveoli en ook in abscesinhoud, van de beschreven longbeelden.

Een treffend verschil bij deze beide groepen dieren en de vorige groepen is het merendeels betrekkelijk geringe longoedeem. Vermoedelijk is hieraan toe te schrijven dat in de longen bij deze dieren abscesjes vol cocci zijn waargenomen. Er is als het ware gelegenheid toe geweest, dat deze abscesjes konden worden gevormd. Om deze reden is bij de dieren besmet met het influenzavirus (W.S.-stam) nog een groep toegevoegd, met het doel na te gaan of de vorming van abscessen bij die groep nog meer algemeen is.

Bij een enkele long zijn beelden gezien waar in de alveolaire holten gecoaguleerd oedeemvocht met ophopingen van micrococci voorkomen, waarbij het omgevende longweefsel geen cellige reactie toont.

Tenslotte zij opgemerkt, dat de regeneratie van het bronchiaal-epitheel zich niet stoort aan de aanwezigheid van purulent exsudaat al of niet vermengd met *Micrococci*, in het lumen van bronchi of bronchioli.

MUIZENBESMETTINGSPROEF MET INFLUENZAVIRUS (W.S.-STAM), 4 DAGEN
DAARNA GEVOLGD DOOR DE INDRUPPELING MET EEN SUSPENSIE VAN EEN
24 UUR OUDE MICROCOCCUSCULTUUR OP BLOEDAGAR

De aanleiding tot deze proef vindt men vermeld in de bespreking van de vorige. In tabel 11 is ondergebracht het verloop van de sterfte van de muizen, de resultaten van het bacteriologisch longonderzoek, alsmede een opsomming van de waargenomen macroscopische longveranderingen.

Histologisch onderzoek

Muizen, na 5 dagen gestorven.

Trachea: Het epitheel heeft een vrij normaal voorkomen. Op enkele plaatsen ziet men een geringe infiltratie door polymorphkernige leucocyten, zowel tussen de epitheelcellen, als in de membrana propria en de submucosa. In het lumen bevinden zich enkele groepjes necrotische epitheelcellen, soms vermengd met een weinig purulent exsudaat.

Bronchi: Er zijn nogal wat verschillen waargenomen in de veranderingen bij de longkwabben onderling. In de meeste bronchi ziet men necrotisch epitheel, beginnend ter hoogte van de intreeplaats van de bronchus in de longkwab, welk necrotiserend proces zich kan hebben voortgezet tot in de bronchioli. Er zijn echter bronchi waargenomen waar het bekleedende epitheel geheel intact is en in een enkele van deze ziet men subepitheliaal oedeem.

Ook in het lumen van de bronchi treft men uiteenlopende veranderingen aan. In een aantal is geen inhoud waargenomen, andere zijn deels of geheel opgevuld met gedesquameerde, necrotische epitheelcellen, waartussen zich een wisselende hoeveelheid purulent exsudaat kan bevinden. Op de basaalmembraan van de kleinere bronchi en bronchioli vindt men vaak resten van epitheelcellen, in het lumen soms proppen necrotische cellen.

In het lumen van een aantal kleinere bronchi treft men purulent exsudaat aan. Deze bronchi liggen dan meestal in of leiden naar een purulent pneumonisch haardje. In het lumen van enkele bronchi, met een normale epitheelbekleding, bevindt zich purulent exsudaat.

Er is, vooral bij de hili, een geringe peribronchiale infiltratie door polymorphkernige leucocyten en enkele lymphocyten. Naar de periferie ziet men over het algemeen alleen enkele mononucleaire cellen. Rondom de bloedvaten wordt oedeem aangetroffen, alsmede een

plaatselijk wisselende infiltratie door overwegend polymorphkernige leucocyten.

In een enkele grotere bronchus is regeneratie van het epitheel waargenomen. Men ziet een enkel laagje cubische of platte cellen op de basaalmembraan, cellen met een donkergekleurd protoplasma en blazige, lichtgekleurde kernen. Deze regeneratie is nog van beperkte omvang.

TABEL II

Muis nr.	Aantal dagen na de besmetting met influenzavirus gedood of gestorven										B.O.	Macroscopische longafwijkingen	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1	†							—	} Uitgaand van de hili grauw-rode vlekkelig pneumonische haarden die naar de periferie meer donkerrood en homogeen van aspect zijn. Langs de longranden emphyseem.
2	†							+	
3	†							—	
4	†						+	} De longen zijn vrijwel geheel pneumonisch veranderd. Rondom de hili zijn de pneumonische veranderingen grauw-rood en bont van aspect, terwijl naar de periferie vaak meer homogeen kersrode gedeelten zijn waargenomen. De longen zijn vochtig, glanzend. De longranden zijn min of meer emphysemateus.
5	†						+	
6	†						—	
7	†						—	
8	†						+	
9	†						+	
10	†						+	
11	†						+	
12	†						+	
13	†						+	
14	†						+	
15	†						+	
16	†					—	} De longen hebben een gemarmerd aspect, zijn niet samengevallen en zijn vochtig, glanzend.
17	†				—	
18	A		—	} Longen wat hyperaemisch, met een enkel atelectatisch plekje.
19	A	—	
20	.	.	.	†								—	} Gestorven tijdens de tweede indruppeling.
21	.	.	.	†								—	

A = gedood

† = gestorven

— = géén *Micrococci* uit de longen geïsoleerd

+ = *Micrococci* uit de longen geïsoleerd

Long: De longen zijn hyperaemisch, oedemateus en langs de longranden emphysemateus.

Bij de hili bevinden zich over het algemeen kleine purulent bronchopneumonische hardjes, met een dichte infiltratie door polymorphkernige leucocyten in het longweefsel ter plaatse en purulent exsudaat in de alveolaire holten. Rondom deze hardjes is het longweefsel veelal atelectatisch en de septa zijn diffuus geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten.

Naar de periferie van de kwabben ziet men een aantal alveolaire holten opgevuld met gecoaguleerd oedeemvocht en hier en daar een of enkele grote mononucleaire cellen. Het longweefsel is hier in geringe mate geïnfilteerd met mononucleaire cellen. In een aantal kwabben ontbreken de purulent pneumonische afwijkingen en ziet men alleen de laatstbeschreven veranderingen.

Muizen, na 6 dagen gestorven.

Trachea: Het epitheel heeft bij enkele dieren aan de lumenzijde een wat gezwollen aspect, terwijl het plaatselijk geïnfilteerd is met polymorphkernige leucocyten. Eenzelfde infiltratie treft men aan in de membrana propria en de submucosa.

In het lumen bevindt zich soms gecoaguleerd oedeemvocht, soms vermengd met hetzij necrotische epitheelcellen, hetzij purulent exsudaat of beide.

Bronchi: Bij een aantal kwabben ziet men necrose van het bekleedende epitheel, beginnend bij de grote bronchi en eindigend in de bronchioli. In andere kwabben zijn daarentegen bronchi en bronchioli gezien met een volkomen intact epitheel of waarvan het epitheel slechts over gedeelten necrotisch is.

In een aantal grote bronchi is regeneratie van het epitheel over kleine gedeelten waargenomen. Men ziet hier de membrana propria bekleed met metaplastisch meerlagig niet verhoornd plaveiselepitheel, dat in distale richting overgaat in éénlagig cubisch of éénlagig plat epitheel, om ergens te eindigen in een „naakte” bronchus. Het protoplasma van deze cellen is meestal donker van kleur, de kernen zijn meestal rond en licht van kleur. Men ziet soms een enkele mitose.

Bij vele bronchi met een intacte epitheelbekleding ziet men subepitheliaal oedeem.

In het lumen van de bronchi en bronchioli treft men een zeer uiteenlopende inhoud aan. Soms ziet men alleen gecoaguleerd oedeemvocht, vaak ziet men groepjes of propfen gedesquameerde necrotische epitheelcellen, al of niet vermengd met purulent exsudaat, soms echter

alleen dit exsudaat. De inhoud wordt vrijwel beheerst door het karakter van het ontstekingsproces van het omgevende longweefsel.

Het peribronchiale bindweefsel is meestal oedemateus verbreed. Bij de hili van de kwabben is het dicht geïnfiltréerd met polymorphkernige leucocyten, naar de periferie neemt het aantal polymorphkernigen meestal af en men ziet een geleidelijke overgang tot een enkel laagje lymphocyten. Bovenstaande geldt alleen voor zover er in de kwab een purulente ontsteking is waargenomen.

Perivasculair is het oedeem meestal uitgebreider en de infiltratie door polymorphkernigen dichter dan peribronchiaal.

Vele lymphanen zijn overvuld.

Long: De longen tonen veelal een flinke hyperaemie en zijn over het algemeen hevig oedemateus.

Bij de hili zijn de longkwabben meestal bronchopneumonisch veranderd. Bij een aantal ziet men in het hilusdeel echter alleen een dichte infiltratie door polymorphkernige leucocyten in het longweefsel (septa) zonder exsudatie. Ter plaatse is het longweefsel atelectatisch, naar de periferie ziet men vele alveolaire holten opgevuld met ge-coaguleerd oedeemvocht, een of enkele grote mononucleaire cellen, en daar is het longweefsel in geringe graad geïnfiltréerd met mononucleairen. Langs de longranden zijn emphysemateus verwijde alveoli waargenomen.

In de overige kwabben ziet men min of meer uitgebreide purulent bronchopneumonische haardjes, bij één is een klein abscesje waargenomen. Naar de periferie van deze kwabben treft men overigens vrijwel dezelfde veranderingen aan als hiervoor is beschreven.

Muis, na 7 dagen gestorven.

Trachea: Het epitheel toont aan de lumenzijde een wat gezwollen aspect doch overigens zijn geen afwijkingen aangetroffen. In het lumen bevindt zich enig ge-coaguleerd oedeemvocht.

Bronchi: Bij de bifurcatie is het epitheel meerrijg. In het lumen vindt men ge-coaguleerd oedeemvocht met enkele necrotische epitheelcellen. Peribronchiaal ziet men een uitgebreid oedeem, een geringe infiltratie door polymorphkernige leucocyten en enkele lymphocyten.

Een aantal longkwabben toont bronchi met intact epitheel, in andere is het necrotisch, soms gedesquameerd en ligt in het lumen als een „pseudomembraan” of als celprop. In een aantal bronchi met intacte epitheelcellen ziet men een uitgebreid subepitheliaal oedeem. Een weinig purulent exsudaat is hier en daar in het lumen waargenomen.

Long: Deze zijn hyperaemisch, hevig oedemateus, bij de hili groten-deels atelectatisch en langs de longranden in geringe mate emphysemateus.

In een enkele kwab zijn locale purulente ontstekingshaardjes waargenomen. Men ziet enkele groepen alveoli opgevuld met purulent exsudaat. De septa zijn daar dicht geïnfilteerd met polymorphkernige leucocyten, men ziet tevens hyperaemie en oedeem. Rondom deze haarden bevinden zich verspreid, macrophagen in de alveolaire holten.

Voor het overige zijn de alveolaire holten vrijwel opgevuld met geocoaguleerd oedeemvocht. In de alveolaire septa ziet men enkele verspreide mononucleaire cellen.

De lymphebanen zijn wat overvuld.

Muis, na 8 dagen gestorven.

Trachea, bronchi en *long* tonen vrijwel dezelfde beelden als bij de vorige muis zijn beschreven. Ook hier ziet men in een aantal kwabben plaatselijke necrose van het epitheel in de kleinere bronchi en bronchioli. Overigens ziet men veel subepitheliaal oedeem.

In de hili van de kwabben ziet men hier en daar enige infiltratie door polymorphkernigen in de septa, het peribronchiale en perivasculaire interstitium. Voor het overige heeft het longoedeem ook hier reusachtige afmetingen aangenomen.

Muizen, na 9 resp. 10 dagen gedood.

De longveranderingen bij deze muizen beperken zich tot een purulente bronchitis en peribronchitis.

Veranderingen die duiden op een infectie met influenzavirus zijn niet vastgesteld.

BESPREKING

Bij deze groep muizen is het bacteriologisch onderzoek van de longen in vrijwel dezelfde mate positief verlopen als bij de dieren welke 3 dagen na de influenzainfectie met *Micrococci* zijn ingedruppeld.

Opmerkelijk is evenwel de grote sterfte van de dieren op de tweede dag na de infectie met *Micrococci*, hoewel de longafwijkingen tengevolge van het zwak virulente influenzavirus in de longbeelden niet eens zo overdadig zijn te noemen. Men ziet veelal slechts plaatselijk necrotische plekken in het epitheel van de kleinere bronchi en bronchioli. Of het meer proximaal gelegen bronchiale epitheel weer direct is geregeneerd (*restitutio ad integrum*) valt niet te constateren, maar is aan-

nemelijk op grond van de onderzoekingen van STRAUB (1940) bij muizen verricht met een zwak virulent influenzavirus.

Een waarneming, die ook bij enkele dieren van de vorige groepen muizen in de longen is gedaan, kan deze acute sterfte mogelijk verklaren, namelijk het heftige oedeem onder het bekleedende epitheel van vele bronchi en bronchioli, waardoor dit epitheel vaak sterk geplooid in het lumen ligt. Er zijn gedeelten, waar dit epitheel als het ware van distaal is opgeduwd, zodat men verschillende strengen epitheel in de dwarscoupe van een bronchus aantreft. Ook bestaat er een uitgebreid oedeem van de alveolaire septa en zijn de meeste alveolaire holten opgevuld met gecoaguleerd oedeemvocht.

