

*Uit de Afdeling Conserverende Tandheelkunde
van het Tandheelkundig Instituut te Utrecht.
Hoofd: Prof. Dr. H. M. J. Scheffer*

DE TOEPASSING VAN BACTERIOLOGISCHE CONTROLES IN DE ENDODONTIE

I

J. VAN AMERONGEN, W. J. SLATERUS, O. EGGINK

Algemene inleiding

Sedert vele jaren wordt van verschillende zijden aangedrongen op het uitvoeren van bacteriologische controles als een middel om het aantal mislukkingen bij de endodontische behandelingen tot een minimum te beperken. Als voornaamste argument kan hierbij een uitspraak van *Appleton*¹ geciteerd worden, welke luidt: „The problem of the pulpless tooth is essentially a bacteriologic problem.”

Het lijkt, wanneer men het van dit standpunt bekijkt, vanzelfsprekend dat men de toestand van het wortelkanaal en het daarbij behorende peri-apicale gebied beoordeelt langs bacteriologische weg en niet, zoals dit veelal in de praktijk geschiedt, door aan een wattentampon te ruiken.

*Grossman*² en *McPhee*³ probeerden deze zienswijze te bewijzen. Zij vonden dat — in respectievelijk 42 en 26% van de gevallen die men na preparatie en desinfectie op klinische gronden geschikt achtte om te vullen — nog bacteriën konden worden aangetoond.

Het bezwaar dat de practicus van deze wetenschap ondervindt is, dat wanneer hij klinisch meent dat een kanaal aan de gestelde eisen voldoet, hij dan een kweekproef moet uitvoeren en daardoor pas in de daarop volgende zitting tot afsluiting kan overgaan, tenminste wanneer de proef negatief blijkt te zijn uitgevallen. Bovendien wordt door velen de vraag gesteld in hoeverre een negatieve cultuur wel betrouwbaar geacht kan worden. Immers is het de vraag of men wel in staat is zoveel materiaal (steekproef) uit het wortelkanaal en het peri-apicale gebied te verzamelen dat dit representatief kan worden geacht voor de werkelijke toestand. Hierbij komt het probleem om geschikte voedingsbodems te vinden, die tegemoet komen aan de groeieisen van de diverse bacteriesoorten, die zich in het wortelkanaal kunnen bevinden. *Appleton*¹ geeft hierop antwoord door het als volgt te stellen: „In interpreting the results of bacteriologic examination it is necessary that we keep in mind its limitations. The results never of themselves authorize the filling of the canal, their usefulness lies exclusively in telling us, when the canal

is not yet ready for filling. Bacteriologic methods in this connection are useful only in that they exert a veto power. This negative value is, of course, a shortcoming, but the importance of a clear-cut indication when not to fill a canal will appear the greater according to the sincerity, intelligence and carefulness of the operator."

Het is overigens zelfs de vraag of een positieve cultuur te allen tijde betekent, dat er zich bacteriën in het kanaal bevinden. Het is immers zeer goed denkbaar, dat er bacteriën anders dan uit het kanaal in de voedingsbodem terecht komen. We denken hierbij aan fouten bij de sterilisatie van wattentampons, paperpoints, entnaalden of aan onvoldoende desinfectie van het kroongedeelte van het te behandelen element, waar men met het vehikel langs strijkt en tenslotte aan mogelijke luchtinfecties.

Deze bezwaren rechtvaardigen de vraag of, en in welke mate het positief of negatief zijn van een kweekproef de uiteindelijke resultaten van een endodontische behandeling beïnvloedt.

Dit probleem werd onderzocht door Buchbinder⁴. Hij vergeleek resultaten van behandelingen, die waren uitgevoerd zonder en met bacteriologische controles. Zowel klinisch als met behulp van röntgen-foto's (tabel I) bleek nu dat er een gering verschil bestond ten gunste van de groep elementen, waarbij een bacteriologische controle had plaats gevonden, en waarbij uiteraard de kanalen pas gevuld waren nadat een negatieve cultuur was verkregen. We moeten hierbij bedenken dat ook niet een erg groot verschil verwacht kan worden, aangezien op grond van voornoemde onderzoekingen van Grossman en McPhee mag worden aangenomen dat het merendeel van de kanalen uit de niet gecontroleerde groep geen bacteriegroei meer vertoond zal hebben. Appleton⁵ verstrekt gegevens uit een onderzoek verricht door Rhein, Krasnow en Gies, waarbij twee groepen gevallen met elkaar worden vergeleken (tabel II). De

TABEL I

Resultaten van 245 endodontische behandelingen welke met en zonder bacteriologische controles werden uitgevoerd. (Buchbinder⁴)

	Normaal	Verbeterd	Mislukt	Totaal	% mislukt
Negatieve kweekproeven	110	30	11	151	8
Geen kweekproeven	59	18	17	94	18

TABEL II

Resultaten van 492 endodontische behandelingen waarbij de kanalen werden gevuld, nadat een positief, respectievelijk een negatief bacteriologisch resultaat was verkregen (Appleton⁵)

	Normaal	Mislukt	Totaal	% mislukt
Negatieve kweekproeven . . .	320	20	340	6
Positieve kweekproeven . . .	129	23	152	16

eerste groep bestaat uit wortelkanalen, die gevuld werden ondanks een positieve eindcultuur, terwijl in de tweede de kanalen pas werden afgesloten nadat geen groei meer kon worden aangetoond.

