

Uit het Hygiënisch Laboratorium der Rijks-Universiteit

Lactobacillen en cariës. I

door Dr. K. C. Winkler en O. Backer Dirks

(Uit Dobbelmans werkgroep voor wetenschappelijk tandheelkundig onderzoek)

Bij een onderzoek, dat ten doel had den invloed van verschillende factoren op de cariës na te gaan, werden onafhankelijk van de wezenlijke vraagstelling de hieronder beschreven resultaten verkregen.

Ofschoon soortgelijke resultaten reeds door talrijke Amerikaansche onderzoekers zijn beschreven en dus niets „nieuws” werd gevonden, moge het feit dat een dergelijk onderzoek in Nederland nog niet eerder werd verricht, deze mededeeling rechtvaardigen.

A. MATERIAAL EN METHODEN

I. Omvang van het onderzoek:

Een betrouwbaar onderzoek eischt een groep proefpersonen, die in dezelfde levensomstandigheden (leeftijd, voeding etc.) verkeerden, bijv. de inwoners van een groot internaat. Door de na-oorlogsche omstandigheden kon een dergelijke groote groep niet worden gevonden, terwijl door transportmoeilijkheden de keuze uit de beschikbare instituten verder werd beperkt, dan met het oog op een goede homogeniteit van het te onderzoeken menschenmateriaal wenschelijk was.

Ter onderzoek kwamen de inwoners van de volgende internaten:

1. SU	weeshuis	60 jongens en meisjes van	6—18 jaar
2. H	fraterschool	90 jongens	„ 15—20 jaar
3. AM	opvoedingsgesticht	110 jongens en meisjes	„ 6—20 jaar
4. I	zusterschool	45 meisjes	„ 14—20 jaar
5. R	seminarie	116 jongemannen	„ 19—28 jaar
6. Z	kweekschool	62 jongens	„ 13—18 jaar

Dus 482 in totaal, waarvan 359 jongens en 123 meisjes.

De leeftjidsverdeling van het geheele materiaal is in fig. 1a, die van elk der instituten in fig. 1b afgebeeld. Zooals men ziet zijn de inwoners van H, I, R en Z allen ongeveer van één leeftjidsgroep, de internaten SU en AM zijn zeer inhomogeen wat den leeftijd betreft.

2. Van iederen proefpersoon werd:

1. een anamnese opgenomen.
2. met spiegel en sonde de status praesens van het gebit vastgesteld.
3. zoowel links als rechts, instellend op de 1e molaar een X-foto van het gebit gemaakt met een film voorzien van een „bite wing”.

4. 10 cc prikkelspeeksel verzameld door te laten kauwen op laagsmeltende vaste paraffine. Van dit speeksel werd:
- het aantal levende bacteriën, dat op serumbouillonagar groeit geteld met de in dit laboratorium gebruikelijke teltechniek¹⁾. Dit aantal zal verder worden aangeduid als het „totale” bacterie aantal.

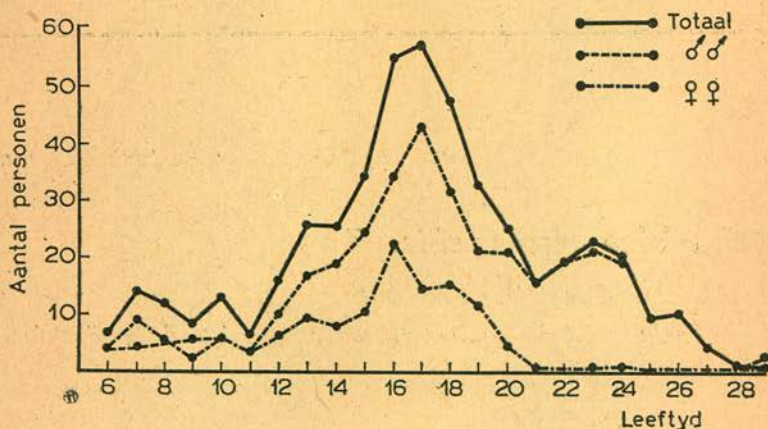


Fig. 1a
Verdeling van het aantal proefpersonen naar den leeftijd

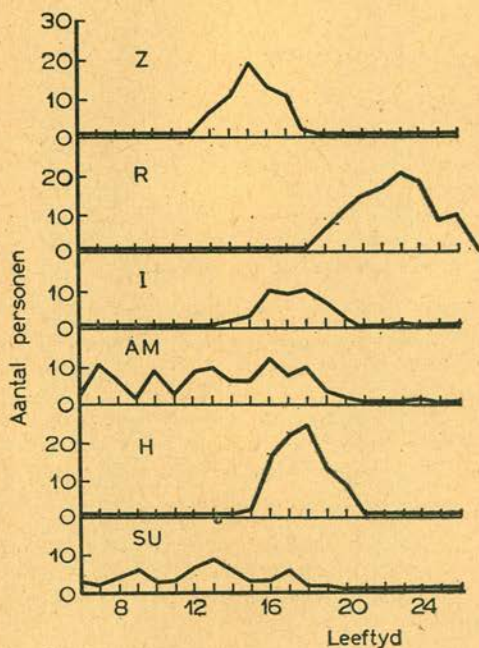


Fig. 1b
Verdeling van het aantal proefpersonen in ieder der onderzochte instituten naar den leeftijd

¹⁾ H. W. Julius. Antonie v. Leeuwenhoek 1938.

- b. het aantal bacteriën, groeiende op tomaatagar van pH 5 bepaald. Daar op dezen voedingsbodem behalve enkele gisten, vrijwel uitsluitend melkzuurbacillen groeien, zal dit aantal verder als het aantal melkzuurbacillen worden aangeduid.

Alle bacterie-aantallen zijn per standaarddruppel van $1/30 \text{ cm}^3$ opgegeven tenzij anders is vermeld. Omrekening op aantal per cm^3 kan door vermenigvuldiging met 30 of optelling van 1,48 bij de logaritmische geschieden.

- c. de pH en hoeveelheid titreerbaar zuur bepaald na toevoeging van 3,8% glucose en 24 uur verblijf in de broedstoof.

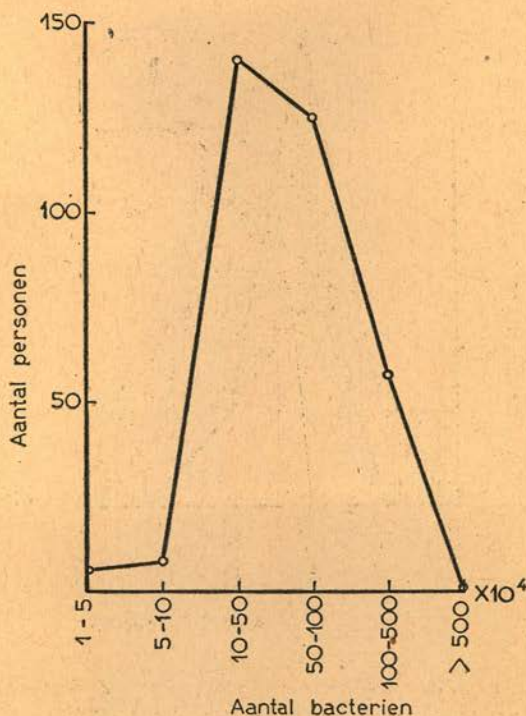


Fig. 2a

Verdeling van het aantal proefpersonen naar het totale bacterie-getal (per druppel speeksel)

In het geheel zijn ruim 14000 elementen geregistreerd, 960 X-foto's (van ruim 10000 interproximale vlakken) gemaakt, 1440 pH-metingen, 960 titraties en 1650 bacterie-tellingen verricht.

Bij de registratie der carieuze afwijkingen op de daartoe ingerichte kaarten werden de volgende regels in acht genomen.

1. Als cariës werd gerekend elke caviteit en bovendien iedere verkleuring of ontkalking, die als voor-stadium van cariës aangemerkt zou kunnen worden.

2. De caviteiten werden per vlak geteld, met dien verstande, dat een caviteit, die zich over meer dan één vlak uitstreckte een aantal punten kreeg gelijk aan het aantal aangetaste vlakken.

Approximo-occlusale resp. approximo-linguale, approximo-incisale en approximo-labiale caviteiten in praemolaren incisieven en cuspidaten kregen slechts één punt, daar hier in het overgrootste deel der gevallen de gevonden caviteit niet uit twee caviteiten zal zijn ontstaan. Per vlak werd nooit meer dan één punt gegeven.

3. Vullingen werden apart geteld. Extracties, kroon- en stiftanden werden als één vulling berekend.

Deze telling is een modificatie van een caviteiten telling volgens B ö d e c k e r¹⁾.

B. RESULTATEN

I. Totale bacterie getallen:

Het laagste gevonden aantal is 1280, het hoogste 4.775.000 per druppel. Deze uitersten komen slechts zelden voor. Verreweg het grootste aantal der proefpersonen heeft tusschen 100.000 en 1.000.000 bacteriën per druppel. Verg. fig. 2a.

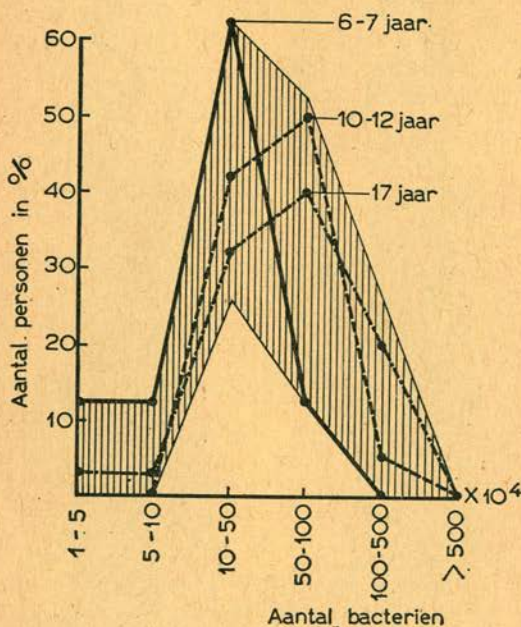


Fig. 2b

Verdeeling van het aantal proefpersonen als percentage van het totaal in elke leeftijdsgroep) naar hun totale bacterie-getal (zie verder text)

Groep I = 10.000—50.000, groep II = 50.000—100.000,

Groep III = 100.000—500.000, groep IV = 500.000—1.000.000,

Groep V = meer dan 1.000.000 bacteriën per druppel speeksel

Deze figuur is verkregen door de proefpersonen te rangschikken in groepen — bijv. groep I met 10—50.000 bacteriën per druppel speeksel, groep II 50—100.000, groep III 100—500.000, groep IV 500—1.000.000 en groep V met meer dan een miljoen bacteriën per druppel speeksel — en het aantal personen in elke groep langs de ordinaat uit te zetten.

Het gemiddeld aantal is voor alle leeftijden volkomen gelijk (tusschen 500.000 en 600.000 per druppel), behalve voor de leeftijdsgroep van 6—7 jaar, waar een iets lager getal gevonden werd.