Voor het overige zijn de histologische veranderingen tengevolge van de besmetting met *Micrococci* nog maar van beperkte omvang, zodat hieraan moeilijk de sterfte kan worden toegeschreven. Men moet welhaast aannemen dat de dieren zijn gestikt vanwege de afsluiting van de bronchi door het oedeemvocht of soms door kokers bronchiaalepitheel. De oorzaak van dit longoedeem blijft hier buiten beschouwing.

BESPREKING VAN DE RESULTATEN

Onderwerpt men de hiervoor beschreven besmettingsproeven bij muizen met influenzavirus, na kortere of langere tijd gevolgd door de indruppeling met een suspensie van een micrococcuscultuur aan een nadere beschouwing, dan merkt men op, dat de secundaire bacteriële infectie slechts bij een betrekkelijk klein aantal dieren tot stand komt, of met andere woorden, dat zich maar bij een betrekkelijk klein percentage muizen een secundaire haardvormige purulente micrococcuspneumonie ontwikkelt. Een factor, die het tot stand komen van de bronchopneumonie, althans bij de muis, gunstig beïnvloedt, is gebleken de omstandigheid, dat de bacteriën enige tijd na de virusinfectie worden toegediend.

Indien men alleen met het sterftepercentage en de tijdsduur, die verloopt tussen de virusinfectie en het sterven van de muizen, rekening houdt, dan vestigt het de indruk, dat vele dieren sterven aan de secundaire bacteriële infectie. De macroscopische longafwijkingen, maar nog veel meer de microscopische beelden tonen aan, dat niet zozeer de purulente ontsteking, maar bij het merendeel van de dieren de „*activering*” van het influenzaproces oorzaak is van de sterfte. Dit laatste zou een bevestiging betekenen van de reeds eerder genoemde resultaten van TAYLOR (1941), al beweren FRANCIS en DE TORREGROSA (1945), dat het intranasaal toedienen van physiologische zoutoplossing

bij muizen besmet met een zwak virulent influenzavirus, geen invloed uitoefent op het longproces door dit virus veroorzaakt.

Indien wordt aangenomen dat deze laatste bewering juist is, dan rest nog de mogelijkheid, dat er een synergisme bestaat tussen het influenzavirus en de *Micrococci*, namelijk dat de vorming van hyaluronidase door deze microorganismen de verspreiding van het virus versnelt. Deze versnelde verspreiding van virus is waargenomen o.a. door DURAN REYNALS (1933), LACK (1948) e.a. bij proefdieren die besmet zijn met vacciniavirus vermengd met genoemd enzym. Eenzelfde versnelde of verhoogde werking van het influenzavirus in de longen bij muizen, die na de virusinfectie ook een micrococcusbesmetting hebben ondergaan, is in dit onderzoek bij een groot aantal dieren waargenomen. Of dit mogelijk het gevolg is van het reeds in de cultuur aanwezige of door de *Micrococci* in de long gevormde hyaluronidase is zonder uitgebreide proefnemingen verder niet uit te maken.

Uit figuur 1 en tabel 1 blijkt, dat na de infectie met het influenzavirus alleen ongeveer de helft van de dieren sterft. De eerste sterfte treedt op zijn vroegst op 5 dagen na de virusinfectie. Ook bij de dieren die gelijktijdig een dubbele infectie hebben ondergaan, sterft de eerste muis 5 dagen na de virusinfectie, en de laatsten sterven alle op de zevende dag (tabel 3). De histologische beelden bij deze groep muizen hebben uitgewezen, dat deze sterfte niet direct het gevolg kan zijn geweest van een micrococcuspneumonie, maar dat deze vermoedelijk zijn oorzaak vindt in een verandering in de werking van het influenzavirus op de muizenlong.

Bij de groepen muizen die alle op verschillende tijdstippen na de virusinfectie met *Micrococci* zijn besmet, sterven de eerste dieren meestal reeds de tweede dag na laatstgenoemde infectie en zijn ook vrijwel alle muizen binnen 6 à 7 dagen na de virusinfectie gestorven. Het percentage van het aantal gestorven dieren is niet alleen toegenomen, maar ook de ziekteduur is bekort (tabellen 5 tot en met 10).

Ook het bacteriologisch onderzoek van de longen van met *Micrococci* besmette muizen toont aan, dat slechts bij een, naar verhouding klein gedeelte van de dieren, genoemde microorganismen zich, ondanks het influenzaproces, in de longen kunnen handhaven. Wel is gebleken, dat bij een deel van de „influenzamuizen”, in tegenstelling tot gezonde muizen, die besmet worden met *Micrococci*, deze bacteriën zich niet alleen kortere of langere tijd in de longen kunnen nestelen, maar zich soms ook kunnen vermenigvuldigen en er een reactie van het

weefsel kunnen teweegbrengen. Zoals onder meer door HARFORD, LEIDLER en HARA (1949) bij secundaire pneumococcusinfecties bij muizen met influenza is aangetoond, wordt de besmetting met *Micrococci* bij deze dieren „bevorderd” door de inleidende infectie met het influenzavirus als gevolg van de longveranderingen veroorzaakt door het virus. Ook zij hebben waargenomen dat in normale muizenlongen na de intranasale infectie met pneumococci, deze bacteriën snel worden geëlimineerd. Ook zij zijn de mening toegedaan, dat de verspreiding van het influenzavirus in de longen, in nog niet door dit virus aangetaste cellen van het longweefsel onder invloed van de bacteriën een niet geheel te verwaarlozen factor vormt.

Trekt men een parallel met de uitkomsten bij de muis en die bij de mens, dan is het zeer aannemelijk, dat influenzavirus bij „gezonde” dragers van pathogene *Micrococci* in de luchtwegen oorzaak kan zijn, dat naast de veranderingen door het virus in de longen verwekt, een secundaire micrococci-pneumonie kan ontstaan (waarbij een verergering van het longproces door het virus zelf voorlopig buiten beschouwing wordt gelaten).

STUART-HARRIS c.s. (1949) erkennen ook deze mogelijkheid, doch plaatsen er een tweede naast, namelijk, dat ook niet valt uit te sluiten dat bij een influenza-epidemie het virus tezamen met het micro-organisme wordt overgebracht. Dit zou insluiten, dat bij toename van het aantal influenzagevallen tijdens een epidemie ook het aantal bacteriële pneumoniepatiënten in gelijke mate toe zou moeten nemen. Dit is uit hun onderzoek evenwel niet gebleken. Evenmin zijn de pneumococcusstammen identiek geweest of is een bepaalde stam veelvuldiger voorgekomen dan bij pneumococci-pneumonien gedurende een interepidemisch tijdsbestek. Het phagotyperen van de micrococci-stammen door deze onderzoekers geïsoleerd uit patiënten met secundaire pneumonie tijdens een influenza-epidemie, geeft daarentegen wel enige aanwijzingen dat er een „epidemische stam” bij deze microorganismen zou kunnen bestaan, aangezien 6 van een 13-tal micrococci-stammen tot eenzelfde phaagtype blijken te behoren. De 7 overige stammen zijn onderling verschillend geweest.

Uit de elders te beschrijven phagotyperingsproeven van de in dit onderzoek betrokken 10 micrococci-stammen van verschillende patiënten afkomstig, blijkt geen enkele stam identiek te zijn. Onderzoekingen, op veel groter schaal verricht tijdens influenza-epidemien, zullen op deze materie nader licht moeten werpen. Men zal daarbij echter rekening moeten houden met eventuele stammen die vaak aan bepaalde plaatsen (ziekenhuis e.d.) zijn gebonden.

Vestigen wij vervolgens de aandacht op de histologische beelden van de onderzochte muizenlongen, dan blijkt dat het epitheel van de bronchiaalboom zich geheel gedraagt alsof er alleen een besmetting met influenzavirus heeft plaatsgevonden. Welke groep muizen men ook bekijkt, de necrose van het bronchiaalepitheel vindt gewoon doorgang, maar het meest merkwaardige is, dat ook de regeneratie van het epitheel soms reeds op de vierde, meestal op de vijfde à zesde dag aanvangt en, onafhankelijk van de purulente ontstekingsverschijnselen in luchtwegen of long, in distale richting langs de bronchiaalwand voortschrijdt.

De aanwezigheid van purulent exsudaat in de bronchi kan slechts oorzaak zijn, dat het nieuwgevormde epitheel een sterk gewoekerd aspect krijgt, doch nimmer, dat de regeneratie niet optreedt.

Necrose van het epitheel, ten gevolge van de aanwezigheid van *Micrococci* alléén, is nimmer waargenomen. Ditzelfde is ook gebleken uit de reeds vermelde onderzoekingen bij muizen die alléén besmet zijn geworden met genoemde microörganismen.

Een volgend punt, dat de aandacht vraagt, is het voorkomen van mononucleaire cellen in het histologische beeld van de long van de verschillende groepen muizen. Genoemde celsoort komt bij muizen, besmet met het influenzavirus alleen na de 3de tot 4de dag in geregeld toenemende mate in de longen voor.

Indien de infectie van virus en cocci gelijktijdig plaats vindt ziet men deze cellen optreden en in aantal vermeerderen na 4 dagen. Bij de overige groepen muizen, waar de besmetting met *Micrococci* na de virusinfectie is geschied, ziet men deze cellen niet eerder dan 5 tot 6 dagen na laatstgenoemde infectie in de longen. Bij muizen die alleen met *Micrococci* zijn besmet neemt men mononucleairen in geringe mate waar na de zesde tot de negende dag.

Met het optreden van mononucleaire cellen ziet men gelijktijdig een overvulling van de lymfhebanen van de longen optreden. Bij „influenzamuizen” ziet men deze overvulling vanaf de derde tot vierde dag na de infectie. Bij de muizen gelijktijdig besmet met virus en cultuursuspensie, treedt het na de 5e dag op, bij de groep muizen, waar de bacteriële infectie 24 uur na de virusbesmetting heeft plaats gevonden, is het niet eerder dan de zesde dag na laatstgenoemde infectie waargenomen, terwijl bij de overige groepen muizen, vermoedelijk door de snelle sterfte, geen overvulde lymfhebanen meer zijn aangetroffen.

Wat de macrophagen betreft, deze ziet men bij muizen die alleen met *Micrococci* besmet zijn reeds na 3 dagen, bij alle overige groepen

muizen, dus ook die alléén met influenzavirus zijn geïnfecteerd, 4 tot 5 dagen na de virusinfectie.

In hoeverre het van belang is te weten dat mononucleaire cellen optreden in de long bij influenza van muizen laat zich moeilijk beoordelen. Volgens METRE (1948) zou een infiltratie door mononucleaire cellen in de bronchiaalwand alleen waargenomen zijn in longen van patiënten die sterven aan een zuivere „influenza“-pneumonie tijdens een influenzapandemie of ten gevolge van een pneumonie na mazelen; maar genoemde infiltratie zou ontbreken bij longen van patiënten die zijn gestorven aan pneumonieën na influenza tijdens perioden dat influenza min of meer epidemisch voorkomt. In laatstgenoemde gevallen ziet men alleen polymorphkernige leucocyten ten gevolge van de secundair optredende bacteriële pneumonieën. De juistheid van deze bewering zal slechts bij de mens kunnen worden getoetst, aangezien influenza bij muizen spontaan niet als epidemische of pandemische ziekte bekend is.

Wel wordt het optreden van de eerste mononucleaire infiltratie bij muizenlongen na een gemengde virus en bacteriële infectie zo ogenschijnlijk vertraagd. Een factor waar men echter ook rekening mee dient te houden is, dat laatstgenoemde infiltratie mogelijk door de grote aantallen polymorphkernige cellen in die mate wordt overtroffen, dat de mononucleairen in het begin niet opvallen.

Indien bij de mens dezelfde normen gelden als bij de muis, dan zal men bij het histologisch onderzoek van longen van patiënten die zijn gestorven aan een (eventueel secundaire) purulente haardvormige pneumonie, meer steun hebben aan de veranderingen die men waarneemt van het epitheel van de bronchiaalboom, dan aan de bijkomstige ontstekingsverschijnselen in de longen, om tot de „post mortem“ diagnose „primaire influenza“ te mogen besluiten.

Een factor die tot op heden buiten beschouwing is gelaten, is het longoedeem, dat men op een zeker tijdstip na de besmetting met het influenzavirus bij muizen ziet optreden. Het tijdstip waarop genoemd oedeem in de longen wordt waargenomen hangt, ook volgens mijn ervaring, geheel af van de virulentie van het toegediende virus. Bij een zeer virulent virus ziet men soms na 24 uur, meestal reeds binnen 48 uur oedeem van het interstitium van de long en vaak ook ge-coaguleerd oedeemvocht in de alveolaire ruimten. Bij een minder virulent of zwak virulent virus treedt dit oedeem minder snel op. Men neemt het dan waar op de derde tot vijfde dag na de infectie, terwijl hierbij nog graduele verschillen bestaan.