Het zou logisch zijn om te verwachten dat het verschil in eindresultaat groter zou zijn dan bij het onderzoek van *Buchbinder*. Dit is echter niet het geval. Ook hier bestaat slechts een klein verschil ten voordele van de bacteriologische negatieve groep.

Stellig mag men niet zonder meer de uitkomsten van verschillende onderzoeken met elkaar vergelijken, daar het wel een groot toeval zou zijn dat zowel de materiaalkeuze als de behandeling en controle identiek zouden zijn geweest. Echter wordt wel de nieuwsgierigheid geprikkeld omtrent het ongeveer gelijke verschil in eindresultaat tussen

- a. de bacteriologisch-negatieve groepen en
- b. de niet gecontroleerde (resp. positieve) groep.

Het is bijvoorbeeld de vraag in welke mate zowel de negatieve als de positieve eindcultuur die als criterium wordt beschouwd voor het vullen van het kanaal, representatief zijn voor de toestand van het wortelkanaal op het ogenblik dat het vulmateriaal wordt aangebracht. Immers verricht men deze handeling eerst in de zitting volgende op die waarin de kweekproef is genomen, in afwachting van de uitslag hiervan. In de tussentijd wordt meestal het wortelkanaal afgesloten met een desinfectans, waardoor een positief kanaal zeer goed op het moment van vullen negatief geworden kan zijn. Omgekeerd moet ook rekening gehouden worden met de mogelijkheid dat kanalen gevuld worden die positief zijn, terwijl de kweekproef een negatieve uitslag vermeldde.

Dit laatste op grond van gegevens, verstrekt door *Appleton*¹ en *Grossman*⁶ waaruit blijkt, dat in een aantal gevallen een negatieve cultuur bij hernieuwde controle in een volgende zitting een positief resultaat oplevert.

Het is hierbij opmerkelijk dat de frequentie waarin dit voorkomt bij onervarenen veel hoger ligt dan bij een ervaren practicus. (Een groep studenten 26% op 156 gevallen, *Grossman* zelf 8% op 26 gevallen). *Appleton*¹ en o.m. ook *Ostrander et al.*⁷ en *Buchbinder*⁴, concluderen hieruit dat een wortelkanaal pas gevuld mag worden nadat twee achtereenvolgende negatieve cultures zijn verkregen.

Het feit echter, dat het laatste verschijnsel zich in veel geringer mate voordoet bij een ervaren operateur doet vermoeden dat hier eerder sprake zal zijn van fouten. Deze kunnen zowel in positieve als in negatieve zin gemaakt worden. Wanneer een student een kweekproef neemt, kan het gemakkelijk voorkomen dat wanneer er zich weinig bacteriën in het operatiegebied bevinden, hij met wisselend succes bacteriën „vangt”. Een ervaren operateur zal daarentegen een meer constant resultaat boeken. Iets dergelijks kan men ook verwachten wanneer er geen bacteriën aanwezig zijn. Een onervarene zal gemakkelijker fouten maken door een gebrekkige aseptische techniek en, wat zeer belangrijk is, door een niet zorgvuldige temporaire afsluiting van het wortelkanaal.

Het vermoeden is dus gewettigd dat na het verkrijgen van twee *achtereenvolgende* negatieve cultures de kans op een daarop volgende positieve uitkomst niet kleiner is dan na één negatieve cultuur. Dit is van groot praktisch belang daar dit inzicht veel extra zittingen zou kunnen besparen.

Het voorgaande doet ons echter vermoeden dat, wanneer men een verschil in eindresultaat wil vaststellen t.a.v. negatieve- of positieve eindcultures, deze gemaakt dienen te worden onmiddellijk vóór het vullen van het wortelkanaal. Slechts op deze wijze kan men de onzekerheid over dit vraagstuk tot een minimum beperken.