Verdeelt men voor elke leeftijd apart de personen in groepen naar het bacterie aantal, dan verkrijgt men een aantal figuren zooals fig. 2a. De curven zijn echter niet te vergelijken, omdat het aantal personen niet in iedere leeftijdsgroep gelijk is. Door de aantallen in iedere groep als % van het totale aantal personen van dezelfde leeftijd uit te drukken, krijgt men vergelijkbare lijnen. Al deze lijnen hebben dezelfde vorm, zij vallen allen binnen den gearceerde band in fig. 2b. Voor enkele leeftijden

¹⁾ J.A.D.A. 26, 1453—1460, 1939.

zijn de lijnen zelf geteekend. De verdeling van de totale bacterieaantallen blijkt dus voor alle leeftijden vrijwel uniform te zijn, zoodat het totale bacterie-aantal in de mondholte (eigenlijk in het speeksel) tusschen 6—28 jaar slechts weinig varieert.

II. Relatie van het totale bacterie-getal tot de hoeveelheid gevormd zuur (buiten de mondholte).

In een reïncultuur is de hoeveelheid zuur, die na een bepaalden tijd door de bacteriën is gevormd, afhankelijk van de grootte van het inoculum. Indien tenminste gemeten wordt voor de zuurvorming tot staan is gekomen.

In ons geval (speekselmonsters met 3,8% glucose) wordt het eindpunt van de zuurvorming pas na 72 uur bereikt, terwijl de metingen na 24 uur plaats vonden.

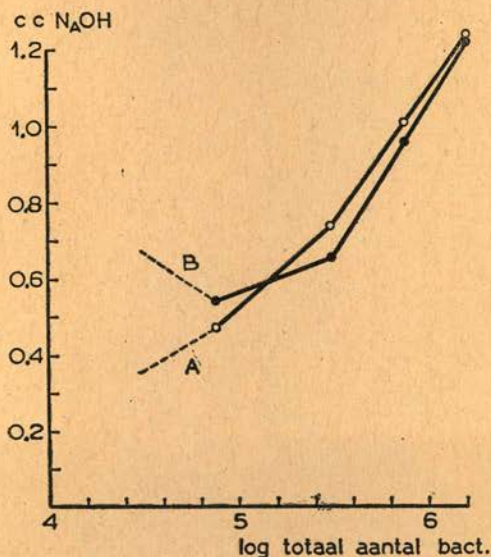


Fig. 3

Gemiddelde hoeveelheid gevormd zuur (als cc. 0,02 N.NaOH) voor de 5 groepen met verschillende totale bacterie-aantallen. Als abscis is de logarithme van elk groepmidden opgegeven. A voor AM + H, B voor AM + H + R + Z. De kleine aantallen bacteriën komen weinig voor, wat de toevallige afwijking van het eerste punt verklaart

Het is echter duidelijk, dat een directe relatie tusschen bacterie aantal en zuurvorming niet mag worden verwacht, omdat er complicerende factoren zijn:

- men heeft niet met een reïncultuur, maar met een gemengde flora van wisselende samenstelling te doen. De aanwezige bacterie-soorten zullen in verschillende mate tot de zuurvorming bijdragen en het eindresultaat zal meer van de samenstelling van de flora dan van het totale begin-aantal afhangen.
- de verschillende speekselmonsters zijn als voedingsbodem (remmende en activeerende stoffen) zeker niet gelijk.

Het verwondert ons dan ook niet, dat voor elk monster de zuurvorming niet van het totale bacteriegetal afhankelijk is.

Statistisch vallen de complicerende factoren echter tegen elkaar weg en in fig. 3 komt een duidelijk verband tusschen het totale bacteriegetal en de hoeveelheid gevormd zuur tot uiting.

III. De relatie van het aantal lactobacillen en het totale bacteriegetal.

Volgens de Amerikaansche literatuur spelen de melkzuurbacillen bij het cariës-proces een groote rol. Het is dus interessant om na te gaan, welk deel van de mondflora door de lactobacillen wordt gevormd.

Het aantal lactobacillen varieert van 0 tot 138.000. Uitgedrukt in procenten van het totale bacteriegetal loopt het van 0,003 tot 30% uiteen en varieert dus met een factor 10.000. Fig. 4 laat zien, dat de uiterste waarden zelden voorkomen en dat de meest frequente waarde 0,1 tot 0,3% is. Als men van de uitersten afziet,

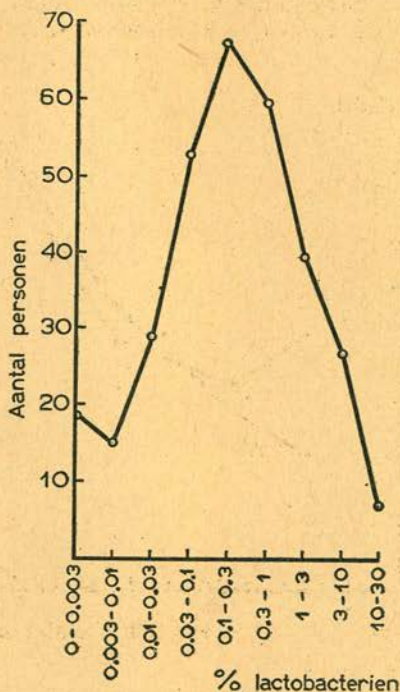


Fig. 4

Verdeling van de proefpersonen naar de hoeveelheid lactobacillen als % van de totale flora

blijkt in 70% van de gevallen het aantal lactobacillen van 0,03 tot 3% d.w.z. met een factor 100 te variëren.

Het aantal lactobacillen varieert dus zeer sterk.

Verder blijkt, dat in 83% van de gevallen het aantal lactobacillen kleiner dan 3% is.

Men vraagt zich af, hoe een relatief zoo kleine fractie nog practisch tot de zuurvorming bijdragen of bij het cariësproces een rol spelen kan. Wel moet men bedenken, dat het aantal lactobacillen op de tand, bv. in de plaque wellicht grooter is dan in het onderzochte prikkelspeeksel, al wijzen voorloopige experimenten niet in die richting. Des te wonderlijker is de conclusie:

Het aantal melkzuurbacillen is slechts een zeer kleine fractie van de mondflora.

IV. Dragen de lactobacillen bij tot de zuurvorming? (Buiten den mond!)

Het aantal complicerende factoren is hier nog grooter dan voor het totale bacterie-getal. Voor elk individu is de correlatie dan ook gering. Door indeeling van de personen in groepen met 0-10, 10-50, 50-100, 100-500, 500-1000,

1000—5000, 5000—10.000 en meer dan 10.000 lactobacillen per druppel speeksel, blijkt statistisch, dat in de groepen met meer lactobacillen de gemiddelde hoeveelheid zuur toch duidelijk grooter is (fig. 5)

Daar wij reeds vaststelden, dat een grooter totaal aantal bacteriën een grotere hoeveelheid zuur beteekent, is het mogelijk dat de correlatie in fig. 5 slechts schijn

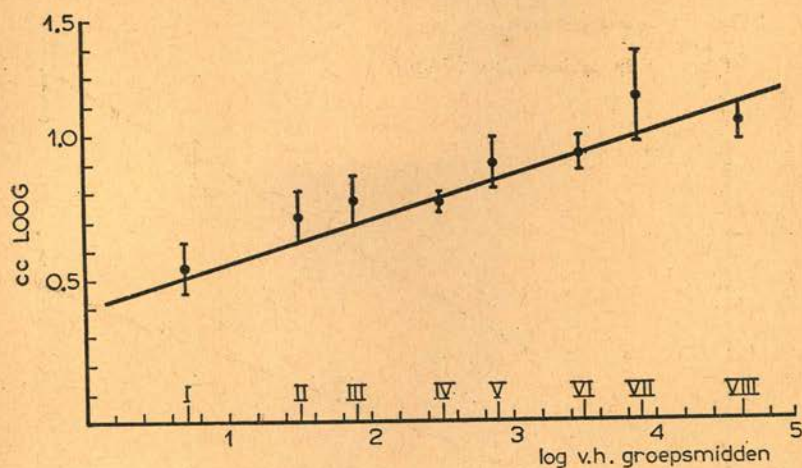


Fig. 5

Gemiddelde hoeveelheid gevormd voor de groepen met verschillende lactobacillenaantallen. De logaritmen van elk groepsmidden is als abscis uitgezet. Groep I = 0—10, II = 10—50, III = 50—100, IV = 100—500, V = 500—1000, VI = 1000—5000, VII = 5000—10.000, VIII = meer dan 10.000 lactobacillen per druppel speeksel

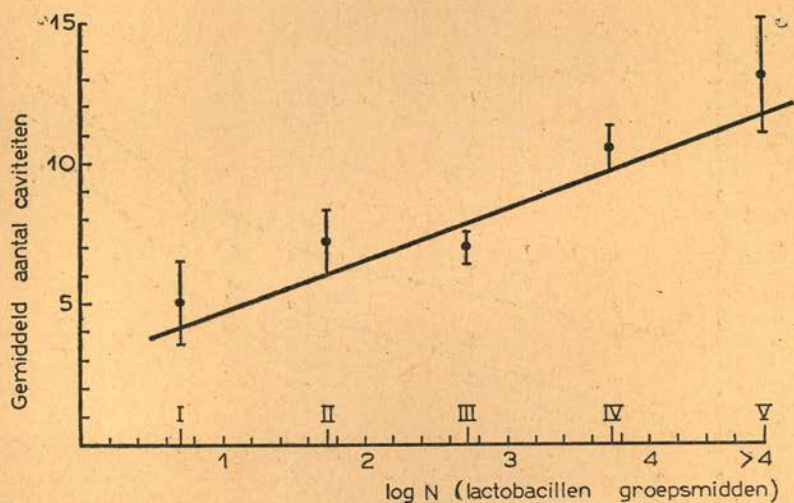


Fig. 6

Gemiddeld aantal caviteiten uitgezet tegen het aantal lactobacillen (groepen) voor instituut H (90 jongens van 15—19 jaar)
 Groep I = 0—10, II = 10—100, III = 100—1000, IV = 1000—10.000, V = meer dan 10.000 lactobacillen per druppel speeksel

is, indien namelijk een groot aantal lactobacillen ook een groot totaal bacteriegetal zou beteekenen.