Is dit oedeem op te vatten als een gewoon ontstekingsoedeem? Bij

elke ontsteking, dus ook van de longen, kan in mindere of meerdere mate oedeem optreden. Dit oedeem is dan meestal gelocaliseerd rondom de ontstekingshaard. Neemt men bij muizen besmettingsproeven met een zeer virulent influenzavirus, dan verloopt het necrotiserende proces van het epitheel van de bronchiaalboom in vrijwel hetzelfde tempo, als na infectie met een minder virulent of zwak virulent virus. Ook begint de regeneratie van het epitheel in vele gevallen op eenzelfde tijdstip na de virusinfectie. Bij een zwak virulent virus is het mogelijk, dat de necrose van het epitheel volledig is, er zelfs een begin van regeneratie is waargenomen, terwijl dan pas in geringe mate oedeem optreedt. De processen die in het epitheel plaats vinden, lopen dus niet gelijktijdig met het optreden van oedeem.

Op grond van deze overwegingen meen ik te mogen veronderstellen, dat niet alle oedeem van de longen bij influenza het gevolg is van ontstekingsprocessen, maar dat het overgrote deel van het oedeem veroorzaakt wordt door, of een reactie (toxisch of allergisch) is op, het influenzavirus.

Deze opvatting vindt steun bij de sectiebevindingen waargenomen bij de influenzalongen van de mens, waarbij elke onderzoeker bij herhaling, alsof hij het nieuw ontdekt, en met nadruk beschrijft, dat deze organen zo opvallend vochtrijk zijn en dat bij insnijden zo veel bloederig oedeemvocht afvloeit.

Een uitgebreid experimenteel onderzoek zal uiteraard noodzakelijk zijn om te bepalen of dit oedeem en de aanwezigheid van oedeemvocht een of een van de belangrijke predisponerende factoren vormt voor het ontstaan van secundaire bacteriële infecties. Dit onderzoek zal met vele moeilijkheden gepaard gaan, vooral omdat zo uitermate lastig de uitgebreidheid van het te verwekken oedeem te bepalen zal zijn.

Vele van door mij genomen proeven mag men in zekere zin mislukt beschouwen, omdat een langdurige contrôle van de proefdieren, met het oog op het voortschrijden van de regeneratie van het bronchiale epitheel en het voortduren van de purulent bronchopneumonische veranderingen, niet heeft kunnen plaats vinden, doordat de dieren tengevolge van dit hevige longoedeem te vroegtijdig zijn gestorven.

SLOTBESPREKING

De verrichte histologische onderzoekingen hebben tot doel gehad na te gaan of de necrotische veranderingen van het bekleedende epitheel van de bronchiaalboom bij de muis, die ook zijn waargenomen bij „gemengde” influenzapneumonieën bij de mens, louter het gevolg

zijn van het influenzavirus of dat genoemde veranderingen moeten of mogelijk ook het gevolg kunnen zijn van de inwerking van *Micrococci*, of hun toxinen, op genoemd epitheel.

Hoewel ik mij volkomen bewust ben, dat de experimentele infectie bij de muis met influenzavirus niet indientiek is aan de epidemische influenza bij de mens, benadert men bij de experimentele toediening van het virus bij dit dier zo zeer de toestand bij de mens, dat men de verschillen meer kwantitatief dan kwalitatief mag noemen. Met deze restrictie meen ik dan ook, dat de gevolgtrekkingen bij de muis gemaakt, tot op zekere hoogte zijn over te brengen op de toestand bij de mens.

Uit de beschreven proeven meen ik te mogen besluiten, dat *Micrococci* of hun stofwisselingsproducten niet in staat zijn necrose van enige betekenis te veroorzaken van het bekleedende epitheel van de luchtwegen, maar dat alléén het influenzavirus daarvoor aansprakelijk moet worden gesteld.

Deze slotsom berust op de waarneming, dat een infectie met *Micrococci* bij de muis wel een purulente bronchopneumonie kan veroorzaken, maar geen necrose van het bekleedende epitheel van de luchtwegen; en dat bij een gemengde infectie van influenzavirus en *Micrococci*, ondanks de aanwezigheid van een purulente bronchopneumonie, geen enkele remmende invloed is waargenomen op het regeneratieproces van dit epitheel.

Tenslotte meen ik, gegrond op de histologische beelden in de longen, dat het longoedeem de belangrijkste factor is die tot een infectie met secundaire bacteriën predisponeert, meer nog dan de necrose van het epitheel. Eén van deze overwegingen berust op de volgende waarneming, waarvan ook bij de menselijke pathologie parallellen bekend zijn n.l. bij hevige infecties met influenzavirus bij de muis sterven de dieren nog vóór er een zichtbare cellige reactie van het longweefsel is waar te nemen, tengevolge van een hevig longoedeem. Deze waarneming is ook bij de mens gedaan in perioden dat influenza epidemisch of pandemisch voorkomt. Ook bij de mens heeft men, zoals door mij bij de muis zijn beschreven, bij acuut verlopende gevallen van influenza, oedeemvocht en bacteriën in de alveoli gevonden, zonder dat er, histologisch bezien, van enige cellige ontsteking sprake was.

Als tweede overweging geldt, dat een micrococcusinfectie bij de muis een licht verlopende en een snel in genezing overgaande purulente bronchopneumonie, zonder abscesvorming, verwekt. Zo blijken primaire micrococcusinfecties bij de mens, behalve bij de pasgeborene, niet voor te komen. Steeds meer komt men tot het inzicht,

dat er een predisponerend moment bij de volwassene aan vooraf gaat. Bij de muis, besmet met influenzavirus en, of erna, met micrococcus-cultuur, ziet men niet eerder abscessen in de longen ontstaan, dan nadat zich op het moment van de micrococcusinfectie, oedeem of oedeemvocht in de alveolaire holten heeft gevormd. Dat wil zeggen, dat het influenzavirus eerst het secundaire verschijnsel oedeem of een predispositie tot oedeemvorming in de long moet hebben veroorzaakt, alvorens men, tengevolge van de secundaire bacteriële infectie, in de long abscessen ziet ontstaan (1 tot 3 dagen na de virusinfectie).

Dat deze opvatting uiteraard steun zal moeten krijgen, door het verrichten van een diepgaand experimenteel onderzoek op dit speciale gebied, wordt volmondig erkend.

HOOFDSTUK IV

DE EXPERIMENTELE SECUNDAIRE BACTERIËLE INFECTIES BIJ FRET EN KONIJN

DE PATHOLOGISCHE ANATOMIE VAN DE FRETENLONG MET INFLUENZA

Het *fret* reageert over het algemeen op de intranasale besmetting van een niet te zwak virulent influenzavirus met een ontsteking van de voorste luchtwegen. Wel kan na ongeveer twee tot maximaal zes dagen het virus in de longen worden aangetoond (HORSFALL en LENETTE 1940), echter veranderingen van het longweefsel worden daarbij niet waargenomen. Slechts na herhaalde overentingen van het virus in de neus van het fret en meestal na voorafgaande aethernarcose, kan een „viruspneumonie” op de 4de tot 5de dag optreden (FRANCIS 1935, LAIDLAW 1935, SMITH 1937). Bij de eerste passages tonen de longen rood-paarse gedeelten, doch na verscheiden overentingen treedt „splenisatie” van de long op.

Volgens PERRIN en OLIPHANT (1940) ziet men 24 uur na de infectie een beginnende bronchitis, hyperaemie van de long en een beginnende infiltratie met ontstekingscellen. Na 2 tot 3 dagen wordt deze bronchitis purulent en gaat gepaard met een geringe degeneratie van het bronchiaalepitheel. Ook is er een geringe perivasculaire infiltratie waar te nemen. Het alveolaire exsudaat bevat polymorphkernige leucocyten en grote mononucleaire cellen.

De pneumonische afwijkingen zijn het duidelijkst te zien aan de hilus van de longkwabben. Tot de zesde dag na de besmetting is de pneumonie exsudatief, waarna het resorptiestadium intreedt.

DE GEVOLGEN VAN DE TOEDIENING VAN MICROËRGANISMEN BIJ MET INFLUENZAVIRUS BESMETTE FRETEN

Evenals bij de muis zullen infectieproeven met *H. influenzae* als secundair agens niet worden besproken.

Slechts een mededeling over een gecombineerde besmetting van het fret met het influenza A-virus (W.S.-stam) en een haemolytische streptococcus (Groep C-Lancefield) is mij bekend. De streptococcus-

stam heeft GLOVER (1941) geïsoleerd uit het neussecret van een fret die na besmetting met influenzavirus een afwijkend ziekteverloop heeft vertoond en na enkele dagen is gestorven. GLOVER heeft fretten in de neus besmet met een cultuur van deze *Streptococci*. Deze dieren hebben evenwel geen ziekteverschijnselen getoond en uit het neusslijmvlies heeft hij geen *Streptococci* meer kunnen isoleren.

Fretten die aan een gemengde intranasale besmetting van virus en streptococci zijn blootgesteld, tonen eerst de normale klinische verschijnselen welke optreden na de besmetting met het virus alleen. Na de vierde dag is het neussecretum purulent geworden en vanwege het indrogen zijn de neusgaten vaak geheel verstopt waardoor de dieren veel niezen en met de voorpoten de korsten trachten te verwijderen. De helft van de dieren is gestorven speciaal in het begin van de ziekte, wat er op zou kunnen wijzen dat de *Streptococci* aan virulentie hebben ingeboet.

Bij alle fretten is de streptococcus uit de neus geïsoleerd, slechts bij één fret is dit gelukt uit de longen.

Vervolgens heeft GLOVER met influenzavirus besmette fretten met tussenpozen van 3, 4, 5 en 7 dagen na de infectie, intrasanaal nog ingedruppeld met een streptococcuscultuur. Bij al deze dieren heeft hij na 4 tot 10 dagen *Streptococci* in het neussecretum kunnen aantonen. De dieren die 3—5 dagen later met streptococcuscultuur zijn besmet, hebben het langst een positief kweekresultaat gegeven. Geen van deze dieren is gestorven.

Men ziet dus ook bij het fret, dat het voorkomen van *Streptococci* zeer nauw samenhangt met het actieve stadium van influenza. Onder normale omstandigheden slaat de infectie met dit microörganisme niet aan, wat er op wijst, dat laesies van het epitheel van het neusslijmvlies een predisponerende factor vormen. Dat de beschadiging van het epitheel evenwel niet de enige factor is, blijkt uit de proeven van STUART HARRIS en FRANCIS (1938), die een zinksulfaat-oplossing op het neusslijmvlies hebben laten inwerken en enkele uren later de dieren hebben besmet met *Streptococci*, zonder nadelige gevolgen daarvan te hebben waargenomen.

DE GECOMBINEERDE INFECTIE VAN HET FRET MET INFLUENZAVIRUS EN MICROCOCCI

Het fret is het eerste proefdier geweest, dat gevoelig is gebleken voor het influenzavirus van de mens (SMITH, ANDREWES en LAIDLAW 1933). Over het voorkomen van micrococcus-infecties bij het fret is mij geen literatuur bekend. Toch is het verantwoord om bij dit proefdier een

onderzoek in te stellen in hoeverre genoemde microörganismen het verloop van de influenza bij het fret kunnen beïnvloeden.

Reeds in het literatuuroverzicht is vermeld, dat de infectie met influenza-virus bij het fret uitsluitend een rhinitis en sinusitis naast verschillende algemene ziekteverschijnselen veroorzaakt en dat slechts na vele passages en onder bijzondere voorwaarden een influenzapneumonie kan optreden. Gezien de reeds genoemde resultaten van GLOVER (l.c.), door een gemengde infectie bij het fret van influenza-virus met *Streptococci*, bestaat er echter nog een mogelijkheid, dat men met *Micrococci* een ongunstige invloed kan uitoefenen op het verloop van de primaire virusinfectie. Al zal het fret zich, vooral om economische redenen, niet zo gemakkelijk lenen voor massaonderzoekingen, zoals de muis, een bevestiging van de bevindingen bij laatstgenoemd proefdier, zal daarom een niet onwelkome steun kunnen vormen.

Aangezien de beschreven degeneratieve veranderingen van het bronchusepitheel bij het fret lijdende aan een influenza-infectie zeer gering zijn, zal een heftige necrose van dit epitheel bij de experimenteel opgewekte secundaire micrococci-pneumonie, steun kunnen geven aan de opvatting, dat *Micrococci* inderdaad aansprakelijk zijn voor de beschadiging van het bekleedende epitheel van de luchtwegen.

Om nu een indruk te krijgen in welke mate het verloop van de influenza bij het fret wordt beïnvloed door *Micrococci*, zijn een aantal fretten, na aethernarcose, intranasaal besmet met een 0.5 cc virusverdunding 1 : 10 (A^1 , Stam V. 1949 E 5, M_{21}) en gelijktijdig of na verschillende tussenpozen via dezelfde weg, met een suspensie van een plm. 24 uur oude cultuur van een micrococcusstam in physiologische zoutoplossing. Voor de bacteriële infectie zijn een viertal stammen gekozen.

Als eerste contrôle zijn 4 fretten, na aethernarcose, intranasaal besmet met een 0.5 cc suspensie van een van de genoemde micrococcusstammen.

De tweede contrôlegroep van 4 fretten omvat dieren, die alléén met de hierboven vermelde dosis influenzavirus zijn besmet.