In nog een ander opzicht worden bacteriologische controles als een belangrijk hulpmiddel beschouwd, nl. als maatstaf voor de doelmatigheid van de in de endodontie gebruikte medicamenten. Vooral sinds de antibiotica hun intrede in de tandheelkunde hebben gedaan, heeft men deze methode vrijwel overal gehanteerd, waarbij dan als criterium geldt het gemiddeld aantal applicaties dat — na de mechanische preparatie van het wortelkanaal — nodig is om een negatieve uitkomst te krijgen. Dit zou blijkens onderzoekingen van Grossman² bij toediening van antibiotica belangrijk lager liggen (gemiddeld 1,4) dan bij de tot nu toe gebruikte desinfectantia (4 à 5), een uitkomst die o.a. bestreden wordt door Ostrander et al^{7, 8} en Auerbach⁹.

De laatste en ook Stewart¹⁰ onderzochten de invloed van de mechanische preparatie op de bacteriologische toestand van het wortelkanaal. Uitgaande van uitsluitend geïnfecteerde wortelkanalen constateerden zij dat een grondige mechanische preparatie ondersteund door spoelingen met Na-hypochloriet en H₂O₂, in het merendeel van de gevallen tot een negatieve cultuur leidde (Auerbach 78%, Stewart zelfs 94%). De uitkomsten van deze onderzoekingen maken het waarschijnlijk dat de conclusie welke o.a. Grossman getrokken heeft ten aanzien van het gebruik van desinfectantia welhaast moet berusten op een groep gevallen die stellig niet vergelijkbaar kan zijn geweest met het onderzoekmateriaal waarbij antibiotica zijn gebruikt.

Wil men een kans maken om tot een betrouwbare conclusie te komen dan dient men uit te gaan van twee zo gelijk mogelijke groepen elementen, die op identieke wijze behandeld worden, waarbij dan in de ene groep bijv. een desinfectans, in de andere een antibioticum wordt geapliceerd. Zelfs dan is er echter een factor, die een goede vergelijking bemoeilijkt. Buchbinder en Bartels¹¹, en ook Bender en Seltzer¹² vestigen hierop de aandacht. Het blijkt hun dat, wanneer men uit een kanaal kweekt dat met een poly-antibiotische pasta behandeld is, de eventueel aanwezige bacteriën op of in de voedingsbodem in hun groei geremd kunnen worden door mede overgeënte resten van de antibiotica.

Hoewel de indruk gekregen wordt dat de frequentie waarin deze groeiremming optreedt sterk afhankelijk is van de proefopstelling, is het toch de vraag of hier nog de bacteriologische controle als maatstaf kan worden gebruikt, zolang niet voor elke component in de pasta een inactivator gevonden is, die dan aan de voedingsbodem toegevoegd

zou moeten worden. Het is niettemin van groot belang om een weg te zoeken waarop een goede vergelijking van desinfectantia en antibiotica mogelijk is. Immers, naast hardnekkige verdedigers van de zg. oudere desinfectantia vindt men in toenemende mate „voorstanders” van het gebruik van antibiotica. Ten aanzien van deze laatsten is het niet geheel ten onrechte, dat zich waarschuwend stemmen verheffen, waarbij met name gewezen wordt op verschijnselen als sensibilisatie en resistentie. Het komt ons namelijk voor dat het probleem te categorisch gesteld wordt, want het is denkbaar dat, gezien de gunstige bevindingen van Auerbach en Stewart ten aanzien van de mechanische preparatie, er slechts een dusdanig gering aantal gevallen over blijft, dat voor de medicamenteuze applicatie in aanmerking komt, dat het probleem tenslotte teruggebracht kan worden tot de vraag of in een bepaald geval het een voordeel zou kunnen hebben om een antibioticum te gebruiken.

Teneinde tot beter inzicht in deze vraagstukken te geraken, besloten wij een onderzoek in te stellen naar een aantal van de bovenvermelde problemen.

Hierbij werd in de eerste plaats aandacht besteed aan de kweektechniek en de keuze van een geschikte voedingsbodem.

De kweektechniek en voedingsbodems

Inleiding

In het voorgaande werd er op gewezen dat men op zuiver theoretische gronden het nut van bacteriologische controles in de endodontie bezwaarlijk kan ontkennen. Kort samengevat kan het zo gesteld worden dat tot nu toe de gehele behandeling van het wortelkanaal er op gericht is infecties te voorkomen of te bestrijden. Wil men dan het moment bepalen, waarop het operatiegebied bacterievrij of althans arm aan bacteriën — is geworden, zodat tot afbehandeling kan worden overgegaan, dan kan dit alleen geschieden met middelen die ons door de bacterioloog worden aangegeven. Deze middelen zullen bestaan uit:

- a. het verzamelen van materiaal uit het operatiegebied en
- b. het bacteriologisch onderzoek hiervan.

De resultaten, die hieruit verkregen worden, vormen de basis van een aantal onderzoekingen die men kan instellen naar problemen waarvan er enige in de voorafgaande regels werden gesteld.

Er zal dus gezocht moeten worden naar methoden en materialen die een vaste maatstaf verschaffen, terwijl zij tevens van dien aard moeten zijn dat de uitkomsten de werkelijke bacteriologische toestand van het wortelkanaal en het peri-apicale gebied zo dicht mogelijk benaderen.

