

*Uit: Polikliniek en Laboratorium voor Sosiodontie  
der Rijks-Universiteit te Groningen  
Directeur: Professor J. G. de Boer*

## EEN VERBETERDE REPLICA-TECHNIEK

DOOR DR. HORST PANTKE

Tot 1939, in welk jaar Wolf (1) de door hem „Adhäsionsrelief-Methode” genoemde replica-techniek in de tandheelkunde invoerde, berustte de kennis van de bouw der harde en zachte tandweefsels uitsluitend op het onderzoek van snij- en slijppreparaten, alsmede op microscopisch onderzoek met opvallend licht.

De mogelijkheden der replica-techniek zijn echter niet beperkt tot histologisch onderzoek. Deze eenvoudige en weinig kostbare methode kan ons ook waardevolle gegevens verschaffen over het begin en het verloop van de tandcariës, alsmede over de randaansluiting van verschillende vulmaterialen, over beschadiging door ankers, over de afslijting door tandpasta's, enz.

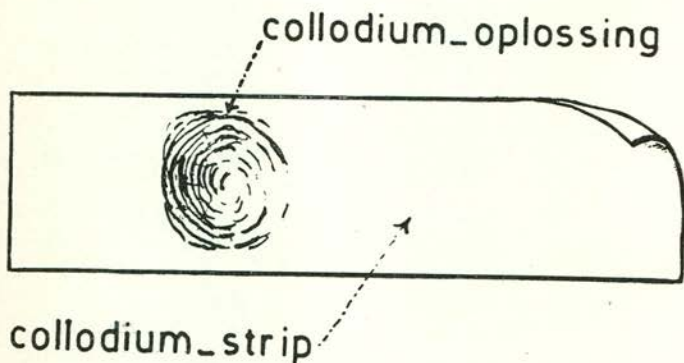
Wat houdt deze replica-techniek in? Kort gezegd: niet meer, dan dat men een afdruk maakt van het oppervlak, dat men wil onderzoeken en deze onder het microscoop bekijkt. Vanzelfsprekend moet men aan deze afdruk bijzondere eisen stellen. Natuurlijk moeten de fijnste structuren scherp worden gereproduceerd. Aan deze eis kan alleen een materiaal voldoen, dat als vloeistof met lage oppervlaktetenspanning op het te onderzoeken object wordt aangebracht en dat, na te zijn ingedroogd, als een samenhangende film het oppervlak bedekt.

In de literatuur worden verschillende materialen genoemd, die aan deze voorwaarden voldoen. O i d t m a n n (2) gebruikte, evenals W o l f, een oplossing van celloidin in aceton, H e u s e r (3) lost plexiglas in chloroform op.

De volgens de methoden van bovengenoemde auteurs vervaardigde preparaten kunnen, zonder verdere bewerking, alleen onder een licht-microscoop worden onderzocht; voor de meeste onderzoeken is dit voldoende. Met het doel ook de fijnste structuren, die buiten het oplossingsvermogen van het lichtmicroscoop zijn gelegen, zichtbaar te maken, hebben S c o t t en W y c k o f f (4) de „Shadowed Collodion Replica Method” ontwikkeld. Deze methode maakt het mogelijk het preparaat onder het elektronenmicroscoop te onderzoeken, door onder hoog vacuüm zilver in schuine richting op de replica te verstuiven, waardoor het reliëf zichtbaar wordt. (Zie M. T. J a n s e n in T.v.T. juli 1951). Voor het maken der afdrukken gebruiken S c o t t en W y c k o f f een collodium-amylicetaatoplossing.

Bovengenoemde methoden hebben allen dezelfde moeilijkheid gemeen, namelijk het verwijderen van de afdruk van het te onderzoeken object.