De hoofdproef is verricht met groepen van twee fretten die op de gebruikelijke manier zijn besmet met influenzavirus en na respectievelijk 1, 2, 3, 4, 5 en 6 dagen intranasaal besmet zijn met een 0.5 cc cultuursuspensie van micrococci.

Alle dieren zijn voor iedere besmetting onder aethernarcose gebracht. Bij al deze fretten is gedurende veertien dagen de lichaamstemperatuur opgenomen. Van alle dieren is gedurende de eerste zes dagen en op de tiende en veertiende dag na de infectie met de micro-

coccussuspensie, een uitstrijkje van het vers opgenieste neusslijm gemaakt op een bloedagarbodem. Tenslotte zijn de klinische symptomen dagelijks waargenomen.

Voor het afenten uit de neus is gebruik gemaakt van een PASTEUR's pipet, waarvan de punt in de vlam tot een klein bolletje is gegloeid, en waarvan aan het dunne uitgetrokken deel een geringe ronding is gegeven. Het fret is onder een lichte aetherroes gebracht en, voor zover nodig, is het ingedroogde neussecretum met een steriel watje rondom de neusopeningen verwijderd. Steekt men het bolletje van de pipet na enige draaiende bewegingen in de neusgang, dan begint het dier heftig te niezen. Het vers opgenieste neusslijm is, met behulp van de pipet, uitgestreken op de oppervlakte van een bloedagarbodem. Na 24 uur bebroeden van deze beënte bodems is van een aantal kolonies, die haemolysis op de bloedplaat vertonen, een Gram-preparaat gemaakt voor onderzoek op *Micrococci*.

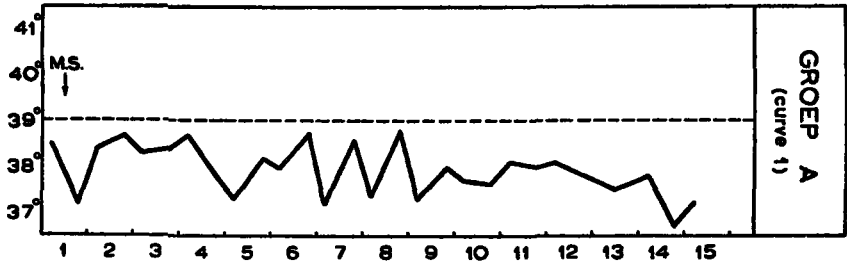
De influenza bij het fret kenmerkt zich volgens SMITH, ANDREWES en LAIDLAW (l.c.) door een incubatietijd van 2 dagen. Er komt een diphasische temperatuurstijging met koortstoppen op omtrent de tweede dag en op de vierde tot vijfde dag na de besmetting. Daartussen treedt een vrij scherpe temperaturdaling op. Na de tweede koortstop daalt de temperatuur binnen enkele dagen tot normaal.

De klinische symptomen treden vrijwel gelijktijdig op met het oplopen van de temperatuur en uiten zich in een catarrhale ontsteking van de neus, zijn bijholten (niezen, neusuitvloeiing, snuiven) en van de conjunctivae. Op en na de vierde dag ademt het dier moeilijk, maakt snuivende tot rochelende geluiden, verliest veel kleverig tot muco-purulent neussecretum en geeuwt vaak. Deze ziekteverschijnselen duren meestal slechts enkele dagen, waarna het dier herstelt.

Vatten wij thans groepsgewijs samen wat de uitkomsten zijn van de hierboven vermelde besmettingsproeven.

Groep A: Fretten besmet met alléén een micrococcussuspensie. De temperatuur bij deze dieren is steeds binnen de normale grenzen gebleven. (Curve 1 geeft daarvan een typisch voorbeeld).

Klinische symptomen van ziekte hebben deze dieren niet getoond. Het bacteriologisch onderzoek van het neusslijm op Micrococci is steeds negatief geweest.

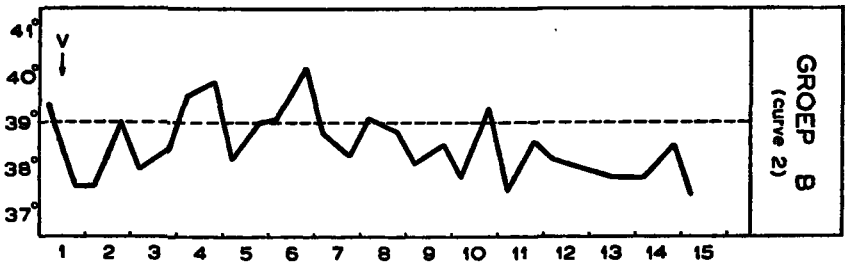


Groep B: Fretten besmet met alléén het influenzavirus.

De *temperatuurcurve* (2) vertoont het gewone beeld van een influenza-infectie bij het fret. De koortstoppen zijn op de derde en vijfde dag na de virusbesmetting opgetreden.

De *klinische verschijnselen* van de ziekte hebben zich drie dagen na de infectie voorgedaan. De dieren maken een snuivend geluid, de neusspiegel is droog-korsterig en de ogen bevatten mucopus en zijn betrand. De volgende dagen zijn de dieren meer algemeen ziek en is het neussecretum vrij overvloedig. Op de zesde dag is het gesnuif minder hevig, hoewel de dieren nog een behoorlijk zieke indruk maken. Daarna is snel genezing ingetreden.

Uit het neusslijm is nimmer een haemolytische micrococcus geïsoleerd.



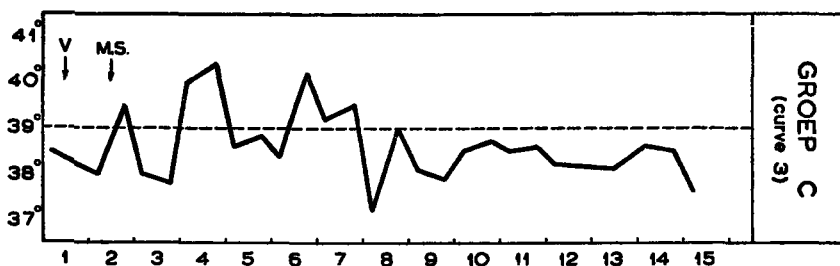
Groep C: Fretten besmet met het influenzavirus en na 24 uur met een micrococcussuspensie.

Uit de *temperatuurcurve* (3) valt weinig af te lezen. Het verloop is vrijwel in overeenstemming met die, verkregen bij de fretten besmet met alléén het influenzavirus.

De *klinische verschijnselen* dekken vrijwel geheel de bevindingen bij de vorige groep. De eerste verschijnselen van een rhinitis hebben zich

echter 24 uur eerder geopenbaard. De dieren zijn niet méér algemeen ziek geweest dan die van groep B.

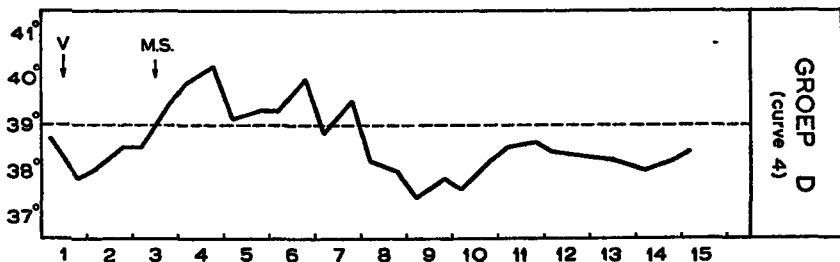
Het *bacteriologisch onderzoek* van het neussecretum 24 uur na de besmetting met *Micrococci* heeft een negatief resultaat opgeleverd. De daarop volgende vijf dagen zijn haemolytische micrococci geïsoleerd uit de neusholte. Het grootste aantal kolonies van deze microorganismen is geteld op de derde dag na de besmetting met cultuursuspensie, waarna het aantal snel is afgenomen. De achtste en de twaalfde dag na de besmetting zijn uit het neussecretum geen *Micrococci* meer geïsoleerd.



Groep D: Fretten besmet met influenzavirus en na 2 dagen met een suspensie van micrococci.

Wat de *temperatuur* (4) en de *klinische verschijnselen* aangaat, deze sluiten zich geheel aan bij de vorige groep.

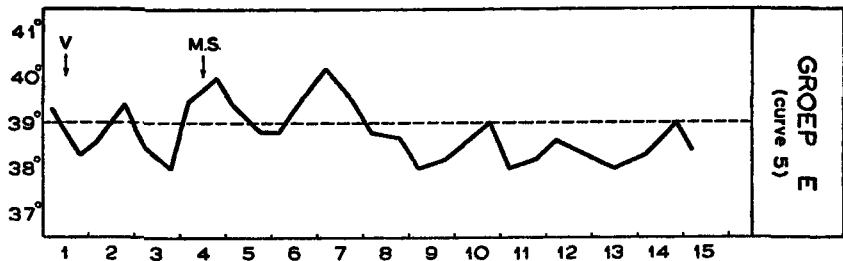
Ook het *bacteriologisch onderzoek* van de neusinhoud op *Micrococci* is de eerste maal negatief verlopen. Daarna zijn gedurende de volgende entingen steeds haemolytische micrococci aangetoond. Het grootste aantal kolonies is verkregen op de vijfde dag, op de twaalfde dag, na de besmetting met de cultuursuspensie, is slechts één enkele kolonie van deze microorganismen waargenomen.



Groep E: Fretten besmet met influenzavirus en na 3 dagen met een suspensie van een micrococccuscultuur.

De *temperatuurcurve* (5) laat weer hetzelfde beeld zien als na een besmetting met alléén het influenzavirus. Wat de *klinische symptomen* betreft, deze dieren zijn de derde tot en met de zesde dag na de virusinfectie flink algemeen ziek geweest, doch zijn daarna weder snel hersteld.

Het *onderzoek* van het neussecretum op haemolytische micrococci is slechts 4 dagen na de besmetting met de suspensie positief verlopen, daarna zijn deze bacteriën niet meer in de cultures aangetroffen. Dit komt dus overeen met de daling van de temperatuur op dat moment.

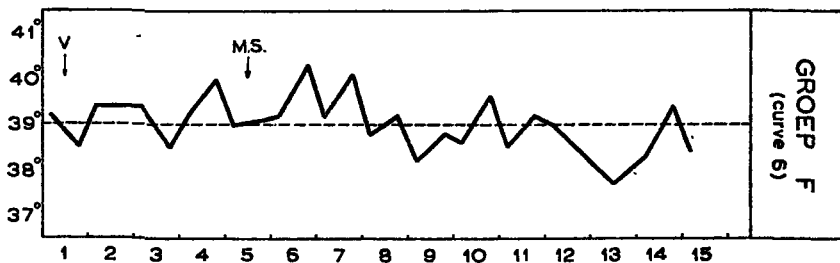


Groep F: Fretten besmet met influenzavirus, 4 dagen erna gevolgd door een infectie met Micrococci.

De *temperatuurcurve* (6) toont een enigszins ander beeld dan bij de vorige groepen, echter de vrij kenmerkende diphasische temperatuurstijging tengevolge van de infectie met influenzavirus valt duidelijk te onderkennen. Nadien is de temperatuur aan vrij grote schommelingen onderhevig geweest.

Ook deze fretten zijn behoorlijk algemeen ziek geweest, doch zij hebben nimmer de indruk gemaakt dat de ziekte in de dood zou eindigen. Herstel is op de gebruikelijke manier ingetreden.

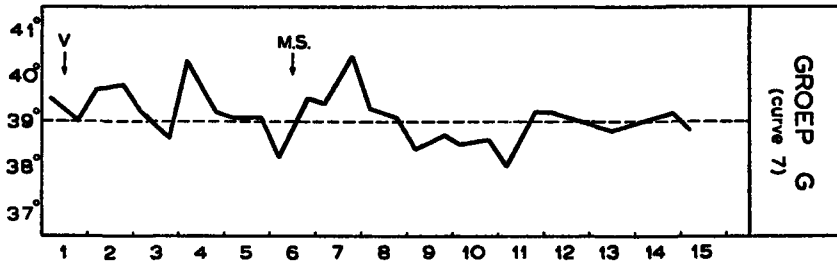
Het *cultureel onderzoek* van de neusinhoud heeft tot 4 dagen na de bacteriële besmetting haemolytische micrococci opgeleverd. Nadien is het niet gelukt deze microorganismen nog te isoleren.



Groep G: Fretten besmet met influenzavirus en 5 dagen daarna met een micrococcussuspensie.

De *temperatuurcurve* (7) toont vrijwel hetzelfde beeld als bij de vorige groepen en de *klinische verschijnselen* zijn ook identiek.

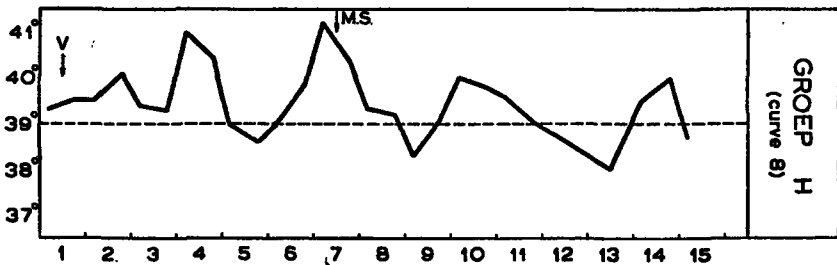
Ook de kweek uit het neusslijm heeft gedurende 4 dagen haemolytische micrococci laten zien, daarna niet meer.