De wijze waarop entmateriaal uit het wortelkanaal wordt verkregen, werd door verschillende onderzoekers beschreven. Men is het er welhaast vanzelfsprekend over eens dat dit zodanig moet geschieden dat geen infectie kan optreden, anders dan uit het operatiegebied.

Aanbrengen van rubberdam zal in de regel nodig zijn terwijl het te behandelen element van tevoren grondig gereinigd en gedesinfecteerd moet worden. Contact van het vehikel met de omgeving van het wortelkanaal moet zo mogelijk vermeden worden, terwijl ook de overbrenging van het entmateriaal op de voedingsbodem, ter voorkoming van luchtinfecties, met grote zorg dient te geschieden. Dat het instrumentarium, althans dat deel ervan, dat in contact komt met het betreffende element, steriel moet zijn, behoeft verder geen betoog.

Uiteenlopend en vaak onvolledig zijn de gegevens, die verstrekt worden ten aanzien van wat men zou kunnen noemen het „vissen naar eventueel aanwezige bacteriën”. Veelal^{1, 2, 4, 6, 7, 9, 10, 13, 14} wordt aangegeven dat men een paperpoint in het wortelkanaal brengt en deze gedurende enige minuten ter plaatse laat. *Appleton*¹ stelt als voorwaarde dat hierbij peri-apicaal secreet moet worden verzameld. Een paperpoint die droog uit het kanaal komt, is volgens hem waardeeloos. In een dergelijk geval moet volgens *Grossman*² de paperpoint met enige druppels van een vloeibare voedingsbodem bevochtigd worden. *Prader*¹⁴ beveelt een dergelijke methode aan met dien verstande dat de bevochtigde point enige dagen in het wortelkanaal moet worden verzegeld. Opgemerkt moet hierbij worden dat de laatste werkwijze een extra zitting kost. *Hettche*¹⁵ en *Tischler*¹⁶ propageren een methode, waarbij in plaats van met een paperpoint, materiaal verzameld wordt met behulp van een endodontische vijl. Deze wordt daarna gestoken in een vaste voedingsbodem.

Het komt ons voor dat de techniek waarvan men zich bedient voor een groot deel zal afhangen van het stadium waarin de behandeling verkeert, en ook van de manier waarop men het verzamelde materiaal wil onderzoeken.

Wanneer men, alvorens de behandeling te beginnen, een inzicht wil hebben in de bacteriologische toestand van het wortelkanaal en er is nog pulpaweefsel aanwezig, dan zal men dit kunnen extirperen of een paperpoint in nauw contact ermee kunnen brengen.

Het aldus verkregen materiaal is voor bacteriologisch onderzoek voldoende. Verzamelen van peri-apicaal secreet is in dit stadium niet alleen ongewenst (doorpersen van toxisch materiaal) maar ook niet noodzakelijk. Het moet onwaarschijnlijk geacht worden dat bij afwezigheid van bacteriën in pulpaweefsel de peri-apex geïnfecteerd zou zijn (*Julius*¹⁷). Wanneer daarentegen een pulpa geïnfecteerd is, zal eventueel hierbij verzameld peri-apicaal secreet ons geen nieuwe gezichtspunten verschaffen ten aanzien van het al of niet geïnfecteerd zijn van dit gebied, omdat men langs deze weg, althans in dit stadium van behandeling, het ene niet onafhankelijk van het andere kan onderzoeken.

Wil men vaststellen of er een infectie bestaat bij een oude kanaalbehandeling dan dient men de kanaalvulling eerst te verwijderen, en — vooral wanneer deze bestaat uit een desinfecterende pasta — het kanaal grondig bevrijden van de resten hiervan. Wanneer hierna de dentinewanden aangevuild worden, zal men met behulp van een tampon zowel peri-apicaal secreet als dentine kunnen verzamelen.

Na mechanische preparatie van een wortelkanaal zal men een dergelijke werkwijze kunnen toepassen, terwijl, wanneer daarna een medicament is geapliceerd, dit door middel van spoelen of wassen met fysiologisch water eerst verwijderd dient te worden.

Er zijn twee gebruikelijke methoden om het verzamelde materiaal te onderzoeken. Men kan of een uitstrijkpreparaat maken en dit na kleuring microscopisch beoordelen, of het materiaal bebroeden op een voedingsbodem gedurende enige tijd, variërend van 48 uur tot een week.

A p p l e t o n¹ komt na een vergelijkend onderzoek tot de slotsom dat de laatste methode verre de voorkeur verdient.

Bij controle in een vijftigtal gevallen bleek ons dit eveneens, zodat besloten werd om de methode van het directe uitstrijkpreparaat bij het verdere onderzoek buiten beschouwing te laten.