Een speciaal onderzoek toont aan, dat het gemiddelde totale bacterie-aantal voor personen met lactobacilgetallen van 1 tot grooter dan 10.000 practisch niet varieert (schommelt tusschen 500.000 en 700.000), zoodat wij uit fig. 5 inderdaad

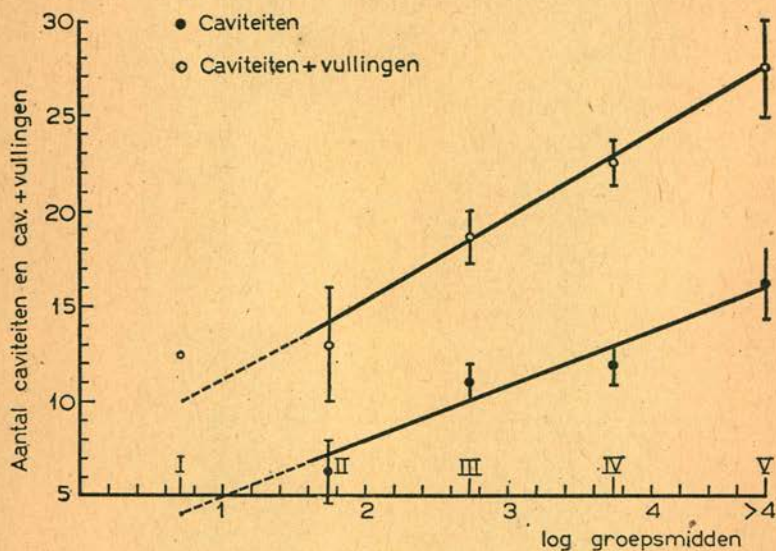


Fig. 7

Gemiddeld aantal caviteiten (punten) en caviteiten + vullingen (open cirkels) als functie van de lactobacilgroepen voor R (115 jongemannen van 19—28 jaar)

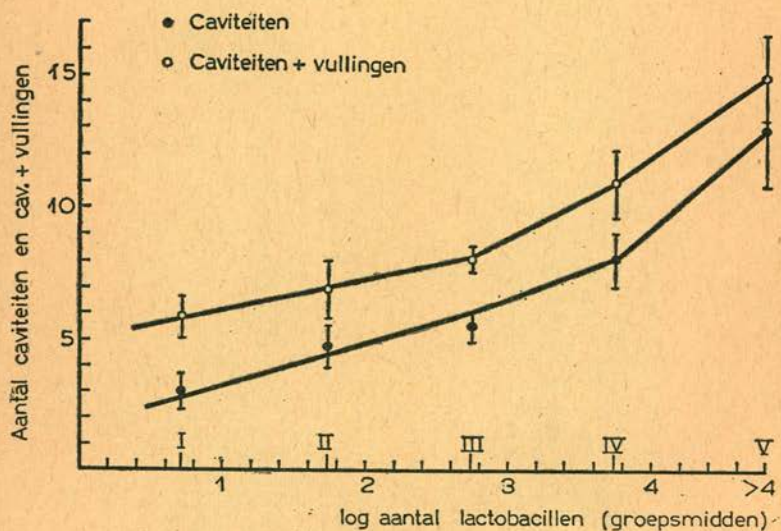


Fig. 8

Gemiddeld aantal caviteiten (punten) en caviteiten + vullingen (open cirkels) als functie van de lactobacilgroepen voor 82 jongens en meisjes uit alle instituten van den leeftijd 13 tot en met 15 jaar

mogen concluderen, dat (althans in onze proefopstelling) *de lactobacillen belangrijk tot de zuurvorming bijdragen.*

V. *De relaties tusschen melkzuurbacillen en cariës.*

a. *melkzuurbacillen en cariës.*

Het aantal caviteiten voor elk individu uitgezet tegen het aantal lactobacillen, vertoont geen correlatie (blijkbaar is het aantal complicerende factoren groot). We zullen later zien onder welke omstandigheden een individuele correlatie tusschen melkzuurbacillen en het cariësproces toch kan bestaan. Thans willen wij nagaan, of er een statistisch verband tusschen de aantallen lactobacillen en het aantal caviteiten is aan te toonen.

Door verdeling van de proefpersonen in groepen met 0—10, 10—100, 100—1000, 1000—10.000 en meer dan 10.000 lactobacillen per druppel speeksel en berekening van het gemiddelde aantal caviteiten in elke groep, zou een eventuele correlatie

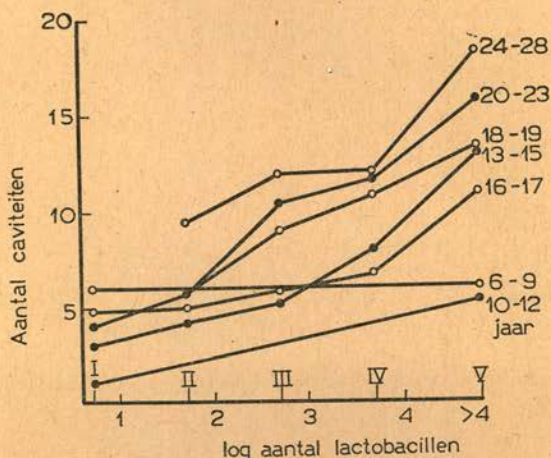


Fig. 9

Gemiddeld aantal caviteiten als functie van de lactobacilgroepen voor verschillende leeftijden. De curve voor 10—12 jaar ligt lager dan die voor 6—9 jaar omdat in de laatste curve de caviteiten uit het melkgebit zijn meegeteld

kunnen worden gevonden. Men moet dan echter het gemiddelde aantal berekenen voor een groep van personen van ongeveer gelijke leeftijd in ongeveer dezelfde omstandigheden.

De instituten SU en AM zijn wat de leeftijd betreft zeer inhomogeen en voor een dergelijke statistische bewerking niet te gebruiken. Men zou het onderzoek voor verschillende leeftijdsgroepen apart kunnen doen, de getallen worden dan echter te klein, terwijl het ook gevaarlijk is proefpersonen van denzelfden leeftijd, die in verschillende instituten, onder verschillende omstandigheden leven, in een groep onder te brengen.

Ten einde deze bezwaren tot hun recht te doen komen werd

1. voor de instituten H, I, R en Z (vrij homogeen wat de leeftijd betreft) het resultaat voor elk instituut afzonderlijk berekend, fig. 6 en 7.
2. (afziende van de verschillende levensgewoonten in de 6 instituten) voor elken leeftijd het verband tusschen lactobacillen en cariës in grafiek gebracht, fig. 8, 9 en 10.
3. een grafiek voor *alle* onderzochte personen samengesteld, fig. 11.

ad. 1. In fig. 6 en 7 is voor H en R het gemiddelde aantal tegen de logaritme van het aantal lactobacillen uitgezet. Tevens werd het aantal caviteiten + vullingen berekend¹⁾.

Het grotere aantal caviteiten bij personen met meer lactobacillen is duidelijk.

ad. 2. Fig. 8 geeft op dezelfde wijze de resultaten voor de leeftijdsgroep 13—15 jaar, waaruit ook een duidelijke relatie blijkt. In fig. 9 is het verband tusschen lactobacillen en caviteiten, in fig. 10 tusschen lactobacillen en caviteiten + vullingen voor alle leeftijdsgroepen vereenigd. Om de figuur overzichtelijker te houden zijn de gemiddelde fouten niet meer opgegeven en de lijnen door de punten zelf getrokken, behalve voor de leeftijdsgroep 6—9 en 10—12 jaar, die (eveneens

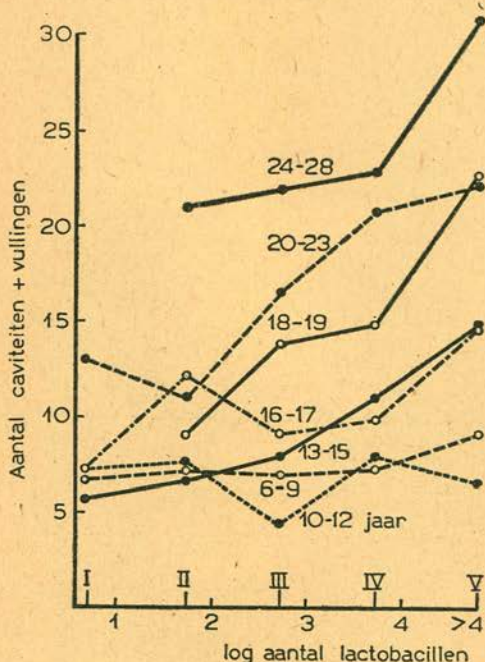


Fig. 10

Gemiddeld aantal caviteiten en vullingen als functie van de lactobacilgroepen voor verschillende leeftijden

terwille van de overzichtelijkheid) als rechte lijnen zijn getrokken (binnen de gemiddelde fouten). In deze laatste curven zijn de punten niet geteekend.

Het is duidelijk, dat voor de meeste leeftijdsgroepen in de groepen met hogere lactobacillengetalen meer cariës bestaat. Dit geldt niet voor de leeftijdsgroep 6—9 jaar en slechts in geringe mate voor de groep 10—12 jaar (zie hierover onder c).

ad. 3. Ook over het geheele materiaal (fig. 11) is de correlatie tusschen lactobacillen en caviteiten duidelijk.

Conclusie: Er bestaat een duidelijke correlatie tusschen het aantal caviteiten en het aantal melkzuur bacillen in speeksel.

¹⁾ De gemiddelde fout van elke waarneming werd volgens de formule $\eta = \frac{\sum v}{n-1}$ (n = het aantal waarnemingen, v = de afwijking van het gemiddelde), die van het gemiddelde uit de formule $\sigma = \frac{\eta}{v_{11}}$ berekend, nadat was vastgesteld, dat een Gaussche fouten verdeling optrad. Later werd (bijv. in fig. 11) de standaard-afwijking volgens de methode der kleinste quadraten berekend.

b. Het totale bacteriegetal en cariës.

De correlatie tusschen lactobacillen en cariës krijgt grootere beteekenis, wanneer men kan aantonen, dat tusschen het totale bacterie-aantal en cariës *geen* correlatie bestaat.

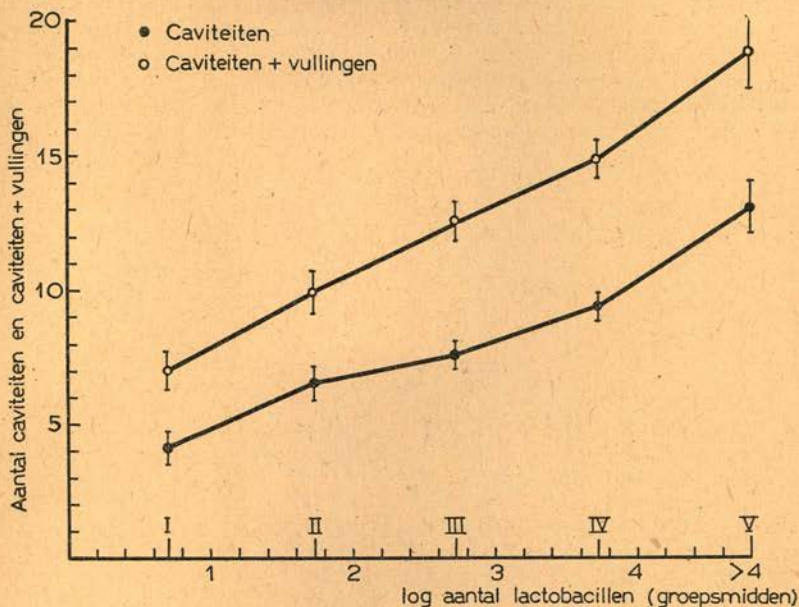


Fig. 11

Gemiddeld aantal caviteiten en caviteiten + vullingen als functie van de lactobacilgroepen voor 482 personen van alle leeftijden

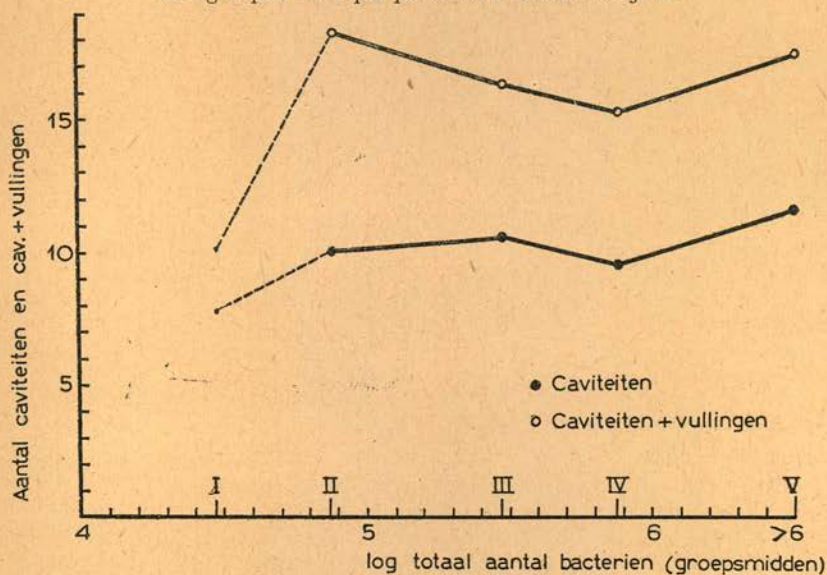


Fig. 12

Gemiddeld aantal caviteiten en caviteiten + vullingen als functie van de groepen met verschillend totaal bacterie-aantal voor 266 personen van alle leeftijden