Scott en Wyckoff gebruiken hiervoor een scheermesje, waarmee zij een hoekje van de afdruk losmaken en dan met een pincet pakken. Bij deze moeilijke manipulatie kan de replica gemakkelijk inscheuren of door het mesje worden beschadigd. Heuser voorkomt dit gevaar door de dunne film met behulp van doorzichtige plakband, die hij stevig op de replica drukt, van het object te trekken. Doordat men echter later bij het microscopisch onderzoek door deze plakband heen moet kijken, kan het gebeuren, bij niet volkomen helderheid van de plakband of (en) ongelijkmatigheid van de kleeflaag, dat een vertroebeld beeld ontstaat. Bovendien is de samenhang tussen plakband en replica niet zeer stevig, zodat men de replica niet altijd in toto kan verwijderen. Dit nadeel heeft ook de methode van Oidtmann waarbij voor het verwijderen van de celloïdinfilm een uit de praktijk bekende celluloidstrook wordt gebruikt. Bij het microscopisch oppervlakteonderzoek in



Afb. 1

ons laboratorium hebben wij een methode ontwikkeld, waarbij bovengenoemde moeilijkheden volledig zijn geëlimineerd.

Evenals Heuser en Oidtmann gebruiken wij voor het verwijderen van de afdruk van het te onderzoeken oppervlak een strook; deze is echter van dezelfde samenstelling als het preparaat en bovendien niet van kleefstof voorzien. Deze stroken maken wij zelf door een bepaalde hoeveelheid van de collodium-amylacetaatoplossing, die wij voor de afdrukken gebruiken, in een petrischaal te gieten en te laten indrogen.

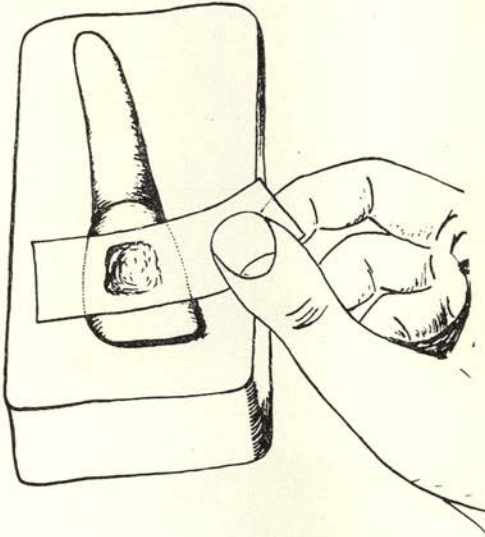
Indien het te onderzoeken object een geëxtraheerd element is, wordt dit zodanig in een blokje plasteline gedrukt, dat het te onderzoeken oppervlak ongeveer horizontaal is. Daarna brengen wij met een glazen staaf een of twee druppels van de collodium-amylacetaatoplossing op de tand aan. Onmiddellijk daarna wordt ook een druppel van de oplossing op één der zelf vervaardigde stroken aangebracht, *niet* precies in het midden van de strook (afb. 1).

Zodra de strook op de bevochtigde plaats oneffen wordt, moet zij direct op het object worden gelegd en wel zodanig, dat de verweekte

plek van de strook op de met collodium-amylacetaatoplossing bedekte plaats van het object komt te liggen. Door het langste gedeelte van de strook altijd mesiaalwaarts te laten wijzen, bereikt men, dat men het preparaat later nauwkeurig kan oriënteren, hetgeen voor een juiste beoordeling van het resultaat van betekenis kan zijn.

Kort nadat de strook is aangebracht, is deze op de plaats, waarop zich de collodiumoplossing bevindt, volledig opgelost. Bij kamertemperatuur is deze collodiumoplossing binnen een half uur gedroogd, en zijn replica en strook tot één geheel verenigd. Met een pincet of met de vingers wordt de afdruk nu voorzichtig van het oppervlak afgetrokken (afb. 2.)

Daarna wordt de afdruk uit de strook geknipt, op een voorwerpglas gelegd en met een dekglasje bedekt. Bij het afknippen moet men er op