Een belangrijk probleem vormt de keuze van een of meer geschikte voedingsbodems. Het is duidelijk dat men in het wortelkanaal bacteriën zal aantreffen die uit de mondholte afkomstig zijn. Onder de uiteenlopende omstandigheden, waaronder een pulpa en peri-apex geïnfecteerd kunnen zijn, kan verwacht worden dat er een selectie heeft plaats gevonden, zodat het spectrum in het operatieterrain misschien kleiner is dan in de mondholte. Echter is er tot nu toe zo weinig bekend over het aantal en de aard van de bacteriesoorten dat de keuze van een adequate voedingsbodem een zeer speculatief karakter moet dragen.

A p p l e t o n¹ benadert het probleem anders door het aldus te stellen: „Because streptococci are found in about 100% of peri-apical infections, and because streptococci are practically the only organisms considered to be of systemic significance in oral focal infections, we routinely use a medium in which streptococci grow particularly well.”

Men kan er verder naar streven de voedingsbodem zo rijk mogelijk te maken, zodat zoveel mogelijk — bekende — bacteriën willen groeien, en desnoods kan men meerdere media kiezen echter in het besef dat men dan de kans loopt te ver van de praktische uitvoerbaarheid te geraken. Hierbij dienen wij ons weer te beperken in de wetenschap dat volkomen steriliteit nimmer is aan te tonen.

Bij de keuze tussen vaste en vloeibare voedingsbodems gelden de volgende overwegingen: met een vaste voedingsbodem krijgt men o.a. gemakkelijker een kwantitatieve indruk van de infectie. De toepassingsmogelijkheden voor de praktijk zijn echter gering. Dit geldt in omgekeerde mate voor de vloeibare media, waarbij echter als bezwaar geldt dat bepaalde bacteriesoorten door andere worden overgroeid.

Ten aanzien van eventuele groeiremming tengevolge van medicamenteuze invloeden mag, door de optredende verdunning, van een vloeibare voedingsbodem een gunstiger resultaat verwacht worden.

Of de voorkeur moet worden gegeven aan een aerobe dan wel aan een anaerobe incubatie werd bij 140 gevallen onderzocht door C r o w l e y¹⁸. Zij vond bij cultures die in alle stadia van de behandeling waren genomen, geen noemenswaardig verschil.

S h a y¹⁹ nam kweekproeven uit 709 elementen, echter pas op het moment dat de kanalen een mechanisch-chemische behandeling hadden

ondergaan. Hij vond met de door hem gebruikte voedingsbodems meer positieve uitkomsten bij de aerobe kweektechniek dan bij de anaerobe.

Het is echter denkbaar dat de bacterieflora in kanalen die nog niet aan een behandeling onderworpen zijn geweest een ander beeld zal vertonen. Zo vindt Julius¹⁷ in een onderzoek, verricht bij 146 geëxtraheerde elementen, een groot verschil ten gunste van de anaeroob groeiende bacteriën.

Hierbij moet worden aangetekend dat deze elementen een vitale pulpa bevatten, waarvan het merendeel een ontsteking vertoonde. Buchbinder²⁰ kweekte uit 106 elementen met necrotische pulpae en vond eveneens een — overigens niet significant — verschil in het voordeel van de anaerobe kweektechniek.

Daarentegen vonden Morse, Yates en Fields²¹ bij 44 elementen dat de aerobe en anaerobe kweekwijze volkomen gelijkwaardig waren. Dergelijke afwijkende uitkomsten vinden waarschijnlijk hun grondslag in de verschillende omstandigheden waaronder de proeven zijn uitgevoerd.

Besloten werd onder variërende condities materiaal te verzamelen uit wortelkanalen en dit te beënten op een aantal voedingsbodems waarbij rekening gehouden werd met een eventueel mogelijke toepassing voor de tandheelkundige praktijk.

Materiaal en methoden

Op het Tandheelkundig Instituut werden door gevorderde studenten en ook bij eigen behandelingen in totaal 4740 kweekproeven genomen uit elementen, waarin een endodontische behandeling werd uitgevoerd en die zowel vitale als necrotische pulpae bevatten. Voorzover het dit onderzoek betrof, werd geen onderscheid gemaakt tussen de verschillende pulpitisvormen in de groep van vitale pulpae; ook werd niet gedifferentieerd tussen de diverse mogelijkheden die men kan aantreffen bij necrotische pulpae. In alle gevallen werd de pulpaholte benaderd nadat de volgende stappen waren ondernomen:

1. Grondige mechanische reiniging van het te behandelen element.
2. Aanleggen van rubberdam. Waar dit moeilijkheden opleverde, werd een tijdelijke inlay vervaardigd, voorzien van een occlusale perforatie, waardoor de behandeling kan plaats vinden.
3. Desinfectie van het element en omgeving gedurende 2 minuten met 5% jodiumtinctuur.
4. Na cariësverwijdering nogmaals desinfectie.
5. Verwijdering van het pulpadak en kroonpulpa met steriele instrumenten ondersteund door wassen of spoelen met fysiologisch water, dat tevens ten doel heeft eventuele resten te verwijderen van het desinfectans, dat mogelijk een kweekproef uit het wortelkanaal kan beïnvloeden.