Op dezelfde wijze als voor de lactobacillen is geschied, werd ook de relatie aantal caviteiten/totale bacteriegetal onderzocht. Terwijl het aantal lactobacillen van 0 tot 10.000, d.w.z. met een factor 10.000 varieert, loopt het totale bacterie-aantal slechts met een factor 30, nl. van 30.000 tot 1.000.000 uiteen, zoodat de groepen veel smaller moeten worden gekozen om voldoende punten te krijgen. In het algemeen werden horizontale lijnen verkregen. De voor het geheele materiaal verkregen resultaten zijn in fig. 12 afgebeeld, waarbij men moet bedenken, dat de laagste bacterie-getallen zoo zelden voorkomen, dat het eerste punt eigenlijk waardeloos is. Dit in aanmerking nemende, mag men besluiten, dat een *groter totaal bacteriegetal niet met meer cariës gepaard gaat.*

c. Wat beteekent de correlatie tusschen lactobacillen en cariës?

Men bedenke, dat correlatie nog geen causaal verband beteekent. In ons geval

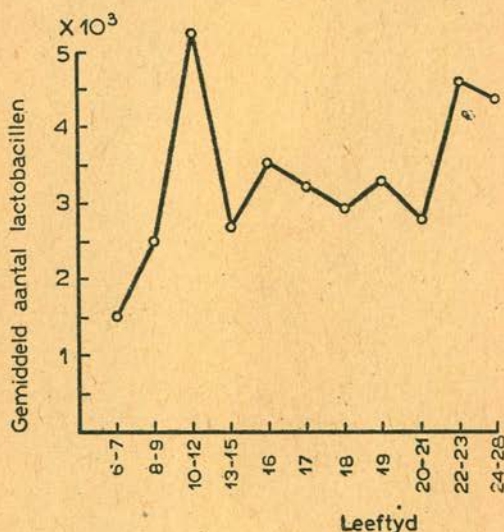


Fig. 13
Gemiddeld aantal lactobacillen als functie van den leeftijd

laat de correlatie tusschen lactobacillen en het aantal caviteiten de volgende mogelijkheden open.

- dat de lactobacillen oorzaak zijn van de caviteiten.
- dat de caviteiten oorzaak zijn van de lactobacillen.
- dat de lactobacillen en caviteiten beiden van een gemeenschappelijk oorzakelijken factor afhankelijk zijn.

Ons onderzoek geeft ons eenige gegevens, waardoor de mogelijkheid, onder *b* genoemd, kan worden uitgesloten.

1c. Uit fig. 9 blijkt, dat er in de leeftijdsgroep van 6—9 jaar een aantal kinderen zijn met meer dan 10.000 lactobacillen per dubbelt speeksel, zonder dat er veel caviteiten zijn. De lactobacillen zijn er blijkbaar het eerst en voor het ontstaan van de caviteiten is tijd nodig. Hierdoor wordt tevens begrijpelijk, waarom de correlatie lactobacillen/cariës pas op lateren leeftijd duidelijk wordt.

2c. In fig. 13 is het gemiddelde aantal lactobacillen als functie van den leeftijd uitgezet. Na een snelle „stijging” tusschen 6 en 12 jaar worden op ouderen leeftijd nauwelijks grotere getallen gevonden. Het aantal caviteiten (fig. 14) neemt echter met den leeftijd voortdurend toe.

Ook uit fig. 13 en 14 blijkt dus, dat de groote aantallen lactobacillen er eerder zijn dan de groote aantallen caviteiten, zoodat het aantal caviteiten zeker niet bepalend is voor het aantal lactobacillen.

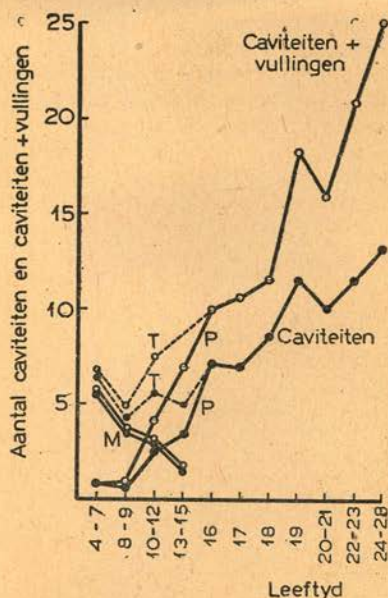


Fig. 14

Gemiddeld aantal caviteiten, caviteiten + vullingen voor het melkgebit (M), het blijvend gebit (P) en beide samen (T) als functie van den leeftijd

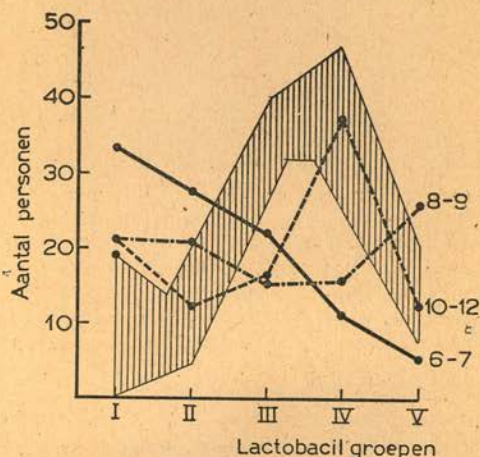


Fig. 15

Verdeeling van het aantal personen in elke leeftijdsgroep naar het aantal lactobacillen, als % van het totale aantal personen in elke leeftijdsgroep

3e. In fig. 15 is de verdeeling van de verschillende aantallen lactobacillen voor alle leeftijden weergegeven. Daar de verschillende leeftijdsgroepen niet evenveel personen bevatten, is het aantal personen in elke lactobacillengroep als % van het

aantal personen in elke leeftijdsgroep uitgedrukt. Terwijl voor het totale bacterie-aantal (zie fig. 3a) voor alle leeftijden een regelmatige verdeling optrad, is dit bij de lactobacillen niet het geval. Wel liggen voor de oudere personen alle curven in den gearceerden band, maar voor de jongere kinderen is de verdeling geheel anders. Zoo komen in de leeftijdsgroep 6—7 jaar kinderen met hooge melkzuurbacilgetallen weinig voor, in de volgende jaren ziet men speciaal de hooge getallen toenemen en pas tusschen het 10e en 12e levensjaar wordt de verdeling min of meer regelmatig, hoewel later nog een verdere verschuiving naar links optreedt. Men ziet dus als het ware de (grootere aantallen) lactobacillen met de jaren in den mond verschijnen. Anders gezegd: men ziet het maximum, dat eerst (6—7 jaar) geheel links ligt, met het 8e jaar sprongsgewijs naar uiterst rechts verspringen en dan geleidelijk naar links verschuiven.

Geheel anders is het met de cariës. In fig. 16 ziet men het maximum continu naar rechts verschuiven, de linker tak daalt met stijgenden leeftijd, de rechter tak

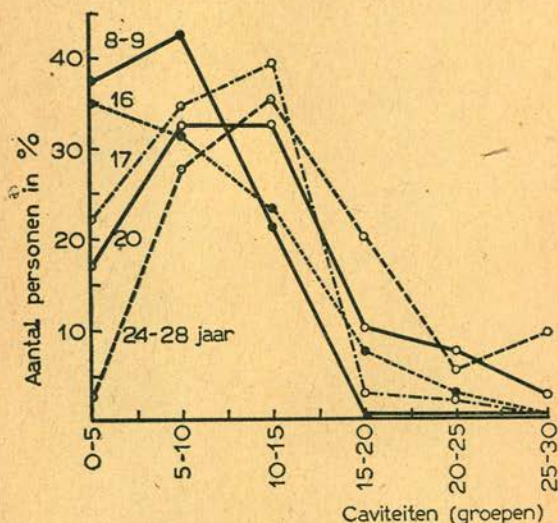


Fig. 16

Verdeling van de personen in elke leeftijdsgroep naar het aantal caviteiten. Niet alle leeftijdsgroepen zijn ingetekend. De tusschenliggende curven sluiten geheel bij de getekenden aan

schuift steeds meer naar rechts. Vergelijking van fig. 15 en 16 leert, dat na het 12e levensjaar de verdeling van het aantal lactobacillen met den leeftijd niet meer verandert, terwijl de verdeling van het aantal caviteiten voortdurend naar de grootere getallen verschuift. Ook hier zijn de groote aantallen lactobacillen er dus veel eerder dan de groote aantallen caviteiten. In wezen zijn de onder 2 en 3 genoemde argumenten natuurlijk hetzelfde.

4c. Tegen de argumenten onder 2 en 3 zou men wellicht kunnen aanvoeren dat de lactobacillen wel aan de caviteiten te danken zijn, maar niet boven een zeker maximum kunnen toenemen. Boven een zeker aantal zou een verdere verhoging van het aantal caviteiten niet tot *nog* meer lactobacillen aanleiding geven.

Deze opvatting is niet in overeenstemming met de onder 1e genoemde verschijnselen en zeker niet met de nu volgende waarneming.

Wij vroegen ons af, hoe de cariës bij personen met een bepaald lactobacilgehalte met den leeftijd toeneemt.

In fig. 17 en 18 is de toename van het aantal caviteiten resp. caviteiten + vullingen met den leeftijd voor iedere lactobacilgroep apart uitgezet. Het is duidelijk, dat de cariëstoename grooter is in lactobacillen rijkere monden. Men houde in het

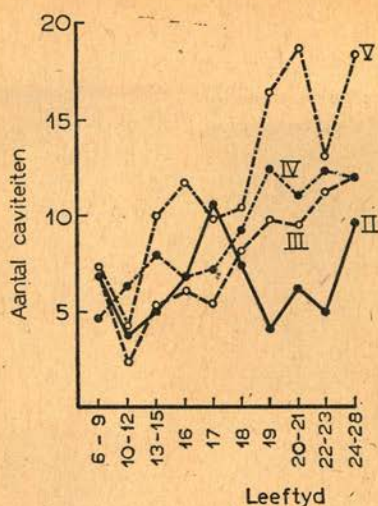


Fig. 17

Verandering van de aantallen caviteiten met den leeftijd in de verschillende lactobacilgroepen

groep II 10—100, groep III 100—1000

groep IV 1000—10.000, groep V > 10.000 lactobacillen per druppel

In groep I zijn vooral in de hogere leeftijden te weinig waarnemingen beschikbaar

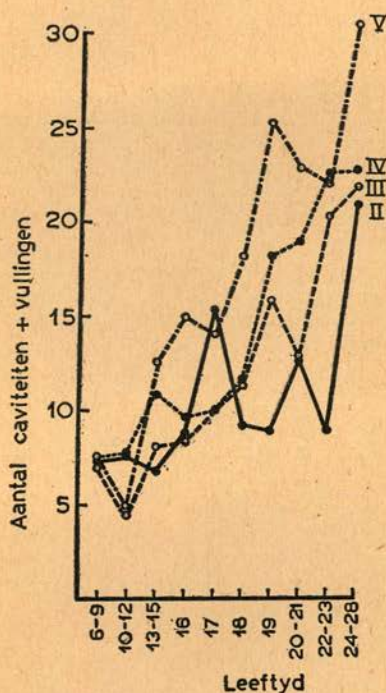


Fig. 18

Verandering van de aantallen caviteiten + vullingen met den leeftijd in de verschillende lactobacilgroepen

oog, dat hier niet een aantal personen met verschillend lactobacilgetal 20 jaar vervolgd is, maar dat de getallen bij verschillende menschen met verschillende leeftijden zijn verkregen. Dit verklaart de onregelmatigheden in de curven. De algemeene tendens is echter onmiskenbaar.