Groep H: Deze met influenzavirus besmette fretten zijn op de dag van de tweede koortstop besmet met een micrococcussuspensie. De temperatuurcurve (8) laat in het laatste gedeelte nog twee koortstoppen zien.

Deze fretten zijn veel langer algemeen ziek, doch niet ernstiger ziek geweest dan de vorige groepen. Zij hebben echter nimmer de indruk gemaakt de infectie niet te zullen overleven.

Het *bacteriologisch onderzoek* van het neussecretum is gedurende 7 dagen na de bacteriële infectie positief geweest op haemolytische micrococci.



De resultaten verkregen door de besmetting, van aan influenza lijdende fretten, met een suspensie van een micrococcuscultuur gedurende de tweede koortperiode, duiden er misschien op dat deze

diersoort op dat moment het meest gevoelig is voor genoemde micro-organismen, zonder dat het echter mogelijk is geweest klinisch een pneumonie vast te stellen.

Uit de verrichte proeven met fretten blijkt dus het volgende:

- 1e. Pathogene *Micrococci* kunnen bij het gezonde fret intranasaal toegediend geen ziekte veroorzaken, noch kunnen zij zich in de neusholte handhaven.
- 2e. Slechts na een voorafgaande besmetting van het fret met influenzavirus is het mogelijk, dat pathogene *Micrococci* zich kunnen nestelen en zich enige tijd kunnen handhaven in de, door het virus ziekelijk veranderde, neusholte.
- 3e. Voor zover het de klinische verschijnselen betreft, wordt door een secundaire infectie met pathogene *Micrococci* bij het fret, lijdende aan influenza, het ziekteproces niet in die mate nadelig beïnvloed, dat de fretten een zeer zieke indruk maken zo dat zij de gezamenlijke infectie niet zullen overleven.

Men vindt hier dus vrijwel een bevestiging van de resultaten van GLOVER (l.c.) met fretten, die zijn besmet met influenzavirus en *Streptococci*, hoewel in de meeste van zijn gevallen de ziekte wel in ongunstige richting is beïnvloed, zonder ook direct letaal te verlopen.

DE PATHOLOGISCHE ANATOMIE VAN DE KONIJNENLONG MET INFLUENZA

Mededelingen omtrent veranderingen in de long van met influenzavirus besmette konijnen zijn zeer schaars. HYDE (1942) beweert dat de intranasale besmetting bij het konijn een subklinische infectie veroorzaakt.

Dit is in overeenstemming met de waarneming van Mc INTOSH en SELBIE (1937 I en II), die bij het konijn ook een ziekte met een subklinisch verloop hebben waargenomen. Evenwel vinden zij bij histologisch onderzoek atelectatische longgedeelten met bloedingen in de alveoli. Deze alveoli bevatten tevens wat sereus exsudaat. De alveolairwand zou volgens hen zijn verbreed als gevolg van een proliferatie van het epitheel.

Bij vergelijking van de histologische veranderingen, waargenomen in de longen van personen die tijdens een influenzapandemie binnen enkele dagen zijn gestorven en de longveranderingen bij konijnen, opgewekt door besmetting langs intratracheale weg met vacciniavirus,

menen Mc CORDOCK en MUCKENFUSZ (1933) te mogen besluiten, dat influenzavirus dezelfde longlaesies veroorzaakt als het vacciniavirus. Zij beweren dat genoemde virussoorten in het beginstadium van de ziekte, wanneer secundaire bacteriën nog niet in het longproces zijn betrokken, een interstitiële pneumonie veroorzaken. Door de secundair optredende microorganismen wordt het proces tot een „interstitiële bronchopneumonie”.

Aangezien deze onderzoekers nog niet de beschikking hebben gehad over het influenzavirus, is deze veronderstelling zeer gewaagd te noemen. Thans is gebleken dat er in het beginstadium van beide ziekteprocessen wel enige punten van overeenkomst zijn, wanneer men de longveranderingen bij de muis, besmet met influenzavirus, vergelijkt met de veranderingen van de intra-tracheaal met vacciniavirus besmette konijnen, namelijk de necrose en het desquameren van het alveolaire epitheel, die echter niet constant zijn, alsmede het oedeemvocht in de alveoli. De cellige infiltratie en de uitgebreide necrotische haarden, die zij beschrijven bij de konijnenlong, besmet met vacciniavirus, wijken evenwel sterk af van de beelden, waargenomen in muizenlongen na besmetting met het influenzavirus.

Een ander punt van overeenkomst is de mogelijkheid van een secundaire bacteriële infectie van de aangetaste longen, met de noodlottige gevolgen van dien. Het histologische beeld wordt dan in beide gevallen grotendeels, zo niet geheel beheerst door de purulent bronchopneumonische veranderingen. Dit is evenwel bij vele virusziekten bekend (o.a. mazelen).

PANTHIER, CATEIGNE en HANNOUN (1947) beweren dat de intra-tracheale injectie van influenzavirus-A (W.S.-stam) bij het konijn, waarvan men de resistentie vooraf heeft verminderd, pulmonale veranderingen veroorzaakt, analoog aan die, welke bij de muis worden waargenomen. Het korte verslag dat mij van dit onderzoek ter beschikking staat, doet mij evenwel twifelen aan de waarde van hun bewering.

DE GECOMBINEERDE INFECTIE VAN HET KONIJN MET INFLUENZAVIRUS EN MICROÖRGANISMEN

Voor zover bekend, zijn geen onderzoeken bij het konijn verricht, waarbij influenzavirus en bacterie tezamen zijn toegediend. Wel hebben Mc CORDOCK en MUCKENFUSZ (1933) bij konijnen een vergelijkend onderzoek verricht over de longveranderingen, die optreden nadat deze dieren intratracheaal zijn besmet met vacciniavirus al of niet

gepaard met een secundaire infectie met *Micrococci*, en de longafwijkingen welke worden waargenomen bij personen die tijdens een influenzaepidemie aan deze ziekte zijn overleden.

De longlaesies die optreden na besmetting van het konijn met alleen het vacciniavirus en die, welke bij de mens worden waargenomen, zijn elders besproken. Het beeld, dat zij zien na een gemengde infectie van vacciniavirus en *Micrococci*, duiden zij aan als „interstitiële bronchopneumonie”. Deze benaming hebben zij gekozen om aan te duiden dat primair een virus longveranderingen heeft veroorzaakt, terwijl de secundaire microorganismen daarnaast het beeld geven van een purulente (lobulaire) bronchopneumonie. Geven zij een kleine dosis *Micrococci*, dan ontstaat deze pneumonie; is de dosis groot, dan sterven de dieren na 24 tot 48 uur aan een septicaemie.

Zij menen dat bij het konijn minstens 2 laesies tengevolge van de inwerking van het vacciniavirus de snelle groei en de verspreiding van de bacteriën, bevorderen. Ten eerste ondersteunen de plekken waar longnecrose is ontstaan de vermeerdering van de microorganismen, terwijl de verwijde lymfhevatens de mogelijkheid openen van de snelle verbreiding door de long heen.

DE VERSCHIJNSELEN DIE VOORTVLOEIEN UIT DE BESMETTING VAN HET KONIJN LANGS AËROGENE WEG MET INFLUENZAVIRUS, WELKE GEPAARD GAAT MET OF WORDT GEVOLGD DOOR EEN INFECTIE MET MICROCOCCI

Tot in zekere mate vormt het konijn voor wat een gemengde infectie met influenzavirus en *Micrococci* betreft, het pendant van het fret. Het konijn wordt veel gebruikt als proefdier, met het oogmerk de pathogeniteit van *Micrococci* te bepalen, maar is weinig of niet gevoelig voor een besmetting met het influenzavirus.

Een hoeveelheid micrococcuscultuur of -suspensie, subcutaan of intraveneus toegediend, veroorzaakt bij het dier òf acute dood, bij een matige dosering, òf een bacteriaemie, pyaemie, met kleine hoeveelheden. Een uiterst kleine dosis, subcutaan toegediend, kan zich bepalen tot de vorming van een lokaal onderhuids absces.

Door middel van een intratracheale injectie met virulente *Micrococci* slaagt men er evenwel zelden in een gegeneraliseerde micrococcusinfectie te verkrijgen. BÉCO (1901) heeft konijnen 1 cc van een 48 uur oude bouilloncultuur van virulente *Micrococci* in de vrij geprepareerde trachea ingespoten, zonder dat hij ooit een sepsis heeft waargenomen. Zelfs wanneer het weerstandsvermogen van het dier wordt verminderd, door melkzuur, carbol of sublimaat toe te dienen, door een flinke

aderlating, door sterke afkoeling, door sterke afkoeling na voorafgaande verwarming, ziet hij geen bacteriaemie van *Micrococci* optreden. Wel heeft hij een enkele maal locale longveranderingen waargenomen, die kunnen bestaan uit een bronchitis, peribronchitis, enig oedeem, enkele bloedingen, doch zelden een catarrhale purulente bronchitis met bronchopneumonische haarden.

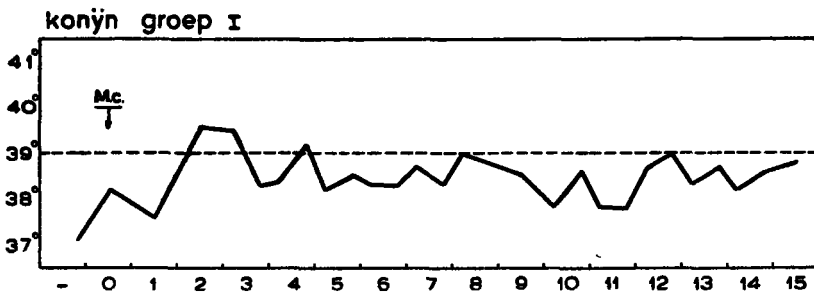
Dezelfde overwegingen welke er bij het fret toe hebben geleid om dit dier te gebruiken voor een gemengde infectie van influenzavirus en *Micrococci*, hebben gegolden bij het konijn. Voorts zou het belangwekkend kunnen zijn, indien het konijn besmet met influenzavirus wel gevoelig zou blijken voor een intratracheale besmetting met *Micrococci*, met betrekking tot de hiervóór vermelde proeven van BÉCO.

Er zijn tot dit doel 4 groepen van 2 konijnen voor deze proeven gebezigd. Een groep is intratracheaal ingespoten met 1 cc van een 24 uur oude cultuur van *Micrococci* gelijktijdig met een $\frac{1}{2}$ cc virushoudende muizenlongsuspensie (A¹, stam V 1949 E₅M₂₁).

Een tweede groep is via dezelfde weg besmet met een $\frac{1}{2}$ cc van genoemde muizenlongsuspensie en na 4 dagen met 1 cc van een 24 uur oude bouilloncultuur van *Micrococci*.

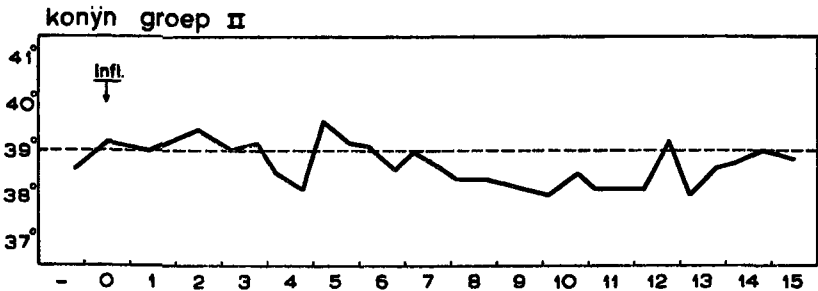
Uiteraard zijn 2 contrôlegroepen van konijnen intratracheaal besmet, waarvan één groep alleen met genoemde dosis influenzavirus (longsuspensie) en een tweede groep met alleen 1 cc micrococcuscultuur.

Gedurende 14 dagen is bij de besmette dieren de lichaamstemperatuur opgenomen, terwijl eveneens dagelijks gelet is op eventuele klinische afwijkingen. Het gewicht van de konijnen wisselde van 1000—1200 gram, de leeftijd van 5 tot 7 maanden.

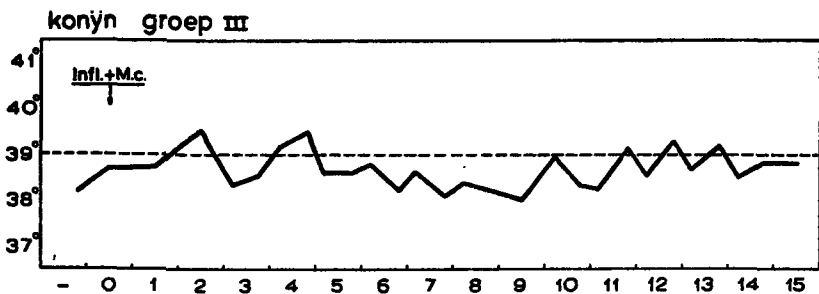


De beide contrôle konijnen (groep I), die intratracheaal alleen met 1 cc micrococcuscultuur zijn besmet, zijn, evenals alle andere dieren uit deze proef, 3 maanden na deze infectie nog steeds volkomen gezond gebleken. Uit de temperatuurcurve blijkt, dat na 2 tot 4 dagen zich

een onbeduidende temperatuursverhoging heeft voorgedaan. Eén van de dieren heeft op de tweede dag na de infectie diarrhee gehad, echter na 24 uur is de ontlasting weer geheel normaal geworden, en is zo gebleven.