Afb. 2

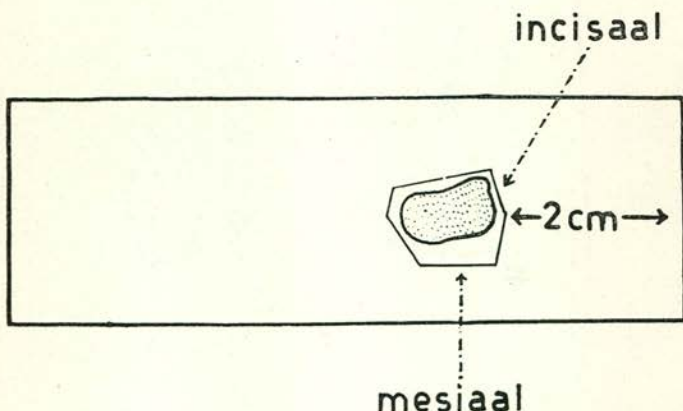
letten, dat de strook ook nu aan de mesiale zijde langer blijft, opdat men het preparaat kan blijven oriënteren. Aanvankelijk plaatsten wij het preparaat altijd met de afdruk naar boven, 2 cm van een smalle kant van het voorwerpglasje, en wel zodanig, dat het incisale deel van de afdruk naar deze kant komt te liggen (afb. 3). Het dekglasje wordt vast aangedrukt en met stukjes plakband in deze positie gefixeerd (afb. 4). Door deze manipulatie worden gebogen preparaten in een plat vlak gedrukt. Tegenwoordig oriënteren wij zodanig, dat in het microscopische beeld de cervicale begrenzing van de afdruk zich aan de onderzijde bevindt.

Omdat ongekleurde preparaten voor het onderzoek met het lichtmicroscop niet geschikt zijn, wordt de collodium-amylacetaatoplossing

met Sudan III gekleurd. Bijgaande microfoto's zijn van replica's, volgens bovenbeschreven techniek vervaardigd. Deze microfoto's werden met een Leitz-microscoop „Ortholux” en met een Leica III F vervaardigd. De bij de afbeeldingen vermelde vergrotingen zijn samengesteld uit de microscopische en de fotografische vergroting.

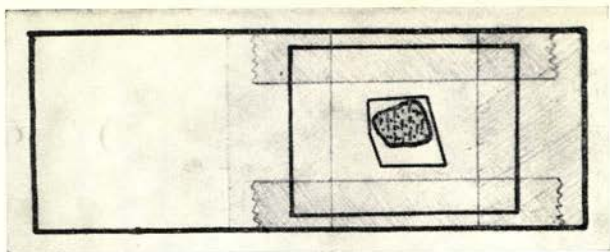
Beschrijving der afbeeldingen:

Afb. 5: Deze afbeelding (vergroting  $120\times$ ) toont een intact glazuuroppervlak met goed herkenbare perikymatiën, die als dakpannen over elkaar liggen. Ook kan men de indruk krijgen, dat het oppervlak uit door kammen gescheiden uithollingen bestaat. Dergelijke optische verschijnselen treden vaak op als men de beelden  $180^\circ$  draait. Volgens Wolf (5) zouden de perikymatiën de uitwendige manifestatie van de lijnen van Retzius zijn. Dit wordt door de volgende afbeeldingen verklaard.



Afb. 3

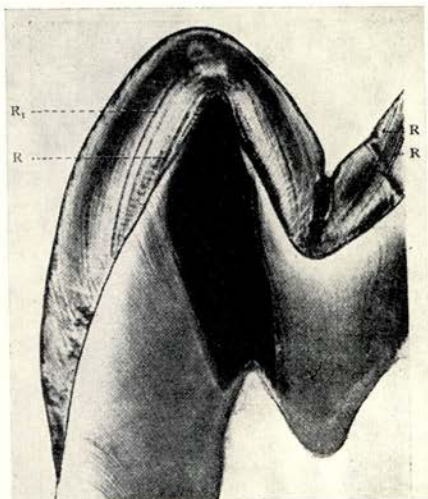
Afb. 6: Deze afbeelding (uit Meyer's „Normale Histologie und Entwicklungsgeschichte der Zähne des Menschen”) toont een ongekleurde lengtedoorsnede van een tand. De donkere lijnen zijn de striae van Retzius, waarvan vooral de met R en  $R_1$  gemerkte lijnen zeer duidelijk uitkomen. Volgens Meyer zouden zij een uiting van verminderde verkalking zijn, waarvan de oorzaak nog niet bekend is. Indien men zich voorstelt, dat alle ameloblasten plotseling en tegelijkertijd in een periode van geringere of van veranderde activiteit overgaan, om zich daarna even plotseling en gelijktijdig weer te herstellen, dan moet een lijn van Retzius met de contouren van de glazuurkap op deze ogenblikken overeenkomen. Het spreekt vanzelf dat we in werkelijkheid te maken hebben met mantels van Retzius, die in doorsneden als lijnen te zien zijn. Zowel bij de Retziuslijn R als bij  $R_1$  gingen de