Hier ziet men, dat bij constant lactobacillengetal het aantal caviteiten toeneemt, zonder dat het aantal lactobacillen daardoor verandert. Het aantal lactobacillen hangt dus niet van het aantal caviteiten af. In ons materiaal is dezelfde relatie (grooter cariëstoename in de groep met hooger lactobacilgetal) ook voor het melkgebit aanwezig, al is het aantal waarnemingen daar voorloopig te klein om conclusie's toe te laten.

De lactobacillen zijn dus de oorzaak van de caviteiten (a) of beide zijn het gevolg van de vele oorzakelijke factoren, die bij het cariëproces een rol spelen (c).

Het zij uitdrukkelijk gezegd, dat men op grond van dit onderzoek niet tusschen deze beide mogelijkheden kan kiezen, al moet men wellicht op andere gronden aan de laatste mogelijkheid (c) de voorkeur geven.

Deze resultaten sluiten geheel aan bij de vondsten van vele Amerikaansche onderzoekers, die reeds lang het lactobacilgehalte als een indicator voor de cariësgoedigheid beschouwen.

Bovenstaande resultaten toonen o.i. hoe vruchtbaar een dergelijk systematisch onderzoek — zelfs wanneer het door de na-oorlogsche omstandigheden met vele tekortkomingen is behept — kan zijn. Wij hopen over de verdere resultaten spoedig te berichten ¹⁾.

Samenvatting:

Bij 482 personen in verschillende internaten werd met spiegel, sonde en X-fotoden toestand van het gebit onderzocht. Tevens werd het totale bacterie-aantal, het lactobacilgetal en de zuurvorming in het speeksel (na toevoeging van glucose) onderzocht.

Het onderzoek laat de volgende conclusies toe:

1. Het gemiddelde totale aantal bacteriën in de mondholte ondergaat tusschen het 6e en 28e levensjaar nauwelijks eenige variatie.
2. Er bestaat een duidelijke correlatie tusschen het totale bacterie-aantal en de in het speeksel gevormde hoeveelheid zuur.
3. Het aantal lactobacillen is slechts een kleine fractie (0,1—0,3%) van de totale flora.
4. De lactobacillen dragen toch belangrijk tot de zuurvorming bij.
5. *Er is een nauwe correlatie tusschen de hoeveelheid lactobacillen en het aantal caviteiten.*
6. Er is geen verband tusschen het totale bacteriegetal en het aantal caviteiten.
7. *De lactobacillen zijn de oorzaak van de caviteiten of beiden zijn het gevolg van de vele oorzakelijke factoren, die bij het caries proces een rol spelen.*

¹⁾ Het zij mij vergund hier dank te brengen, aan de directie het onderwijzend personeel en vooral aan de leerlingen van de onderzochte instituten voor de groote medewerking, die wij bij het onderzoek ondervonden.

Over Penicilline *)

door Prof. Dr. H. W. Julius

Spreker heeft het verzoek ontvangen, om het een en ander te vertellen over penicilline. Het is moeilijk om over dit onderwerp te spreken, omdat men de gegevens over het penicilline met een dergelijken spoed in de couranten kan vinden, dat het practisch uitgesloten is om er wat nieuws over te vertellen, zoodat spr. dus angstvallig er voor moet waken, dat hij zijn gehoor niet al te veel als journalist voorkomt. Hij zal dus trachten ook nog iets over het penicilline mede te deelen, dat men niet in de couranten vindt, of datgene te verbeteren, wat wel in de couranten gestaan heeft, doch gebleken is niet juist te zijn. Misschien dat ook dat zijn nut kan hebben.

Penicilline staat op het oogenblik bekend als een soort wondermiddel, als een geneesmiddel tegen alles en nog wat, waarvan men de grenzen niet wenscht te zien, zou spr. bijna zeggen. Wanneer men evenwel het penicilline zijn juiste plaats wil toewijzen, dan is het noodzakelijk, dat men het op zijn mérites beoordeelt, maar alvorens dat te kunnen doen, is het onvermijdelijk, een overzicht te geven aangaande de plaats van het penicilline in de wetenschap.

Wellicht zal het de toehoorders eenigermate teleurstellen, wanneer over de practische toepassingen van het penicilline betrekkelijk summier gesproken wordt. Datgene echter wat men feitelijk over de kliniek van het penicilline behoort te weten, kan men vrij gemakkelijk in de desbetreffende publicaties, die langzamerhand toegankelijk zijn, vinden. Het ligt dus niet in spr's bedoeling om het penicilline in hoofdzaak van dezen kant te belichten, maar veeleer de plaats van het penicilline in de wetenschap, waar het middel vandaan gekomen is en wat dit nu eigenlijk beteekent. Dit zou hij in tweeën willen indeelen, n.l.: wat is penicilline en waar staat het in de wetenschap en ten tweede: wat kan men met penicilline doen?

Penicilline is in meer dan een opzicht a.h.w. uit de lucht komen vallen. Het kan bekend worden verondersteld, dat in het jaar 1929 Prof. Fleming van het St. Mary's Hospital te Londen toevallig de waarneming deed, dat op een voedingsbodem die in plaatvorm gegoten was en waarop bacteriën zich ontwikkelden, een schimmel voorkwam, een van die dingen, die de bacterioloog in het laboratorium herhaaldelijk ervaart en wat hij altijd aanziet als iets dat hem stoort en hindert, iets waarbij hij altijd even het schaamrood naar de kaken voelt stijgen, omdat het eigenlijk niet hoort, dat hij zijn platen verontreinigt en hij zóó moet werken, dat die verontreinigingen van de lucht uit niet plaats vinden. Maar niettemin, dat was nu in het laboratorium van Prof. Fleming geschied en hij heeft daarbij een verschijnsel geconstateerd, dat té opvallend was, dan dat hij het, en spr. zou bijna zeggen met de naïeve nieuwsgierigheid van een begenadigd onderzoeker, voorbij kon laten gaan. Het was dus een eenvoudige Petrischaal, waarop geënt was een staphylococ. Deze ontwikkelde zich tot kolonies, die met het bloote oog zichtbaar waren, dat wil dus zeggen, tot een $1\frac{1}{2}$ mm groote stip van bacteriemateriaal. In een der hoeken viel hem toen op een schimmel met de bekende draadstructuur en deze schimmel was rondom de eene spoor, die daar terecht was gekomen, uitgegroeid. Hiermede heeft spr. eigenlijk al het verschijnsel, waarom het gaat, geteekend. De bacterien n.l., de staphylococcen, waren uit de buurt van die schimmel gebleven. En daar was niet zoo maar één betrekkelijk kleine afstand tusschen, maar daar was een groote afstand van $1\frac{1}{2}$ tot 2 cm toe, waar de staphylococ niet gegroeid was. Dit verschijnsel was zoo opvallend, dat Fleming direct heeft geconcludeerd, dat door deze schimmel een stof afgegeven moest worden, die de groei van de staphylococ tegengaat en hij heeft nu in de periode van 1929—1930 zoo ongeveer een studie gemaakt van de afscheidingsproducten van deze schimmel en is inderdaad tot de conclusie gekomen, dat deze schimmel,

*) Naar een voordracht gehouden in de Vereniging van Nederlandsche Tandartsen op 19 Maart 1946.

wanneer zij op een voedingsbodem groeit, een product maakt, dat heel duidelijk tegen de staphylococ gericht is. Dat product nu heeft hij genoemd penicilline. Dat was een wetenschappelijk aardigheidje, zou men haast kunnen zeggen. Daar praatte en dacht men eens over, maar daar bleef het bij, behalve dan dat Fleming een heel duidelijke en bepaalde toepassing voor dat penicilline gevonden heeft, die hierop neerkomt: Het blijkt, dat lang niet alle bacteriën voor penicilline gevoelig zijn. Integendeel, dat is beperkt tot een vrij klein aantal bacteriën, n.l. tot die bacteriën, die zich, ten opzichte van de Gramkleuring, d.i. de kleuring volgens Gram, die in de bacteriologie zeer gebruikelijk is om de verschillende bacteriën te onderscheiden. Penicilline werkt op bacteriën, die z.g.n. Gram-positief zijn. Die kleuring splitst n.l. het geheele bacteriënrijk in tweeën, doordat er bepaalde bacteriën zijn die de kleur wel en andere die de kleur niet aannemen. Zij die de kleur aannemen noemt men Gram-positief en die ze niet aannemen noemt men Gram-negatief. Nu blijkt het, dat penicilline in hoofdzaak werkt, enkele uitzonderingen daargelaten, op de Gram-positieve bacteriën en niet, of practisch niet, op de Gram-negatieve, enkele uitzonderingen daargelaten, zooals gezegd, want een paar van de organismen, waarop penicilline ook zeer krachtig werkt, die zeer gevoelig voor deze stof zijn, zijn de verwekkers van de gonorrhoe en de hersenvliesontsteking, die door het penicilline worden onderdrukt. Nu was Fleming bezig met een onderzoek van de verschillende keelbacteriën en hij had groote moeite met sommige Gram-negatieve bacteriën, met name den influenza- en den kinkhoestbaci, — de influenzabaci, die niets te maken heeft met de influenza maar die altijd nog dezen foutieven naam draagt. Het is heel moeilijk om deze bacteriën te scheiden van de andere, die heel kieskeurig zijn en in de mond-, neus- en keelholte voorkomen. Fleming heeft nu door penicilline aan den voedingsbodem toe te voegen, bereikt dat het mogelijk is om deze verschillende bacteriën te onderdrukken ten gunste van den influenzabaci en op die manier heel gemakkelijk den influenzabaci uit een zeer moeilijk te ontwarren flora van de keelholte vrij te krijgen. Hij heeft dit dus gebruikt om reïncultures mede te maken. Spr. acht het niet onbelangrijk om dit direct te onthouden, omdat dus van af het allereerste oogenblik bekend is geweest, dat penicilline werkt op sommige bacteriën en op andere in het geheel niet.