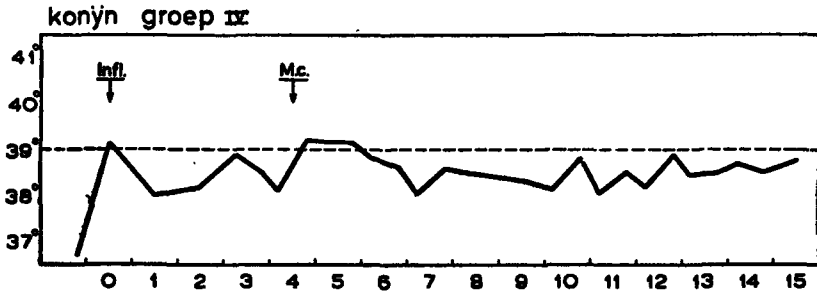


De konijnen (Groep II), die met $\frac{1}{2}$ cc influenzavirushoudende muizenlongsuspensie zijn besmet, hebben mogelijk de eerste paar dagen een geringe temperatuurverhoging getoond, zonder dat zij klinische verschijnselen hebben vertoond. Ook deze dieren hebben de infectie overleefd.



De proefdieren (Groep III) die gelijktijdig intratracheaal zijn besmet, met $\frac{1}{2}$ cc muizenlongsuspensie en 1 cc micrococcuscultuur, hebben eveneens de tweede en vierde dag een geringe verhoging van de temperatuur getoond, zonder dat men weer van koorts mag spreken. Een van deze dieren heeft na één dag een frequente ademhaling en op de tweede dag diarrhee gehad. Op de derde dag heeft dit dier geaborteerd. Op de vierde dag zijn de faeces weer normaal, waarna geen klinische afwijkingen meer zijn waargenomen.

Tenslotte de (groep IV) konijnen, die vier dagen na de besmetting met influenzavirus, intratracheaal zijn besmet met micrococcuscultuur. Ook deze dieren hebben geen enkel symptoom van ziek zijn vertoond. De temperatuur heeft zich bij deze dieren ook binnen de normale grenzen bewogen.



Aangezien deze proeven geen bemoedigende uitkomsten hebben gegeven ten aanzien van eventueel te verwachten longafwijkingen bij deze diersoort, op grond van de temperatuurbepalingen en de klinische verschijnselen, is er van afgezien om het konijn als object voor onze proeven aan te wenden. Al is het aantal konijnen, intratracheaal besmet met 1 cc cultuur van volvirulente *Micrococci*, gering, toch vindt men hier een bevestiging van een deel van de reeds eerder genoemde proeven van Béco.

SLOTBESCHOUWING EN SAMENVATTING

Reeds vele jaren zijn uit de kringen van de humaan medische pathologen stemmen opgegaan, waarbij men heeft aangedrongen op een zo nodig experimenteel histologisch onderzoek, met het oogmerk vast te stellen, welke de veranderingen zijn, die het influenzavirus en welke laesies de *Micrococci* of hun toxinen in de long teweeg brengen. Deze behoefte is te meer gevoeld, omdat bij de mens, in de longen van patiënten gestorven aan een secundaire micrococcuspneumonie na influenza, gedurende epidemieën en pandemieën, maar de laatste jaren ook wel bij sporadisch optredende gevallen, de longbeelden onderling en ook op verschillende plaatsen in de longen, zo sterk uiteen kunnen lopen. Men heeft zich daarbij afgevraagd, wat nu de oorspronkelijke laesies zijn veroorzaakt door het influenzavirus en daarnaast, welke reactie veroorzaken de *Micrococci* in de „gezonde” long en zo mogelijk ook, wat de invloed van deze bacteriën is op de „influenzalong”.

Wat de longlaesies betreft veroorzaakt door het influenzavirus, deze zijn bij de muis door een groot aantal onderzoekers onderzocht en naar men mag aannemen, stemmen de beschrijvingen vrijwel geheel overeen, al legt een aantal onderzoekers het zwaartepunt van de waargenomen morphologische veranderingen weleens naar uiteenlopende gedeelten van het longweefsel.

Overigens staan de longveranderingen, zoals onder andere bij dit onderzoek is gebleken, onder de invloed van de virulentie van het gebruikte influenzavirus voor de muizenlong, waardoor een aantal van deze uiteenlopende opvattingen zijn te verklaren. Uit deze onderzoekingen is onder meer gebleken, dat een sterk virulent influenzavirus de secundaire longveranderingen beïnvloedt, speciaal het tijdstip na de infectie waarop men voor het eerst oedeem in de long waarneemt; maar dat de ziekelijke epitheelveranderingen, veel minder afhankelijk van de virulentie van het virus, vrijwel in eenzelfde tempo en graad doorgang vinden.

Ook de uiteenlopende histologische veranderingen bij de mens, hebben bij de humaan patholoog-anatomen vele pennen in beweging gebracht, waardoor tenslotte bij herhaling de wens is geuit „We still

require more light on the original lesion and its cause" (Muir).

De influenzaepidemie van 1949 heeft een gereede aanleiding gevormd om bij de muis een histopathologisch onderzoek in te stellen naar de longveranderingen welke *Micrococci* veroorzaken, geïsoleerd uit patiënten, lijdende aan een secundaire micrococcus-pneumonie na influenza. Daarenboven zijn infectieproeven genomen bij deze dieren met een kortelings van de mens geïsoleerde influenzastam V. (A-,prime") en een oude laboratoriumstam W.S. (A-virus), waar bij een aantal dieren de besmetting met virus na kortere of langere tijd gevolgd is door een infectie met *Micrococci*.

Het resultaat, dat deze proeven hebben afgeworpen is:

1e. De intranasale besmetting van de muis met influenzavirus veroorzaakt onder meer necrose van het epitheel van de bronchiaalboom. Deze necrose van het epitheel vindt zowel plaats na de infectie met een sterk virulent als met een zwak virulent influenzavirus. Slechts de uitgebreidheid van de necrose is afhankelijk van de virulentie van het virus, maar deze laatste heeft vrijwel geen invloed op het tijdstip waarop de eerste verschijnselen van necrose van het epitheel na de infectie worden waargenomen.

De overige longveranderingen (hyperaemie, oedeem, collaps, etc.) staan wel veel meer onder invloed van de virulentie van het influenzavirus. Dit geldt zowel voor de graad zowel als voor het tijdstip na de infectie waarop deze veranderingen worden waargenomen.

2e. De intranasale besmetting van de muis met micrococcuscultuur veroorzaakt geen necrose van het epitheel van de bronchiaalboom. Op deze wijze kan men wel bij een aantal muizen een niet letaal verloopende haardvormige purulente (broncho) pneumonie opwekken, waarbij de *Micrococci* zich slechts korte tijd in de longen kunnen handhaven. Een enkele maal neemt men een geringe hyperplasie van het bekleedende epitheel van de luchtwegen waar.

3e. Wanneer de intranasale besmetting van de muis met influenzavirus en de micrococcuscultuur gelijktijdig geschiedt, treden de longveranderingen veroorzaakt door het influenzavirus vrijwel onveranderd of soms in een iets versneld tempo op. Ook bij deze dieren blijken de *Micrococci* zich maar korte tijd in de long te kunnen handhaven, waarbij de longveranderingen in feite die welke na alléén de micrococcusinfectie worden waargenomen, niet overtreffen.

- 4c. Wanneer tussen de intranasale infectie met influenzavirus en *Micrococci* enige tijd verloopt, kunnen deze microörganismen zich niet alleen langer in de longen handhaven, maar zij kunnen ook uitgebreidere ontstekingsprocessen, abscessen e.d. in dit orgaan doen optreden.
- 5e. Onafhankelijk van de aanwezigheid van purulent exsudaat waarin al of niet *Micrococci* voorkomen, in het lumen van bronchi en bronchioli, vindt de regeneratie van het epitheel van de bronchiaalboom, dat tengevolge van de virusinfectie necrotisch is geworden, onveranderd voortgang.
- 6e. Niet alleen de necrose van het bekleedende epitheel van de bronchiaalboom predisponeert tot de secundaire bacteriële infectie, maar ontegenzeggelijk werkt het optreden van oedeemvocht in de longen veeleer begunstigend op de vermeerdering en verspreiding van deze microörganismen. Dit oedeemvocht belemmert niet alleen de ventilatie in de longen, maar het kan ook bijdragen tot een verhoogde diffusie van bacteriën en hun toxinen naar het bloed, waarbij het tevens een aankweekvoedingsbodem bij uitnemendheid voor microörganismen vormt.
- 7e. Het is mogelijk gebleken bij muizen, besmet met influenzavirus, een secundaire bacteriële pneumonie op te wekken. De infectie met *Micrococci* dient enige tijd (2—3 dagen) na de virusinfectie plaats te vinden, wil men longbeelden verkrijgen die vergelijkbaar zijn met die beschreven bij de mens gestorven aan een secundaire bacteriële pneumonie tijdens influenza-epidemieën.
- 8e. Het fret en het konijn lenen zich niet zoals de muis voor besmettingsproeven via de intranasale respectievelijk intratracheale weg, met influenzavirus en/of *Micrococci*.

SUMMARY

For many years one of the debatable points concerning the relationship of the influenza virus to concurrent secondary staphylococcal pneumonia has been, in how far are the lung lesions in man attributable to the virus-infection, and for which lesions are the secondary bacterial invaders responsible? Concerning especially the mechanism by which the influenzal virus infection induces susceptibility to secondary bacterial pneumonias, some pathologists have the conception that this susceptibility is associated with necrosis of the epithelial cells of the respiratory tract caused by the virus infection. Other pathologists on the contrary claim that the epithelial lesions are due to the bacterial infection. It has never been proved whether these necrotic changes of the epithelium in bronchi and bronchioli, observed in lung sections of patients who died from secondary staphylococcal pneumonia during influenza, are the result of the influenzal virus infection, or whether they are caused by the staphylococci or their toxins.

Since the solution of this problem in man involves great difficulties, an experimental study was made on mice. One group of mice was infected with the influenza-virus, one group with a suspension of a culture of *Micrococcus pyogenes aureus* and another group received a combined intranasal infection, with the influenza virus and a suspension of a culture of *Micrococcus pyogenes aureus*. The following series of mice were inoculated intranasally with the influenza virus and on successive days thereafter a suspension of *Micrococcus pyogenes aureus* was introduced by the same route. Every following day a number of mice in each group was killed, and the lungs of these were collected for histological examination, as were the lungs of those which had died.

Of the two virus strains used for the inoculations, one was an influenza A-prime strain, isolated a short time before from throat-washings of a patient with influenza, by amniotic inoculation of embryonated eggs. This strain was adapted to the mouse lung after nine serial passages in mice. A 10 % suspension of lung-tissue from mice infected with this passage was prepared by diluting the ground lung with Hartleybroth, and centrifuging. From the supernatant fluid,

which served as the virus preparation, the infected control mice showed an L.D. 50.

The second virus strain used, was a highly potent strain (W.S.) giving an L.D. 50 in the control mice after diluting the lung suspension to 10^{-5} . The two strains of *Micrococcus pyogenes aureus* were isolated early post mortem from the lungs of patients who had suffered from a secondary staphylococcal pneumonia, and cultivated for only a short period on bloodagar media.

In these studies it has been shown:

- 1°: that irrespective of the virulence of the two influenzal strains, the necrosis of the respiratory epithelium in bronchi and bronchioli is seen to occur at the same time and almost to the same extent after the intranasal route had been employed. On the other hand the haemorrhagic and oedematous lung lesions are observed at different intervals. With the highly potent influenzal strain (W.S.) the oedema was seen one to two days after the infection; with a recently mouse-adapted strain (A-prime virus), fluid in the lung was seen four to five days after inoculation and was less extensive.
- 2°: The intranasal inoculation of mice with a suspension containing hemolytic staphylococci only, does not cause necrosis of the epithelium of the respiratory tract, nor does it induce a fatal infection in this animal. The microorganism was recovered up to 48 hours from some of the lungs of the mice that were killed, although the histological examination of the lungs gave, in about 25 per cent of the infected animals, a purulent bronchopneumonia. In only a few cases was a slight hyperplasia of the ciliated epithelial cells observed, which were from a number of bronchi containing purulent exudate.
- 3°: When the intranasal infection with influenzal virus and staphylococci were combined, the pathological lesions in the lung caused by the virus proceeded in the same way and almost at the same rate. A number of mice do not survive this infection, although the lesions caused by the secondary organisms hardly excel the lesions observed in the lungs of mice with a primary staphylococcal infection. The organisms could only be recovered from the lungs at autopsy 48 hours at the utmost after the infection.
- 4°: When the intranasal infection of staphylococci takes place either 24 hours or on successive days after the virus infection the mice die sooner than those receiving the virus alone and the organisms are then recovered in most cases from the lungs at autopsy.

Extensive inflammatory processes (abscesses) caused by the secondary organisms were observed in the lungs. Bacteriological and histological examinations proved that the concomitant bacteria which ordinarily do not survive in the lung, establish themselves and add to the severity of the inflammation in an influenzal virus infection.