Voor de sterilisatie van het instrumentarium, wattentampons en paperpoints werd als de meest praktische oplossing de kogelsterilisator benut. Alle sondes, naalden en boren worden onmiddellijk voor het

gebruik met hun werkeinde in de sterilisator geplaatst, terwijl wattentampons en paperpoints geheel onder de glasparels worden gedeponeerd. De sterilisatie geschiedt bij 230° C, welke temperatuur gemeten wordt circa 1 cm onder het oppervlak van de glasparels (diameter circa 2,5 mm). O. Backer Dirks²² onderzocht op het Hygiënisch Laboratorium te Utrecht de minimum tijden, die nodig zijn om het instrumentarium, wattentampons etc. te steriliseren.

Hiertoe werd het materiaal grondig geïnfecteerd met een sporensuspensie van de *Bac. subtilis*, en gedurende een variërend aantal seconden aan de genoemde temperatuur blootgesteld.

De getallen in het onderstaande lijstje zijn op dit onderzoek gebaseerd. Zij zijn uiteraard zeer ruim genomen, zodat kan worden aangenomen dat hiermee in alle gevallen steriliteit wordt verkregen.

Hoewel deze sterilisatietijden vrij lang zijn, kan men de behandeling met enige ervaring zo inrichten dat er nooit gewacht behoeft te worden.

Sterilisatietijden voor kogelsterilisatoren

Exstirpatienaalden	
Ruimers t/m no. 6	
Hedströmvijlen t/m no. 6	15 seconden
Met watten omwikkelde naalden	
Wortelkanaalstoppers (klein)	
Ruimers boven no. 6	
Sondes	
Pincetten	20 seconden
Gates Glidden Drills	
Wortelkanaalstoppers (groot)	
Boren t/m fissuur no. 4	
Boren t/m rond no. 6	45 seconden
Wattenproppen 10 mm diameter	
stijfgedraaid	60 seconden

Finlay²³ zegt dat wattentampons schroeien en paperpoints dusdanig brokkelig worden, dat dit aanleiding zou kunnen geven tot breuk tijdens de behandeling. Zelfs wanneer de aangegeven tijden ruim overschreden worden, werden hiervan echter nimmer bezwaren ondervonden.

De kweekproeven werden op de volgende wijze uit de kanalen genomen.

1. *Initiaalkweken*

Deze worden genomen onmiddellijk na verwijdering van de kroonpulpa.

De uitvoering geschiedt in de regel door een paperpoint in het kanaal in contact te brengen met de kanaalinhoud. Liefst moet er zichtbaar materiaal (bloed, pulpaweefsel, secreet of etter) op het vehikel terecht komen. Soms is het nodig met behulp van een exstirpatienaald of een vijl enig weefsel los te maken. In het geval van oude endodontische behandelingen wordt nadat de kanaalvulling is verwijderd in de regel peri-apicaal secreet verzameld, vermeerderd met dentinepartikels, die met een vijl van de kanaalwand zijn afgeschaafd.

2. *Kweekproeven na de mechanische preparatie*

Na uitspoelen en wassen, gevolgd door drogen van het kanaal, worden de wanden aangevuld, teneinde dentinepartikels te kunnen verzamelen. Vervolgens wordt een paperpoint in het kanaal geschoven, zodanig dat de punt in het peri-apicale weefsel uitsteekt. Na 3 minuten worden langs de point enkele druppels fysiologisch water in het kanaal gebracht. Dit heeft tot gevolg dat de dentinedeeltjes zich beter aan de paperpoint hechten. Brengt men een van te voren bevochtigde point in het kanaal dan buigt deze gemakkelijk krom en bovendien absorbeert hij dan minder peri-apicaal secreet.

3. *Kweekproeven na applicatie van een medicament*

Na verwijdering van de medicamenten-tampon wordt het kanaal gespoeld met 2 cc steriel fysiologisch water en daarna gedroogd, teneinde te ontkomen aan groeiremmende invloeden van de gebruikte medicamenten. De kweekproeven worden daarna genomen zoals onder 2 beschreven.

4. *Controle kweekproeven*

De medicamentenapplicatie wordt zolang voortgezet totdat geen bacteriegroei meer kan worden aangetoond. In dat stadium wordt het kanaal gevuld, doch vooraf wordt nog een controle-kweekproef genomen. Dit geschiedt op dezelfde wijze als onder 3 vermeld.