Is nu penicilline in den vorm zooals spr. het thans behandelt, onverwacht gekomen? Dat is zeker niet het geval. Het heeft een zeer lange voorgeschiedenis, die in het algemeen niet bekend is, omdat zij zich heeft afgespeeld op zoodanig beperkt wetenschappelijk terrein, dat er vrijwel niets van naar buiten is doorgedrongen. Met betrekking tot toepassingen op dit gebied kent men eigenlijk alleen maar een aantal fantasieën, die in den tijd, waarin zij geuit werden, inderdaad naar het rijk van de fantasie verwezen zijn. Men heeft eigenlijk nooit bevroed, dat hier een zoodanig uiterst belangrijk practisch terrein ter ontginning gelegen was. De geschiedenis is eigenlijk zoo oud als de menschheid wanneer men het objectief bekijkt en van subjectief-wetenschappelijke standpunt, zoo oud als de bacteriologie. Pasteur, met zijn medewerker Joubert, had reeds aangetoond, bij het onderzoeken van miltvuur, dat er verschillende bacteriën zijn te kweken, waardoor de groei van den miltvuurbaci onderdrukt wordt en dat het zelfs mogelijk is om bij aanwezigheid van andere infecties de infectie met den miltvuurbaci, die uitermate kwaadaardig is b.v. voor de muis, gedurende geruimen tijd te onderdrukken, te verhinderen om aan te slaan. Het bleek dus, dat twee bacteriën in hetzelfde organisme kunnen concurreeren om den voorrang. En inderdaad, in den tijd dat Pasteur zich daarmede bezig hield, heeft hij de veronderstelling geuit, dat hier wel eens een mogelijkheid in zou kunnen schuilen om de infectieziekten, waarvan men het noodige te vreezen heeft, te onderdrukken.

Wanneer men nu nagaat, hoe het staat met de bacteriën in de natuur, dan komt men al spoedig tot de conclusie, dat de strijd om het bestaan juist in de micro-wereld, zooals Pasteur dat genoemd heeft, zeer sterk gespecialiseerd is. Wanneer men in den bodem, ergens in de natuur, bacteriën brengt, dan ziet men vaak, dat deze bacteriën daar geen mogelijkheid vinden om te leven, terwijl, wanneer men ze brengt in overigens dezelfde omgeving, maar ontdaan van zijn

natuurlijke bacteriën, het voortbestaan, resp. de vermenigvuldiging van eenzelfde bacteriesoort, welke het dan ook zij, zeer wel mogelijk is. Dat wil dus zeggen, dat in de natuur de bacteriën de mogelijkheid hebben om elkaar te bestrijden en dat doen zij zoo effectief, dat in bepaalde constellaties van bacteriegroeperingen een vreemde ten eenen male niet toegelaten wordt. Wil men het iets minder wetenschappelijk uitdrukken, dan kan men zeggen, dat het heele voortbestaan van het leven ten slotte hierop gebaseerd is, dat een andere vorm van leven niet toegelaten wordt. Voor dit begrip heeft men een naam gevonden, alleen maar ter omschrijving en ter vergemakkelijking: antibiosis, de tegenstelling dus tusschen de verschillende levende soorten. Hieraan is nu omtrent 1900 duidelijk vastere vorm gegeven door de onderzoekingen van E m m e r i c h vlak staande bij datgene wat op dit oogenblik de gemoederen zoozeer in beroering brengt, zoodat spr. niet kan nalaten hierover even in details te treden.

In den Fransch-Duitschen oorlog was waargenomen, dat een groot aantal gewonde soldaten het leven verloren niet door den omvang van hun verwondingen, maar ten gevolge van de infectie en de wondkoortsen die daarop volgden, zoodat de tafereelen in de hospitalen hartverscheurend genoemd konden worden. In deze hospitalen nu kwam het herhaaldelijk voor, dat gemeene, geïnfecteerde wonden, aanleiding gevende tot wondroos, tot bloedvergiftiging of iets dergelijks, soms plotseling een ander aspect konden gaan vertoonen, zoodat de bloederige, dikke etter, die uit de wond vloeide, veranderde in een eigenaardigen, ietwat naar zwavel riekenden lichtblauw, gelen, groenachtigen etter, die een zeer sterken afvloed uit de wond vertoonde en waarbij bleek, dat het aspect eigenlijk ten goede keerde, ondanks het feit dat de pusvorming enorm toenam. Men kon zien, dat onder de verbanden, kletsnat van dezen dunnen etter, de wond goed granuleerde, genas, terwijl men eigenlijk verwachtte, dat het mis zou gaan. Het bleek nu, dat zich in deze wond ontwikkeld had een *bacillus pyanosus*, de bacil die den blauwen etter veroorzaakt en dat de oorspronkelijke etterverwekkers uit de wond verdwenen. Het lichaam kon vrij gemakkelijk afrekenen met deze pyanosis. Niet, dat de patiënt er niet flink ziek van kon zijn, maar deze bacterie was in ieder geval veel minder levensbedreigend dan de coccen die te voren in de wond voorkwamen. E m m e r i c h nu heeft, in samenwerking met S a i d o, een stof uit deze pyanosis gehaald, dië in staat is om vrij duidelijk verschillende bacteriën te doden. Dat was dus voor het eerst een doelbewuste, stoffelijke verwezenlijking van het principe van de antibiosis. Deze pyocyanase heeft gedurende geruimen tijd eenige toepassing gevonden en was tot in de periode waarin wij thans leven te verkrijgen. Zij had, en heeft nog wel, aanhangers, al is het ook wel bekend, dat men zich hiervan zeker geen wonderen moest voorstellen, maar het bleek toch, zoowel in de experimenten als hier en daar in de klinieken, dat deze stof, die bereid werd door een pyanosus-cultuur te laten leven en daarna van den bacil de vloeistof te scheiden, eenige therapeutische waarde heeft. Anthrax, miltvuur, onmiddellijk na de infectie behandeld met deze pyocyanase, sloeg niet aan. Diphtherie, staphylococceen-infecties e.a. waren duidelijk daarmede te beïnvloeden, hoewel niet al te betrouwbaar.

Rondom dienzelfden tijd vond te Utrecht een onderzoek plaats dat den doofpot is ingegaan, maar dat eigenlijk in geheel dezelfde richting leidde. Dat is n.l. het werk geweest van EYKMAN, wiens verdiensten op ander gebied zoodanig dit werk hebben overschaduwd, dat men gerust kan zeggen, dat het totaal in het vergeetboekje is geraakt en dat men wel ter plaatse op de hoogte moet zijn om in de mappen van het laboratorium toch nog enkele publicaties hierover aan te treffen. E y k m a n had gevonden, dat het niet mogelijk was om op een voedingsbodem, waarop een bacterie X groeide, opnieuw deze zelfde bacterie te enten. Hij heeft dit verschijnsel genoemd antagonisme en wel met de toevoeging auto-antagonisme, omdat hij ook het bestaan ontdekt had van een hetero-antagonisme. Wanneer men een coli-bacil, den bekenden darmbewoner bij uitnemendheid, ent op een voedingsbodem en men scheidt van dezen voedingsbodem daarna de bacteriën, dan lukt het niet om daar opnieuw deze bacterie te enten, terwijl het wel lukt om er een andere op te enten, zij het ook niet alle. Vandaar dat in de eerste plaats bekend is een auto-antagonisme ten opzichte van de bacterie zelf en in de tweede plaats een

hetero-antagonisme, omdat men ook andere bacteriën onder invloed van deze remmende stoffen kan krijgen. Dit is echter geen kwestie van uitputting van den voedingsbodem. Wanneer men dezen voedingsbodem verhit, dan laat hij wel degelijk deze bacillen weer toe. Ook E y k m a n heeft duidelijk gevoeld, dat hier een stoffelijke basis aan ten grondslag moest liggen, maar hij heeft dit onderwerp laten rusten, geabsorbeerd als hij was door andere, voor hem belangrijkere vraagstukken. Het is echter merkwaardig, dat men in de publicaties van E y k m a n geheel denzelfden gedachtengang terugvindt als oorspronkelijk in de proeven van F l e m i n g, die spr. daareven noemde, n.l. dat dit toch het middel moest zijn om een bepaalde bacterie uit een mengsel te onderdrukken en die bacterie, die men graag in handen wil hebben maar die men niet kan isoleren omdat zij van de andere nadeel ondervindt, naar voren te halen. Ook E y k m a n heeft deze proeven gebruikt om een zuiver mengsel op een gemakkelijke wijze te bereiken.

Omstreeks dienzelfden tijd zijn andere proeven genomen, die ook op dit gebied liggen en die iedereen kent, zij het dan ook dat men daar een geheel andere entrée toe heeft dan via de wetenschap. Die ligt n.l. in de keuken. Wanneer men yoghurt eet, dan wordt van een dergelijke handeling een zeer hoogen ouderdom voorspeld. Het is bekend, dat deze opvatting zijn grondslag vindt in de theorie van M a t s c h n i k o f f, een leerling van P a s t e u r, die zich afvroeg, hoe het verouderen moest worden verklaard. Zijn antwoord was: dat oud worden danken wij aan al die boosdoeners van bacteriën, die wij in het darmkanaal mededragen en die het er op aanleggen om ons van af de geboorte tot aan het einde toe langzaam en sluipend met hun stofwisselingsproducten te vergifigen. Kunnen wij deze bacterieflora onschadelijk maken, dan zal veel van onze lichamelijke ellende daarmede tevens verdwijnen. Nu is het niet gemakkelijk, om in een natuurlijk proces als de antibiosis in te grijpen, omdat de natuurlijke evenwichten gecompliceerd, maar hecht gefundeerd zijn. Niettemin heeft M e t s c h n i k o f f getracht om de darmflora te beïnvloeden en wel door daar in te brengen melkzuurbacteriën, die inderdaad gedurende eenigen tijd wel in staat zijn om den colibacil, dien hij als den schuldige meende te moeten aanwijzen, te verdringen. Op dien grond heeft hij aanbevolen om, door yoghurt te eten, dezen melkzuurbacil in zoodanig reusachtige aantallen binnen te brengen, dat de colibacil eenvoudig niet tot ontwikkeling kon komen. Dat dit niet zoo maar tot het gewenschte, resp. verwachte resultaat geleid heeft, behoeft wel niet te worden gezegd. Al mag dan de gemiddelde ouderdom aanmerkelijk gestegen zijn, het is niet te danken aan de yoghurt, maar in ieder geval heeft men inzicht gekregen in de zeer belangrijke antibiosisprocessen, die ook in het menschelijk lichaam plaats vinden. Spr. behoeft hierbij maar te herinneren aan de bacterieflora in de mondholte, in de keel- en in de neusholte en aan de bacterieflora in de vagina, waarin een bepaalde constellatie zich ontwikkelt, die uiterst moeilijk andere bacteriën toelaat. Deze constellatie, en dit is ook niet onbelangrijk, is herhaaldelijk individueel bepaald. De mondflora is bij den een anders dan bij den ander. Deze mag men afhankelijk stellen van de antibiosis, die de mensch, als levend wezen, ten opzichte van de bacteriën in de mondholte zelf mede in den strijd brengt. Deze factor is afhankelijk van de samenstelling, den rijkdom, den zuurgraad enz. van het speeksel en al wat daaraan vastzit. Maar ongetwijfeld mede afhankelijk van de onderlinge evenwichten van de bacteriën, die elkaars leven in deze omgeving beïnvloeden. Hier heeft men dus de antibiose in optima forma.