- 5°: The regeneration of the epithelium of bronchi and bronchioli to an irregular stratified form occurs in the mouse lung after necrosis of the epithelium by the influenza virus has taken place, apart from the presence of purulent exudate and whether or not it be mixed with staphylococci, in the lumina of these bronchi or bronchioli.
- 6°: Evidence is presented that not only does the necrosis of the epithelium of the bronchi and bronchioli in mice form a factor in the inception of the secondary staphylococcal pneumonia, but it is certain that the multiplication and dissemination of these microorganisms in the lung is favoured by the presence of pulmonary oedema or fluid in the organ. This transudate not only obstructs the normal ventilation in the lungs, but it can also increase the diffusion of bacterial toxins to the blood and in addition, it forms an excellent culture medium for the multiplication of staphylococci.
- 7°: It is proven that the influenzal virus infection of the mouse induces susceptibility to the secondary staphylococcal infection. When the intranasal infection with staphylococci takes place some time (2—3 days) after the viral infection, lung lesions are seen quite comparable with those described in human lungs of patients who died from a secondary staphylococcal pneumonia during influenza.
- 8°: Ferrets and rabbits are not suitable for experimental infection with the influenza virus, or with staphylococci, by intranasal or intratracheal routes; the lesions in the lungs of these animals being equally unsatisfactory from a study point of view.

LITERATUURLIJST

- BALOGH, E. DE: Congr. IV Internaz. Patol. comp. 2. 201. 1939.
- BALLOWITZ, K.: Z. Hyg. Infekt. Kr. 125. 559. 1944.
- BÉCO, L.: C. blatt f. Bakt. u.s.w. Abt. I. 30. 260. 1901.
- BEHR, E. en HADDERS, H. N.: Ned. Tijdschr. Geneesk. 84^{III}. 3571. 1940.
- BIELING, R. en OELRICHS, L.: Mitteilungen Behringwerke 9. 28. 1938 (ref.).
- BOYD, W.: „The pathology of internal diseases”. London 1944.
- BRANNAN, D. en GOODPASTURE, E. W.: Arch. Int. Med. 34. 739. 1924.
- BURGESS, A. M. en GORMLEY, C. F.: New England J. Med. 202. 261. 1930. (ref.).
- BURNET, F. M., STONE, J. D. en ANDERSON, S. G.: Lancet 1. 807. 1946.
- BIJLMER, L.: Verh. v. h. Inst. v. Preventieve Geneesk. I. 1943.
- CALLUM, W. G. MC.: J.A.M.A. 72. 720. 1919. (ref.).
- CHICKERING, H. T. en PARK, J. H.: J.A.M.A. 72. 617. 1919. (ref.).
- Commission on acute respiratory diseases, Fort Bragg, N. C.: Science 102. 561. 1945.
- CORDOCK, H. A. MC. en MUCKENFUSZ, R. S.: Am. J. Path. 9. 221. 1933.
- DUBIN, I. N.: Am. J. Path. 21. 1121. 1945.
- DWINELL, W. G.: Am. J. Med. Sc. 158. 216. 1919. (ref.).
- DURAN REYNALS, F.: J. Exp. Med. 58. 161. 1933.
- FAZEKAS DE ST. GROTH, S.: Austral. J. exp. Biol. a. Med. Sci. 28. 15. 1950.
- FINLAND, M., PETERSON, O. L. en STRAUSS, E.: Arch. Int. Med. 70. 183. 1942.
- FRANCIS JR., T.: J.A.M.A. 105. 251. 1935.
- FRANCIS JR., T. en TORREGROSA, M. V. DE: J. of Inf. Dis. 76. 70. 1945.
- GLOVER, R. E.: Brit. J. Exp. Path. 22. 98. 1941.
- GOODPASTURE, E. W.: Am. J. Med. Sc. 158. 863. 1919. (ref.).
- HABBE, K.: D. med. Wsch. 55. 1506. 1929.
- HARFORD, C. G., SMITH, M. R. en WOOD, W. B.: J. Exp. Med. 83. 505. 1946.
- HARFORD, C. G., LEIDLER, V. en HARA, M.: J. Exp. Med. 89. 53. 1949.
- HERZBERG, K. en GROSZ, W.: Zbl. Bakt. u.s.w. Abt. I. Orig. 146. 219. 1940.
- HIMMELWEIT, F.: Lancet 2. 793. 1943.
- HORSFALL, F. L. en LENETTE, H. E.: J. Exp. Med. 72. 247. 1940.
- HOYLE, L. en ORR, J. W.: J. Path. Bact. 57. 441. 1945.
- HYDE, R. A.: Am. J. Hyg. 36. 338. 1942.
- HYDE, L. en HYDE, B.: Am. J. med. Sc. 205. 660. 1943.
- INTOSH, J. MC. en SELBIE, F. R., I: J. Path. Bact. 45. 475. 1937.
- INTOSH, J. MC. en SELBIE, F. R., II: Brit. J. Exp. Path. 18. 334. 1937.
- LACK, C. H.: Brit. J. Exp. Med. 29. 191. 1948.
- LAIDLAW, P. P.: Lancet 1. 1118. 1935.
- LANGMUIR, A. D.: Bull. John Hopkins Hosp. Balt. 83. 109. 1948.
- LETCHE, N. G. B. MC.: Canad. Med. Ass. J. Montreal. 60. 352. 1949.
- MAXWELL, E. S., WARD, T. G. en METRE, T. E. VAN: J. Clin. Invest. 28. 307. 1949.
- METRE, T. E. VAN: Bull. John Hopkins Hosp. Balt. 83. 110. 1948.
- MICHAEL JR., M.: J.A.M.A. 118. 869. 1942.
- MULDER, J. en VERDONK, G. J.: Ned. Tijdschr. Geneesk. 92^{IV}. 3837. 1948.
- MULDER, J. en VERDONK, G. J.: J. Path. Bact. 61. 55. 1949.
- NELSON, A. A. en OLIPHANT, J. W.: Publ. Hlth Rep. 54. 2044. 1939.
- OLIPHANT, J. W. en PERRIN, T. L.: Publ. Hlth Rep. 57. 809. 1942.

- OPIE, E. L., BLAKE, F. G., SMALL, J. L., en RIVERS, T. M.: „Epidemic respiratory diseases”, London 1921.
- PANTHIER, R., CATEIGNE, G. en HANNOUN, CL.: Rep. Proc. Fourth Int. Congres Microbiol. Copenhagen, 305. 1947.
- PARKER, F., JOLLIFFE, L. S., BARNES, M. W. en FINLAND, M.: Am. J. Path. 22. 797. 1946.
- PATRICK, A.: J. Roy. Army M. Corps 40. 133. 1923. (ref.).
- PERRIN, T. L. en OLIPHANT, J. W.: Publ. Hlth Rep. 55. 1077. 1940.
- REIMANN, H. A.: J.A.M.A. 101. 514. 1933.
- REIMANN, H. A.: Medicine, 26. 167. 1947.
- SCADDING, J. G.: Quart. J. Med. 6. 425. 1937.
- SCHWAB, J. L., BLUBAUGH, F. C. en WOOLPERT, O. C.: J. Bact. 41. 59. 1941.
- SMITH, W., ANDREWES, C. H. en LAIDLAW, P. P.: Lancet 1. 66. 1933.
- SMITH, C. M.: Lancet 1. 1204. 1935.
- SMITH, W.: St. Mary's Hosp. Gaz. 43. 112. 1937.
- SOLOMON, S.: J.A.M.A. 115. 1527. 1940.
- SOLOMON, S. en KALKSTEIN, M.: Am. J. med. Sc. 205. 765. 1943.
- STOKES Jr., J. en WOLMAN, I. J.: Internal. Clin. 1. 115. 1940.
- STRAUB, M.: J. Path. Bact. 45. 75. 1937.
- STRAUB, M.: J. Path. Bact. 50. 31. 1940.
- STRAUB, M. en MULDER, J.: J. Path. Bact. 60. 429. 1948. en Ned. Tijdsch. Geneesk. 92ⁱ. 2563. 1948.
- STUART-HARRIS, C. H., ANDREWES, C. H. en SMITH, W.: Spec. Rep. Ser. Med. Res. Council, London No. 228. 104. 1938.
- STUART-HARRIS, C. H. en FRANCIS Jr., T.: Journ. Exp. Med. 78. 803. 1938.
- STUART-HARRIS, C. H., LAIRD, J., TYRRELL, D. A., KELSALL, M. H., FRANKS, Z. C. en POWNALL, M.: J. Hyg. 47. 434. 1949.
- TAYLOR, R. M.: J. Exp. Med. 73. 43. 1941.
- TAYLOR, R. M. en CHIALVO, R. J.: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 51. 328. 1942.
- WELLS, W. F. en HENLE, W.: Proc. Soc. exp. Biol. N.Y. 48. 298. 1941.
- WOLBACH, S. B.: Bull. J. Hopkins-Hosp. 30. 104. 1919. (ref.).
- WOLLENMAN, O. J. en FINLAND, M.: Am. J. Path. 19. 23. 1943.

AFBEELDINGEN

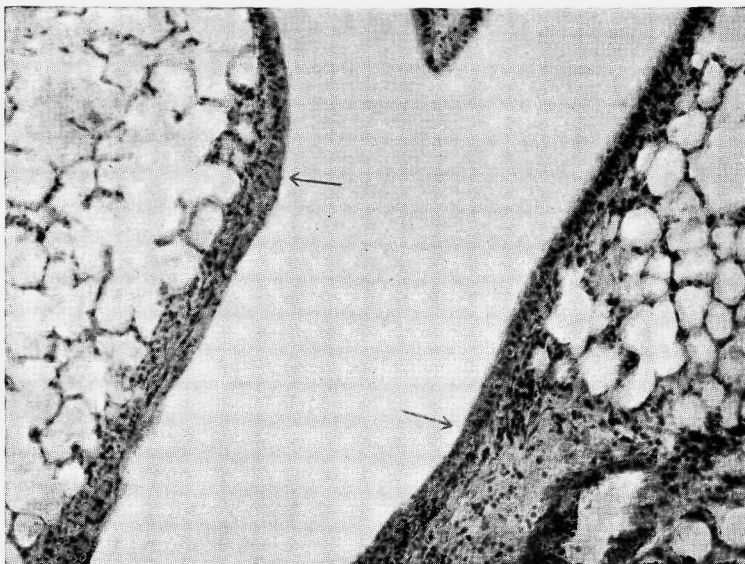


PHOTO 1

Bronchus muis besmet met influenzavirus. Onder de pijltjes necrose, erboven normaal bronchiaal epitheel
(Vergroting 150 ×)

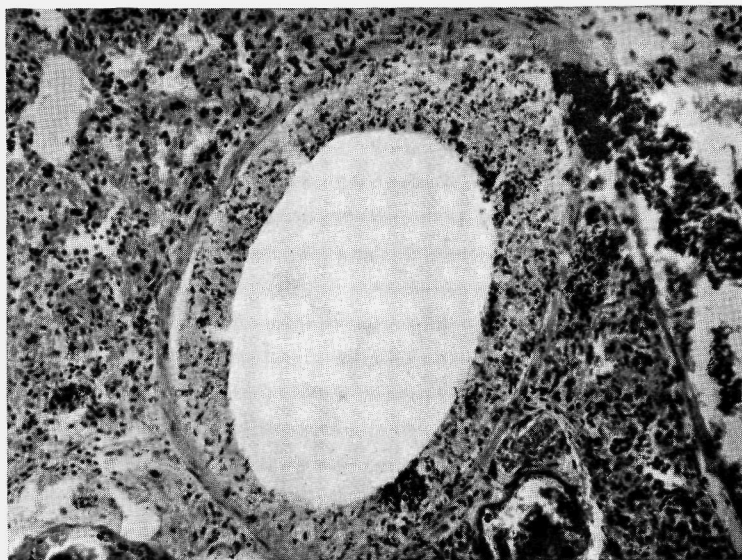


PHOTO 2

Dwarsdoorsnede bronchus muis besmet met influenzavirus. Necrose bekleedend epitheel
(Vergroting 150 ×)

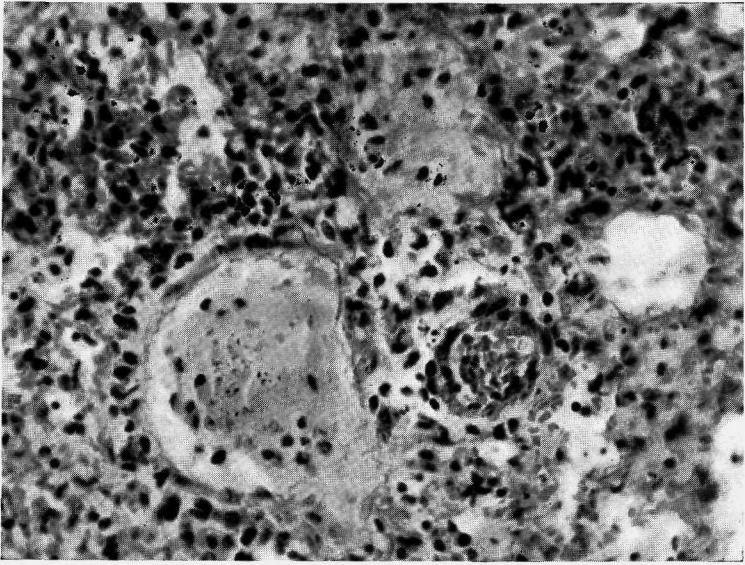


PHOTO 3

Dwarsdoorsnede bronchi muis besmet met influenzavirus. Lumen bronchi opgevuld met een prop necrotisch epitheel
(Vergroting 300 ×)