De kweekproeven worden gedeponceerd in een reageerbuis waarin zich 5 cc voedingsbodem bevindt, onder afsluiting met een steriele wattenprop.

Het bacteriologisch onderzoek vond plaats in het Hygiënisch Laboratorium te Utrecht onder leiding van Prof. Dr. K. C. Winkler. De buizen werden gedurende 72 uur bebroed. Van positieve buizen werd een preparaat gemaakt en bovendien werd overgeënt op bloedagarplaten en op gentiaanviolet-azide bloedagar. Aanvankelijk werd met een morfologische diagnose volstaan, doch later werd de identificatie van de gegroeide bacteriën wat verder uitgebreid.

Onderzocht werden de volgende voedingsbodems:

Schapenbloedbouillon.

Brain heart infusion broth (Difco laboratories).

Levinthalagar.

Brewer's thioglycollaat-bouillon met 0,05% agar.

Trypticase dextrose-bouillon.

Deze keuze werd gedaan op grond van de volgende overwegingen: De brain heart infusion broth kozen wij om ons onderzoek vergelijkbaar te maken met dat van de Amerikaanse auteurs, terwijl de schapenbloedbouillon werd onderzocht als een mogelijke plaatsvervanger voor het kostbare Amerikaanse produkt. De keuze van de andere media zal bij de beschrijving van de techniek en van de resultaten worden toegelicht.

De volgende vergelijkingen werden getroffen:

A. *Brain heart infusion broth* — *schapenbloedbouillon*

De kweektechniek in deze vloeibare media geschiedde zoals is aangegeven door S h a y²¹. Er werden 250 kweekproeven genomen in alle stadia van behandeling, en onmiddellijk gedeponereerd in 5 cc *brain heart infusion broth*, waaraan een weinig steriel zand was toegevoegd. Binnen twee uur werd met behulp van een stamper onder aseptische condities de paperpoint fijn gemalen, hetgeen door de aanwezigheid van het zand vergemakkelijkt wordt. Op deze wijze ontstaat een suspensie in de voedingsbodem. Hiervan werd 0,1 cc overgebracht in 5 cc *schapenbloedbouillon* en een gelijke volume in 5 cc *brain heart infusion broth*, waarna bebroeding en nader onderzoek volgden.

B. *Brain heart infusion broth* — *Levinthalagar*

Het gebruik van Levinthalbloedagar op de wijze zoals door H e t t e¹⁵ aangegeven, heeft het voordeel, dat hierin volgens deze auteur zowel aerobe (aan het oppervlak) als anaerobe groei (in de dieper gelegen lagen) kan plaats vinden. De voedingsbodem, die vast is, werd gebracht in een glazen buisje van circa 5 cm lengte en 7,5 mm diameter. Dit buisje werd op aanwijzing van W i n k l e r¹⁶ gevat in een rubberkurk. Door deze te plaatsen op een reageerbuis kan men de voedingsbodem steriel bewaren (fig. 1).

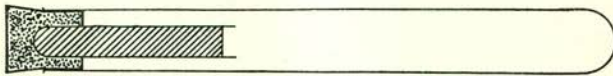


fig. 1

De werkwijze is zeer eenvoudig. Op een vijl wordt enig materiaal uit het kanaal verzameld. De kurk wordt van de buis gelicht, waarna de vijl 1 à 1,5 cm diep in de agar wordt gestoken, en al draaiend er weer uitgetrokken. Onmiddellijk hierna wordt de kurk met het buisje weer geplaatst op de reageerbuis en is nu voor het bebroeden gereed.

Om tot een vergelijking te komen, kan men in dit geval niet volstaan met het nemen van een enkele kweekproef zoals onder A werd beschreven. Daarom wordt naast de „steekcultuur” nog een tweede kweekproef genomen met een paperpoint, die ter vergelijking in 5 cc *brain heart infusion broth* werd gedeponereerd. Op deze wijze werden 380 dubbele kweekproeven genomen verdeeld over alle stadia van de behandeling.

C. *Brain heart infusion broth* — *Brewer's thioglycollaatbouillon* + 0,05% agar

Deze proef werd genomen om na te gaan of het sterker anaerobe thioglycollaatmedium voordelen bezit boven *brain heart infusion broth*.

De methode om de te beënten paperpoint fijn te wrijven werd hierbij verlaten. Wanneer men zoals onder B beschreven een dubbele kweekproef neemt, is het denkbaar dat men bij de eerste zoveel materiaal uit het kanaal verwijdert dat er voor de tweede niets of althans onvoldoende is overgebleven om nog groei op te leveren. Dit zou kunnen maken dat de resultaten verkregen met de groep B onjuist zouden zijn voorgesteld. Om dit te controleren werd als volgt te werk gegaan:

Een paperpoint werd, na 3 minuten in contact te zijn geweest met het wortelkanaal in 5 cc brain heart infusion broth gebracht (1e kweekproef). Een tweede paperpoint werd onmiddellijk na de eerste op dezelfde wijze in 5 cc Brewer's thioglycollaat gedeponereerd (2e kweekproef). Bij een volgend geval werd omgekeerd gehandeld. De eerste paperpoint kwam nu in de thioglycollaat en de tweede in de brain heart infusion broth. Bovendien werd bij elke bacteriologische controle van de individuele wortelkanalen de volgorde van de media in de verschillende stadia van behandeling steeds gewisseld. In totaal werden 1152 dubbele kweekproeven genomen in alle stadia van de behandelingen.