Heel kort wil spr. vermelden, dat in den vorigen oorlog zich nog een andere antibiosis ontwikkeld heeft in de wetenschap, dat is die n.l. van de bacteriophagen, op het terrein waarop de ultramicro is gevonden. Hierbij kan in het midden gelaten worden of de bacteriophaga levend of niet levend is, maar in ieder geval is het een ding, veel kleiner dan de bacterie, dat een hevigen strijd met de bacteriën aan kan binden en deze zeer effectief kan vernietigen. Ook daarbij zal men, al heeft men daarin dan ook nog geen juist inzicht, te doen hebben met iets dat op hetzelfde terrein ligt. Nu is het niet onbelangrijk te zien, hoe ook de mensch in deze antibiosis stoffelijk ingeschakeld is. Ook te dien opzichte moet worden teruggegrepen op het werk van F l e m i n g, dat zeker mede van invloed is geweest bij zijn ontdekking van het penicilline, n.l. in de lysosine, een stof die voorkomt in het speeksel en in

het neusslijm en in staat is om verschillende bacteriën te onderdrukken en andere het leven in de mondholte onmogelijk te maken. De verschijnselen van het lysosine zijn eigenlijk nauwkeurig gelijk aan hetgeen bij de penicilline waargenomen wordt. Van het speeksel gaat iets uit, dat niet door de bacterie overwoekerd kan worden, wanneer men haar op dezelfde manier op een voedingsbodem brengt als met het penicilline het geval is geweest. De veel meer doelbewuste toepassing van deze principes, waarbij men dus inderdaad is gaan zoeken naar het isoleeren van bepaalde stoffen, met de bedoeling om deze in de menschelijke geneeskunde toe te passen, dateert van het jaar 1931, toen de Amerikaansche bacterioloog *Dubos* zich bezig heeft gehouden met de methode om van deze antibiotisch werkelijk gebruik te maken. *Dubos* heeft staphylococcen op aarde gebracht en gezien dat deze zich daarin ontwikkelden, maar hij heeft doelbewust gemeend, dat het mogelijk moest zijn, een bepaalde aarde te vinden, waarbij de staphylococ te gronde ging, want als men de staphylococ buiten op den grond uitgiet, dan verdwijnt hij. En het is hem dan ook gelukt om een bepaalde bacterie te vinden, die een product afscheidt, dat de staphylococ vernietigt. Dat is de *bacillus brevis*, een in de grondbacteriologie niet geheel onbekende soort. Wanneer men nu dezen bacil op een voedingsbodem ent en men filtreert dien af, dan kan men daaruit een stof halen, die in staat is de staphylococ te vernietigen. Daarbij heeft hij gevonden, dat ook deze stof werkt op Gram-positieve bacteriën en hem den naam gegeven van gramicidine, een naam die spr. zelf allerminst kan toejuichen, want hij vindt het een afschuwelijk woord, maar *Dubos* heeft dit nu eenmaal gedaan en daarop valt natuurlijk niet terug te komen. In denzelfden bacil heeft hij ook een stof gevonden, die eveneens bij Gram-negatieve bacteriën werkt en waarvan wij vroeg of laat wellicht nog wel eens van zullen hooren, dat is n.l. het thyrocidine. Dat „cidine”, hetwelk hierin zit, is een aanduiding van het dooden van een bepaalden bacil. Hoe hij aan den naam thyrocidine gekomen is, kan spr. helaas niet zeggen.

Middelerwijl is ook omtrent 1939 door *Hoogerheide*, een in Amerika werkend geleerde van Nederlandsche afkomst, een stof geïsoleerd uit een dergelijken bacil, in staat om het bacteriecapsel van de pneumococcen te vernietigen en waarvan hij ook meende, dat het mogelijk zou zijn, dat die therapeutisch effect zou krijgen.

Zoo heeft men dus vóór den oorlog gezien, hoe een aantal geleerden zich er op geworpen heeft om de stoffelijke basis van deze antibiotie te verwezenlijken. In 1932 heeft de Engelsche onderzoeker *Cockburn* zich weer gewend tot de penicilline uit den stam van *Fleming*, maar hij is tot de conclusie gekomen, dat men de onderzoekingen wel kon staken, omdat het practisch wel onmogelijk zou zijn om deze uiterst labiele stof in handen te krijgen. Tot in 1938 *Flory*, die met *Fleming* samen en *Geney* den Nobelprijs heeft gekregen voor dit onderzoek, tot de ontdekking is gekomen, dat men hier nut uit kon halen. Spr. komt thans tot het journalistieke gebied, want het kan bekend zijn, dat omstreeks dien tijd de zaak in de oorlogsbelangstelling is geraakt en dat men er tijdens den oorlog alles op gezet heeft om het penicilline ter beschikking te krijgen. Wat bleek namelijk? Dat penicilline buitengewoon weinig giftig was en daar heeft men eigenlijk de clou van het vraagstuk. Men kan immers wel trachten om de eene bacterie de andere te laten bestrijden, maar wanneer het bestrijdingsmiddel, dat de een tegen den ander aanwendt, krachtens zijn aard ook tegen den mensch gericht kan zijn, dan valt daar geen voordeel uit te trekken. Het heele belang nu van het penicilline is, dat deze stof buitengewoon weinig giftig is. Men kan daar zeer groote hoeveelheden van verdragen, zonder dat men daar nadeelige gevolgen van ondervindt en nog meer naarmate het product beter gezuiverd is. Hier komt nu ten goede aan het penicilline-onderzoek de geheele gedachtengang van de chemotherapie, die al van den tijd van *Koch* af de gedachten van de menschen in beslag heeft genomen en door de inzichten, die *Ehrlich* daaraan toegevoegd heeft, tot een bewuste wetenschap is verheven. *Koch* probeerde anthrax bij dieren te genezen met sublimaat, omdat hij zag, dat sublimaat in staat was om den anthraxbacil te dooden. Spr. behoeft thans wel niet te zeggen, wat de *causa morta*

van de muizen geweest is. Daar lag natuurlijk een typisch foutieve gedachtengang aan ten grondslag, maar dit moet men eerst bewust inzien voor men verder kan gaan zoeken. Dit was het geval met Ehrlich, die inzag dat: men moest zoeken naar stoffen die bacteriotroop zijn, parasitroop zijn en het lichaam van den mensch niet vergiftigen. Deze gedachte heeft ten slotte geleid tot het scheppen van een aantal geneesmiddelen; die spr. maar bij name heeft te noemen om direct het belang daarvan in de herinnering te brengen, n.l. de kinine, de salvarsan, de bismuth, de antebriene en de bioflavine of tripaflavine, alle er op gericht om de bacteriën te doden en den mensch het leven te doen behouden.

Deze zaak culmineerde in 1935 in het onderzoek van Doullon en vele anderen en heeft geleid tot de sulfanilamide-verbindingen, waarbij men dus voor het eerst een werkelijk stevigen greep kreeg op de bacteriën, terwijl men oorspronkelijk alleen maar vat had op de protozoën. Het is misschien in dit verband niet onaardig er nog even op te wijzen, dat een oud chemotherapeutisch middel, dat wij allen kennen, toch eigenlijk ook een antibioticum is: de kinine, die voorkomt in den kinabast, dus van zuiver plantaardigen oorsprong, waarvan men de voortreffelijke chemotherapeutische resultaten kent bij de malaria. Antibiosis en chemotherapie zijn van het oogenblik af dat men de penicilline geïsoleerd heeft en de chemische structuur van de penicilline vindt, onafscheidelijk aan elkaar verbonden. Eigenlijk was dat reeds met de kinine het geval, maar het is eigenaardig, dat men dat nooit bewust geuit heeft, maar de toepassing van kinine altijd tot de chemotherapie gerekend heeft en de antibiosis buiten beschouwing heeft gelaten. Wij weten nu, dat het mogelijk is om uit alle micro-organismen, zelfs ook uit macro-organismen (want een antibiotische werking gaat uit van verschillende planten, zoo b.v. tomaten), dergelijke stoffen af te zonderen en men is nu aan het stadium gekomen, waarin men de natuur naar haar middelen vraagt om straks het laboratorium te verzoeken om deze middelen binnen onze gebruiksmogelijkheden te brengen. Daarmede heeft men dus de antibiosis, die jarenlang op zichzelf gestaan heeft, en de chemotherapie, die de antibiosis geen blik waardig gekeurd heeft, verbonden gekregen en deze dingen zullen van af dit oogenblik onafscheidelijk zijn en buitengewoon sterk bevruchtend op elkaar inwerken.

Misschien mag men zich de opmerking veroorloven, dat het merkwaardig is, dat datgene, wat bijna een 70 jaar voor het grijpen gelegen heeft, eigenlijk nu pas tot het bewustzijn doorgedrongen is en werkelijk getrokken is binnen de menselijke mogelijkheden. Zonder de sulfanilamiden ware het zeker te betwijfelen, of het penicilline de vlucht genomen zou hebben die het nu heeft. Middelerwijl behoeft men zich daarover niet al te zeer te verbazen, het feit is er, dat dank zij de sulfanilamiden het penicilline deze belangrijke plaats heeft ingenomen.

Spr. mi thans nog het een en ander vertellen met betrekking tot de zuivering van het penicilline. Het penicilline neemt op grond van zijn ongiftigheid een uitzonderingspositie in, want alle mogelijke antibiotica zijn zeer giftig. Men ent in flesschen bacteriesporen en laat die bacteriesporen tot ontwikkeling komen, hetgeen gebeurt in een dag of acht. De ontstane vloeistof wordt afgegoten en uit deze vloeistof extraheert men nu het penicilline volgens een niet eenvoudige techniek. Spr. heeft daar een paar fabrieken van gezien. Een fabriek, in Clyde, verwerkt 12.000 flesschen per dag en doet dat dagelijks. Dat vereischt een loopcyclus van 9 dagen zoodat 9×12.000 flesschen continu in de broedstovf verblijven. Dat zijn broedstoven van enorme afmetingen. Wanneer nu de cyclus afgelopen is, haalt men de flesschen er uit, giet de vloeistof er af, zeeft het schimmeldek weg, kookt dat en geeft het aan de runderen, omdat het zeer eiwitrijk is en heel goed dierlijk voedsel blijkt te zijn. Men haalt nu uit de ontstane vloeistof, door aanzuren en door het weg-resorbeeren van de verontreinigingen met kool, het penicilline, dat door een verdeling van de zuivering in chloroform en water gebracht wordt, tot een concentratie van ongeveer 200.000 eenheden per cm^3 . Dat is een Oxford-eenheid, een willekeurig aangenomen hoeveelheid penicilline, die in staat is om onder bepaalde condities den groei van een zeer bepaalde staphylococ te onderdrukken. De activiteit van het penicilline wordt aldus in z.g.n. Oxford-eenheden of Florey-eenheden weergegeven. De bereiding zal spr. nu niet

op den voet volgen, maar er is een uiterst minutieuze laboratoriumcontrole voor nodig. Het penicilline wordt daarna uit water gevuld in kleine fleschjes en men moet het nu in drogen toestand trachten te verkrijgen, omdat het in vloeibaren vorm binnen 24 uur verdwenen is. De geheele extractie duurt dan ook eigenlijk niet langer dan een kwartier of twintig minuten en daarna moet de stof ook zeer snel worden gedroogd. Men kan dat water zoo maar niet verdampen, omdat bij kamertemperatuur reeds de penicilline onder de handen wegvliegt. Men doet dat nu in vacuümketels, waarin zich een koelaggregaat van -60° bevindt, waarbij het vocht condenseert. Men komt aldus tot een soort droogvriezen van het penicilline en verkrijgt dan het poeder in fleschjes in het algemeen genomen van 100 eenheden per ampulle. Het is een geel poeder, dat zeer gemakkelijk in water oplost en waarvan de gele kleur in hoofdzaak op verontreiniging berust, het is niet nodig, het in zijn zuiversten toestand te brengen. Wel echter is het mogelijk om het te zuiveren tot een volkomen wit poeder. Dan heeft men een zuiverheidsgraad bereikt van 1600 eenheden per mg. Dit is dan practisch het zuivere penicilline, dat aan den chemicus voorgelegd is met de bedoeling om er de structuur van na te gaan en er de synthese van uit te werken.