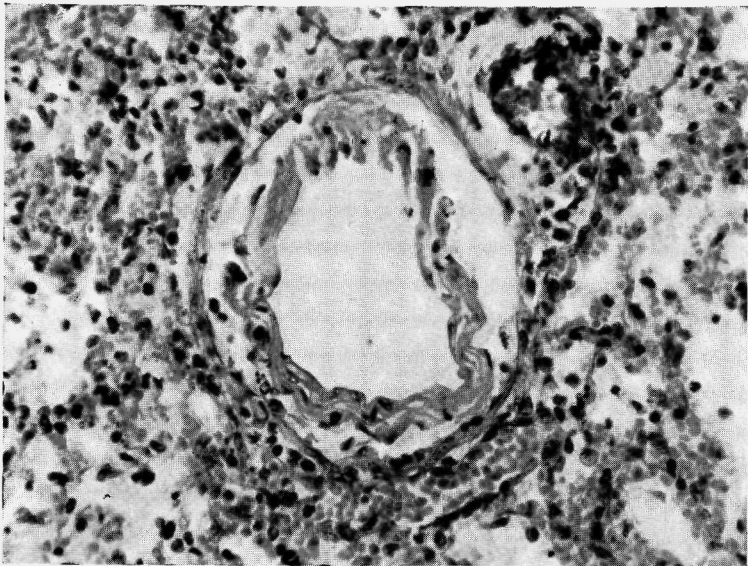


PHOTO 4

Dwarsdoorsnede bronchus muis besmet met influenzavirus. Necrose van het bekleedende epitheel, dat een „pseudomembraan” heeft gevormd
(Vergroting 300 ×)



PHOTO 5

Bronchi muis besmet met influenzavirus. Vorming van nieuw bekleedend
epitheel van proximaal uit
(Vergroting 44 ×)

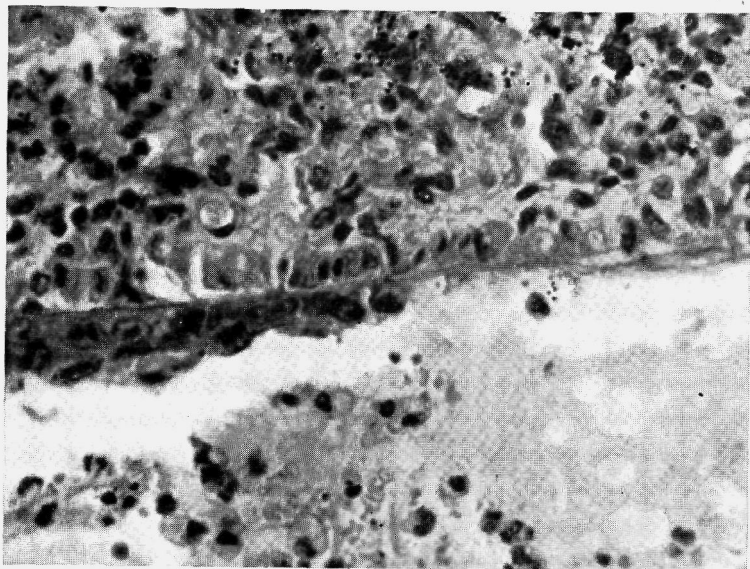


PHOTO 6

Bronchus muis besmet met influenzavirus. Vorming van nieuw bekleedend
epitheel. Detail van photo 5
(Vergroting 500 ×)

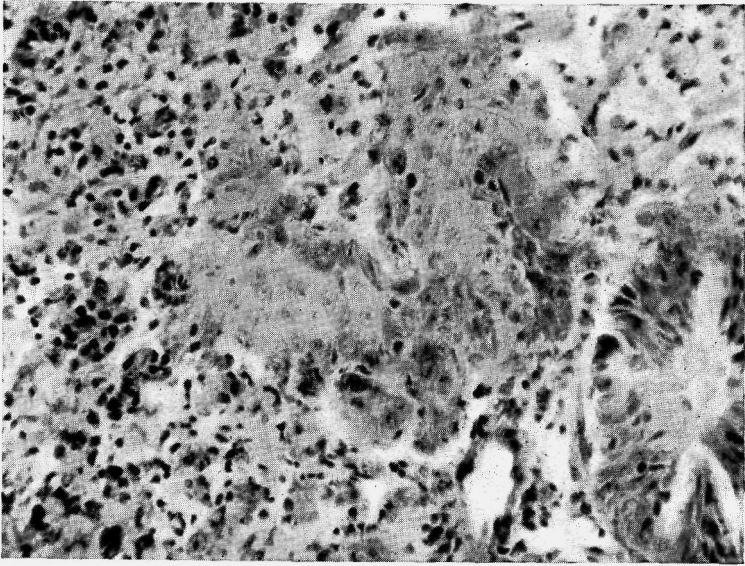


PHOTO 7

Long muis besmet met influenzavirus. Ingroei van bronchiaal epitheel in de alveolaire holten
(Vergroting 300 ×)

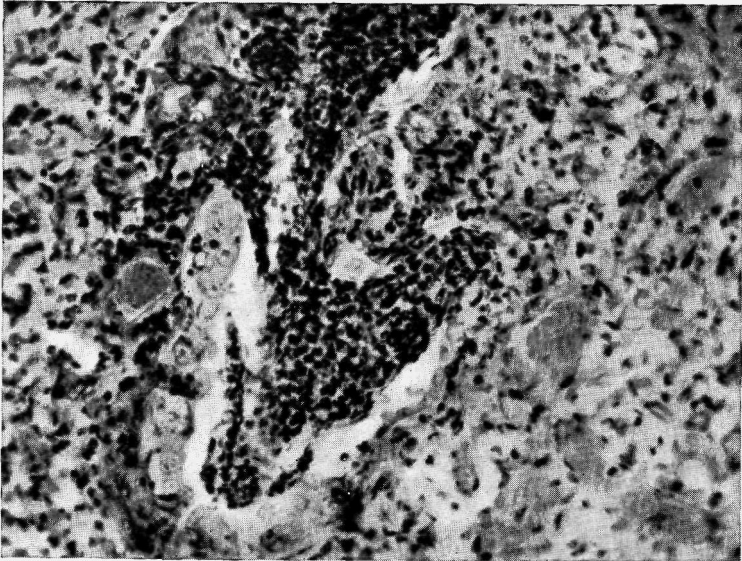


PHOTO 8

Long muis besmet met influenzavirus en micrococci. Ingroei van nieuw gevormd bekleedend epitheel in bronchus opgevuld met purulent exsudaat
(Vergroting 300 ×)

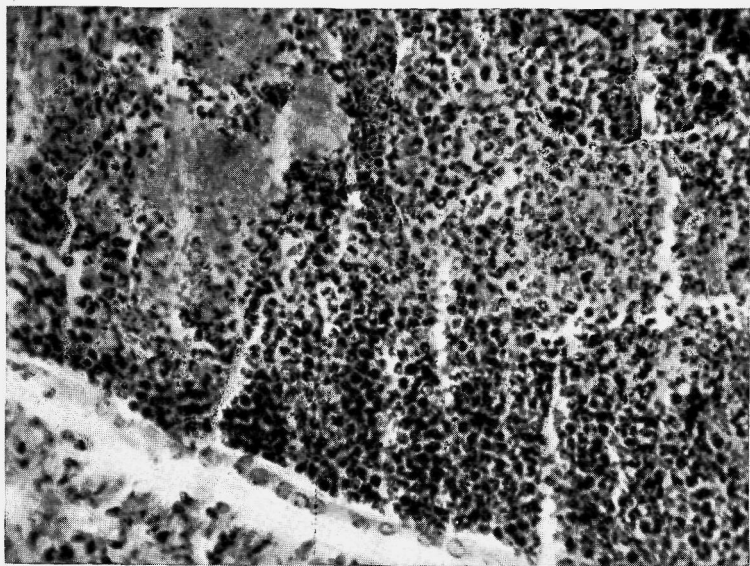


PHOTO 9

Bronchus muis besmet met micrococci. In het lumen purulent exsudaat en ophopingen van micrococci. Het bekleedende epitheel toont geen afwijkingen

(Vergroting 300 ×)

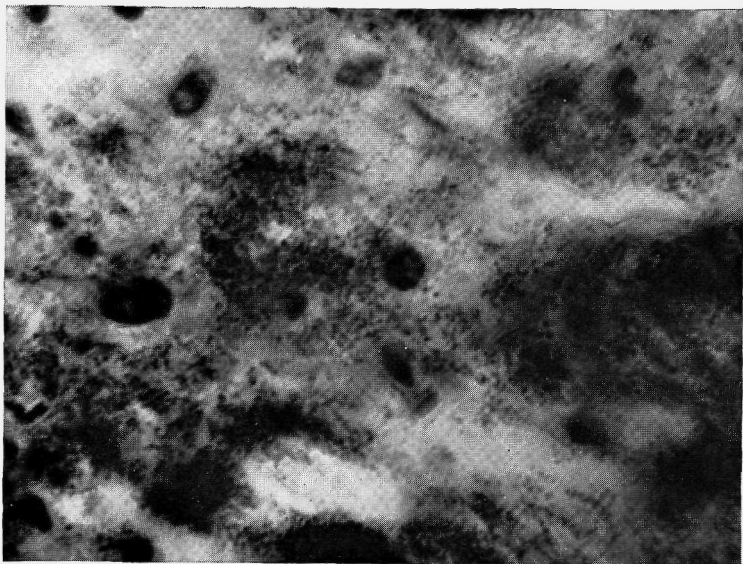


PHOTO 10

Long muis besmet met influenzavirus en micrococci. Ophoping van micrococci in alveolaire ruimten. Geen cellige reactie in het omgevende longweefsel

(Vergroting 1125 ×)

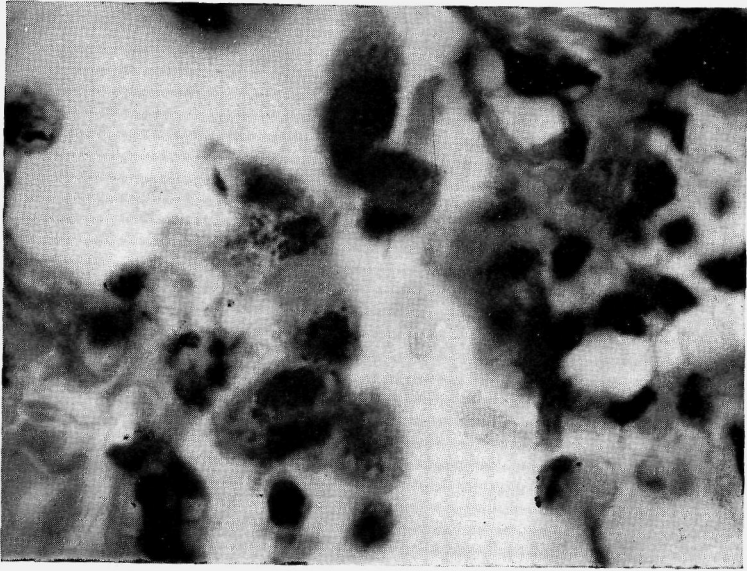


PHOTO 11

Long muis besmet met influenzavirus en micrococci. Adventitiacellen met gefagocyteerde micrococci gelegen in alveolaire holten.

(Vergroting 1125 ×)

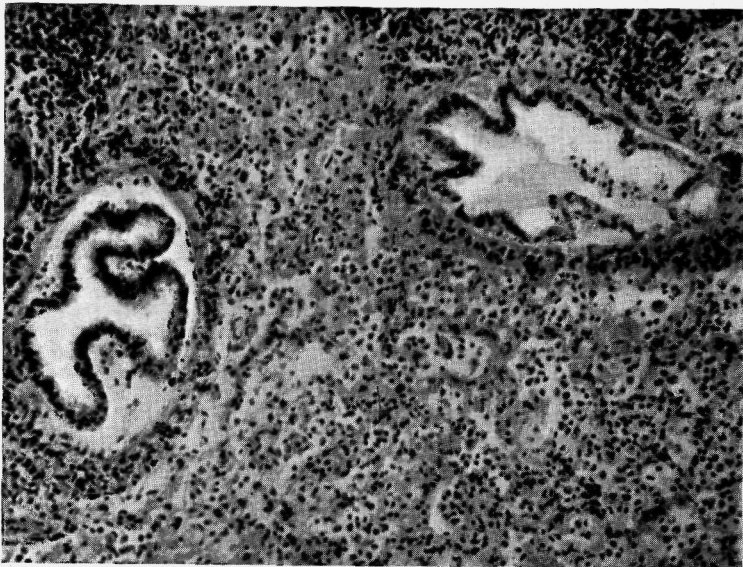


PHOTO 12

Long muis besmet met influenzavirus en micrococci. Subepitheliaal oedeem

(Vergroting 150 ×)