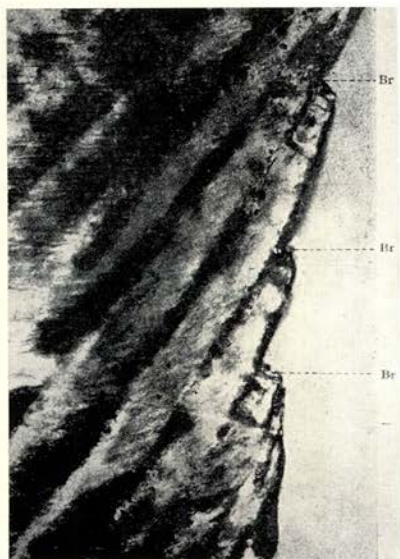
Afb. 4



Afb. 5



Afb. 6



Afb. 7



Afb. 8



Afb. 9



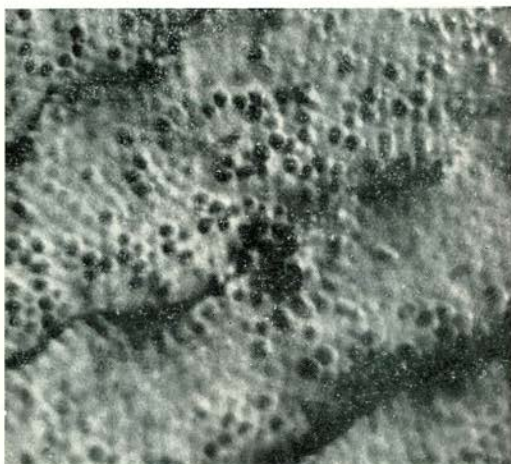
Afb. 11



Afb. 12



Afb. 13



Afb. 14

ameloblasten in zo'n periode van veranderde activiteit over, toen nog slechts een kleine en nog niet gematureerde glazuurkap de kern van dentine bedekte. Wanneer deze perioden in een later stadium van de glazuurvorming optreden, waarin zich aan de knobbelpunt of incisale rand reeds de definitieve glazuurlaag heeft gevormd, dan kunnen de lijnen van Retzius vanzelfsprekend niet meer in één ononderbroken lijn over de knobbel van de kroon verlopen, doch moeten op het vrije glazuuroppervlak eindigen.

Afb. 7: Deze afbeelding uit hetzelfde boek van Meyer laat lijnen van Retzius zien, die aan de oppervlakte van het glazuur eindigen. Het gebied tussen twee lijnen is normaal verkalkt glazuur, waarvan de op met Br aangeduide plaatsen, langs de lijnen van Retzius iets is afgebrokkeld. Indien men zich voor ogen houdt, dat deze afbeelding ons een lengtedoorsnede toont, dan is het begrijpelijk, dat de perikymatiën in afb. 5 als dakpannen op elkaar liggen.

Vergelijken wij de laatste twee afbeeldingen met elkaar, dan is het duidelijk, dat de Retziuslijnen van afb. 6 van een andere grootte-orde zijn dan die van afb. 7. De laatsten zijn vanzelfsprekend bij de geringe vergroting van afb. 6 niet te zien.

Afb. 8: De perikymatiën verlopen niet altijd zo recht en evenwijdig als op afb. 5; ook gebogen en onregelmatig verlopende perikymatiën komen voor, zoals op deze afbeelding is te zien (vergroting  $145\times$ ). Onregelmatige perikymatiën kunnen in anthropologisch opzicht zeer interessant zijn. Zo stelden Pedersen en Scott (7) bij hun vergelijkend onderzoek van Eskimo's en blanke Amerikanen vast, dat bij de eersten onregelmatigheden in het verloop der perikymatiën veel vaker worden aangetroffen dan bij de laatsten.