Van de oppervlaktecultuur is men overgegaan tot de cultuur in tanks. Tot deze bereiding van enkele m³, waarin de bacteriën gekweekt worden, wordt men niet toegelaten. Zij schijnt geheim te zijn. Dit is wel de bereidingswijze voor de toekomst: de oppervlaktecultuur wordt verlaten. Om U eenig kwantitatief denkbeeld te geven: in den aanvang waren twee eenheden per cm² vloeistof onder het penicillinedek het normale. Men heeft een heelen tijd gewerkt met een 10 à 20 eenheden per cm³, maar door een verbeterde kweektechniek is dit opgevoerd tot 200 eenheden per cm³. Als men nu bedenkt, dat 500 cm² noodig zijn om aan 100.000 eenheden te komen, — en dat is het allergunstigste; vroeger had men 5 L noodig om aan 100.000 eenheden te komen — dan begrijpt men iets van den omvang als men bedenkt dat voor de behandeling van een patiënt al gauw 200.000 à 300.000 eenheden noodig zijn. Dat beteekende dus voorheen 10 L terwijl men nu 1 à 2 L noodig heeft om een patiënt te behandelen. Trouwens, wanneer men een ernstigen patiënt heeft, dan stijgt men wel tot behandelingen van 2.000.000 tot 3.000.000 eenheden. Dit toont aan, dat men voor een patiënt aanzienlijke hoeveelheden vloeistof noodig heeft. In het verleden was dat nog aanmerkelijk meer het geval dan in het heden.

Wat zijn nu de toepassingen van het penicilline? Aanvankelijk heeft men het gebruik van penicilline zeer beperkt en gezegd: Wij moeten in de eerste plaats patiënten behandelen die in levensgevaar verkeerden. Dan is het effect van penicilline ook zeer groot en buitengewoon treffend. De toepassing is niet eenvoudig. Men kan het niet door den mond geven, zooals de sulfanilamide-verbindingen, omdat het penicilline de maag en de darmen aantast. Immers, er is ook een anti-antibiosis in de natuur en dat is ook heel begrijpelijk, want wanneer alles alleen maar om de antibiosis draaide, dan zou ten slotte één bepaald levend organisme overwinnen. Zoo zijn er een aantal bacteriën, die heel goed tegen de producten van penicilline bestand zijn, ja, die zelfs in staat zijn om het penicilline in een zeer korten tijd volkomen te vernietigen. Zoo zijn er bacteriën die een penicilline-cyanase vormen. Een daarvan is de colibacil. Wanneer men penicilline in het darmkanaal krijgt, dan wordt dit weliswaar in het hogere gedeelte van den darm bijna volkomen geresorbeerd, maar in het lagere gedeelte van den darm wordt het niet geresorbeerde gedeelte volkomen vernietigd en wanneer men het per os wil toedienen, moet men rekenen op een 5- tot 10-voudige hoeveelheid dan wanneer men inspuit. Voorloopig echter is het toedienen per os niet geoorloofd. Men moet het inspuiten en dan blijkt penicilline vrij gemakkelijk in het geheele lichaam door te dringen maar ook zeer snel te worden uitgescheiden. De stof komt voor ongeveer 70% binnen de twee uur in de urine terecht. Wanneer men nu maar een klein beetje handig is, haalt men het daar wel weer uit en kan men het dan, met een betrekkelijk gering verlies, weer inspuiten, maar zij is in elk geval op dat moment voor het lichaam verloren, zoodat men de stof, voor een effectieve penicilline-therapie voortdurend moet toedienen. Men kan dat of doen door een geregelde

infusie in de aderen, hoofdzakelijk door een inspuiting in de bilspier maar men kan het ook doen met een druppelapparaat, zoodat de stof constant druppel voor druppel ingebracht wordt. Dit is een kwestie van techniek. Men doet dat tegenwoordig ook wel eleganter door een injectiespuit te nemen, waarbij een rechthoekig omgebogen naald op het dijbeen wordt gebonden met een klem en zoo krijgt de patiënt dan onafgebroken het penicilline toegevoerd. In ernstige gevallen moet men periodiek de spuit vullen.

Naast de algemeene toepassing van het penicilline bestaat er ook een plaatselijke, deze geschiedt in het algemeen met het calciumzout van het penicilline, dat vrij gemakkelijk bereid kan worden en bestendiger is dan het meer algemeene natriumzout, want penicilline is een zuur reagerend lichaam. Dit calciumzout kan men strooien. Is men er vroeg bij, dan kan men met een plaatselijke toepassing volstaan en komt men toe met geringere hoeveelheden van enkele tienduizenden eenheden.

Spr. wil nu nog even een paar toepassingen noemen die liggen op het gebied van de mondheelkunde. Penicilline is een eenigermate labiele stof en voor het behandelen van een carieuse holte, komt men in het algemeen niet tot het beoogde doel. Het kan wel zijn, dat er misschien een afdoende sterilisatie van de geboorde holte mede bereikt kan worden, maar in het algemeen genomen zullen daar te veel resistente bacteriën zijn en men loopt groote kans dat er pyocynasevormende bacteriën optreden. Gansch iets anders echter wordt het zoodra men te doen heeft met processen in de weeke deelen van den mond en daar verluiden inderdaad wél goede berichten over. Men kan het penicilline voor de behandeling aanwenden in den vorm van tabletten, die zeer langzaam in de mondholte oplossen. Deze bevatten veel gelatine, agar agar of iets dergelijks en kunnen gedurende geruimen tijd het speeksel van penicilline voorzien. De smaak daarvan is praktisch nihil. Ik heb ze zelf geproefd en het is een therapie, die uitermate ongemerkt geschieden kan. Wil men het nog intensiever plaatselijk toepassen, dan kan men een speciale pasta op den wondrand drukken en bij bepaalde processen daarmede resultaat bereiken. Bij diepere processen in de mondholte kan men penicilline zeker niet volstaan met uitsluitend locale toepassing; maar dient het medisch ook algemeen te worden toegediend.

In welke gevallen kan men van penicilline resultaat verwachten? In die waarin de Grampositieve bacteriën de verwekkers zijn van het proces; staphylococcen, streptococcen, pneumococcen in de eerste plaats, maar ook wel tegen de gangreenbacteriën, die diepere processen kunnen veroorzaken. Bij de pyocyanius, en ook bij deze gangreen, blijft men aangewezen op de antitoxine, omdat het gif van dezen bacil niet door het penicilline wordt aangetast, maar alleen de bacil zelf.

Spr. wil het bij deze korte aanduidingen laten, doch alleen nog vermelden, dat men bij typhus, bij de meeste darminfecties, bij influenza, bij de meeste virusinfecties, niets van het penicilline te verwachten heeft en dat men dat eigenlijk alleen maar heeft bij de bacteriën die hij reeds met name genoemd heeft, bij miltvuur, bij de groep van de influenza- en kinkhoestbacillen, bij de staphylococcen en de streptococcen, bij de gonococcen, bij de gonorrhoe en bij de meningitis. Ook bij de actinomycose kan van tijd tot tijd iets verwacht worden, doch dat is onzeker, want in vele gevallen van de actinomycose helpt het niet, omdat de eene stam er wel en de andere er niet voor gevoelig is.

Voorts wil spr. nog twee zeer korte mededeelingen doen, in de eerste plaats, dat men nu van deze stoffen niet het alleruiterste verwachten moet, ook met het oog op de toekomst. Immers, het blijkt dat de bacteriën kunnen wennen aan het penicilline. Er bestaat dan ook een vraagstuk dat een van de meest bedenkelijke is op dit gebied, zoowel ten aanzien van de antibiosis als van de chemotherapie, n.l. dat de bacteriën resistent kunnen worden. Een van de dreigendste voorbeelden is het volgende: Men betrekking tot de gonorrhoe was het zoo, dat men in het jaar 1938—1939 nog 90 tot 95% genezingen verkreeg met een sulphanilamide preparaat en thans is het zoo, dat men zich tevreden moet stellen met 25 tot 30%. Er zijn al enkele series die nóg lagere resultaten aangeven, eenvoudig omdat de coccus resistent geworden is tegen het sulfanilamide. Gelukkig geldt de verkregen resistentie tegen sulfanilamide niet voor penicilline, maar er worden op het

oogenblik al penicilline-resistente gonococcen beschreven en men dient er dus op te rekenen dat over eenigen tijd ook het penicilline veel van zijn waarde ten deze zal inboeten. Dit is een van de groote struikelblokken op dit gebied. Een tweede opmerking die ik hieraan nog zou willen vastknoopen betreft het feit dat deze stoffen de bacteriën op een zeer speciale wijze aantasten. Zouden zij de bacteriën op een algemeene wijze aantasten, met name dus in hun heele levensuiting, dan zou men te maken hebben met stoffen, zóó giftig, dat ook het menschelijk organisme ze niet kon verdragen. Echter, deze stoffen tasten de bacteriën in een bepaald onderdeel aan en met name daar, waar de stofwisseling van de bacterie verschilt van de stofwisseling van het hoogere dier. Men krijgt dus een uiteraard beperkt aantal stoffen, dat een zeer speciaal mechanisme van de bacterie-stofwisseling verstoort. Dit onderdeel van de bacterie-stofwisseling zal in het algemeen, juist omdat het een zeer speciale zijtak van de stofwisseling is, niet altijd beslissend zijn voor het leven van de bacterie. Deze zal het wellicht klaarspelen om er omheen te gaan en een of andere mechanisme inschakelen als gevolg van het groote aanpassingsvermogen dat het leven in deze kenmerkt en dus zijn resistentie, als reactie op de werking van het anti-bioticum, resp. het chemo-therapeuticum tot uiting brengen. Een stof, die deze mogelijkheid niet inhoudt, zou buitengewoon weinig kans hebben om een goed chemo-therapeuticum te zijn, omdat zij dan ook giftig wordt daar waar de stofwisseling voor bacterie en mensch (om de uitersten te noemen) in zijn meer essentieel karakter niet zal verschillen. Zij zal moeten aangrijpen daar waar de bacteriestofwisseling afwijkt en zoo is q.q. de mogelijkheid van een resistentie gegeven. Wanneer men dit nu zoo beziet, dan is het uitzicht op het geheel van dien aard, dat men kan zeggen: Wij hebben de chemo-therapie in de antibiosis, wij beschikken over de sulfanilamiden voor den een en over penicilline voor den ander. Zij gaan vanaf dit oogenblik hand in hand, maar men zal genoodzaakt zijn om bij voortduring te blijven zoeken naar nieuwe mogelijkheden in deze richting, dat men n.l. te maken heeft met een antibiosis en dat er dus ook moet bestaan een anti-antibiosis, waarvan men de resistentie moet zien te ontmaskeren, resp. de resistentie moet zien op te vangen door nieuwe middelen in te voegen die andere mogelijkheden bieden.