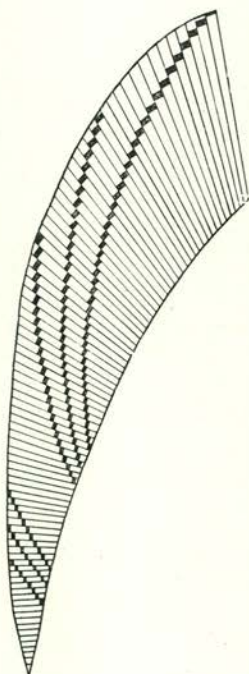
Afb. 9: Perikymatiën komen niet overal op de kroon even veelvuldig voor. De meeste perikymatiën zijn in het gebied van de tandhals te zien; incisaal — resp. occlusaalwaarts wordt het aantal kleiner (zie afb. 6 en 10). Deze vermindering kan echter niet de oorzaak zijn van de brede perikymatiën in het bovenste gedeelte van deze afbeelding, omdat de hoogte van deze foto slechts met ongeveer  $\frac{1}{4}$  mm van het tandoppervlak overeenkomt. Hier wordt dus een andere vorm van onregelmatigheid der perikymatiën geïllustreerd (vergroting  $120\times$ ).

Afb. 10: Deze tekening illustreert duidelijk waarom incisaal minder perikymatiën voorkomen dan cervicaal. Tengevolge van het boogvormig verloop van de Retziuslijnen, veroorzaakt door de divergentie der glazuurprisma's ten opzichte van elkaar, moeten hun uitmondningen op het glazuuroppervlak occlusaal resp. incisaal verder uit elkaar liggen dan cervicaal; derhalve zijn de perikymatiën incisaal breder en daardoor minder talrijk dan cervicaal. In deze schets werden abusievelijk de zwarte rechthoeken perifeerwaarts steeds dikker getekend.

Afb. 11: Deze microfoto laat ons het glazuuroppervlak zien van een getineerd element bij een 340-voudige vergroting. Behalve perikymatiën zien wij hier min of meer duidelijk prisma-uiteinden. Prisma-uiteinden en duidelijk zichtbare perikymatiën ziet men bij het onderzoek van alle jonge elementen. Hoe langer een element in functie is geweest,

hoe minder structurele details men in het algemeen vindt, zoals op de volgende afbeelding is te zien.

Afb. 12: Deze afbeelding (vergroting  $145\times$ ) toont het oppervlak van een oud element. Er zijn zo goed als geen prisma-uiteinden zichtbaar. De perikymatiën zijn door afslijting vervaagd en men ziet hier talrijke krassen. In het gebied cervicaal van de contactpunten houden de perikymatiën het langst stand.



Afb. 10

Afb. 13: Deze microfoto (vergroting  $145\times$ ) toont, dat de abrasio zo ver kan gaan dat een volkomen afgeslepen oppervlak ontstaat, waarop noch prisma-uiteinden, noch perikymatiën zichtbaar zijn; in plaats daarvan zijn talrijke krassen te zien.

Afb. 14: Duidelijker nog dan op afb. 11 is op deze foto (vergroting  $560\times$ ) te zien, dat het glazuerooppervlak nog ten dele bedekt is met een dun vliesje. Deze membraan van *N a s m y t h* is slechts 1 micron dik; haar duidelijke weergave op deze foto illustreert de mogelijkheden van de replicatechniek.



*Literatuur:*

1. Wolf, Jan: Über die Herstellung mikroskopischer Präparate der Oberflächen verschiedener Objekte mit Hilfe der Adhäsionsmethode.  
Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie 1939, Heft 2.
2. Oidtmann, A. M. J.: Enige beschouwingen over de celloidin afdruk-methode.  
Tijdschrift voor Tandheelkunde. 1948, No. 12.
3. Heuser, Hans: Oberflächenhistologische Untersuchungen zur pathologischen Physiologie der chronischen Karies.  
Zahnärztliche Welt 1952, No. 22.
4. Scott, David B. en Wyckoff, Ralph W. G.: Shadowed Replicas of Tooth Surfaces.  
Public Health Reports. 1946, No. 20
5. Wolf, Jan: Plastische Histologie der Zahngewebe.  
Deutsche Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde. 1940, 7.
6. Meyer, W.: Lehrbuch der normalen Histologie und Entwicklungsgeschichte der Zähne der Menschen.
7. Pedersen, P. O. en Scott, David B.: Replica Studies of the Surfaces of Teeth from Alaskan Eskimo, West Greenland Natives, and American Whites.  
Acta Odontologica Scandinavica. 1951. Vol. 9. Fasc. 3—4.