D. *Brain heart infusion broth — trypticase dextrosebouillon*

Aangezien S h a y¹⁹ een voordeel vond ten gunste van trypticase dextrose t.o.v. alle door hem onderzochte media werd besloten deze voedingsbodem op de onder C beschreven wijze te vergelijken met brain heart infusion broth.

In totaal werden 298 dubbele kweekproeven genomen verdeeld over alle behandelingsstadia.

E. In deze groep bestaande uit 290 dubbele kweekproeven werd nagegaan in hoeverre er een verschil optreedt, wanneer 5 cc van eenzelfde voedingsbodem gebracht wordt in een cultuurbuis onder afsluiting met een wattenprop, dan wel in een flesje afgesloten met een schroefdeksel, waarin zich een rubberafsluiting bevindt. Als voedingsbodem werd gekozen brain heart infusion broth waaraan 0,05% agar is toegevoegd.

Na het vullen van de flesjes wordt het geheel geautoclaveerd waarbij het deksel losjes rust op de rand. Onmiddellijk daarna wordt dit stevig aangedraaid.

Volgens B u c h b i n d e r²⁰ ontstaan op deze wijze omstandigheden die de groei van anaerobe micro-organismen bevorderen, daar de bij het autoclavieren uit de vloeistof verdreven zuurstof niet opnieuw wordt opgenomen. Bovendien is de voedingsbodem in deze flesjes veel langer houdbaar en geschikt voor transport.

Proeven met flesjes, waarbij deze herhaaldelijk per post verzonden werden en gedurende een jaar werden bewaard, leverden in geen enkel geval bacteriegroei op.

Het doel van deze proef is te komen tot een eenvoudige techniek die ook door de practicus zou kunnen worden gebruikt.

De proef werd uitgevoerd als onder C beschreven.

Resultaten

Groep A. In tabel III vinden we de vergelijking brain heart infusion broth — schapenbloedbouillon.

Sch. bl.	Br.H.		
	+	-	
+	57	10	67
-	15	168	183
	72	178	250

TABEL III

Vergelijking brain heart infusion broth — schapenbloedbouillon

TABEL IV

Vergelijking van de bacteriesoorten, die groeien in de onderzochte voedingsbodems bij de dubbel positieve gevallen

Groep	A		B		C		D		E	
	Brain h. inf. broth	Schapenbloedbouill.	Brain h. inf. broth	Levinthal agar	Brain h. inf. broth	Brewer's thioglyc.	Brain h. inf. broth	Trypt. dextr.	Brain heart inf. broth	
Bacteriesoort									Buis	Fles
Streptococcen .	36	36	37	27	151	153	17	18	74	80
Staphylococcen .	14	14	12	17	22	17	18	17	15	17
Gram + coccen.	2	2	15	10	11	4	-	-	-	-
Gram - coccen.	-	-	7	10	15	6	-	-	3	1
Gram + staven.	4	4	2	3	12	5	1	-	-	-
Gram - staven.	1	1	-	3	4	-	-	-	-	2
Gist.	2	2	4	5	5	3	-	2	1	1
Sporevormers. .	3	3	3	4	4	8	1	-	1	2
Lactobacillen .	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Sarcinen. . . .	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Diphtheroiden .	-	-	1	1	2	1	2	-	-	-
Gram - draden	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-
Tetracoccen . .	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Actynomyces . .	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Schimmel	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Totaal.	64	64	81	80	230	197	39	38	94	103

De toepassing van bacteriologische controles in de Endodontie

TABEL V

Vergelijking van de bacteriesoorten, die groeien in de onderzochte voedingsbodems bij de enkel positieve gevallen

Groep	A		B		C		D		E	
	Brain h. inf. broth	Schapenbloedbouill.	Brain h. inf. broth	Levinthal agar	Brain h. inf. broth	Brewer's thioglyc.	Brain h. inf. broth	Trypt. dextr.	Brain heart inf. broth	
									Buis	Fles
Voedingsbodems										
Bacteriesoort										
Streptococcen .	8	2	26	4	25	27	12	5	3	10
Staphylococcen .	5	6	17	6	15	13	5	11	3	6
Gram + coccen.	-	-	6	3	1	2	-	-	-	-
Gram - coccen.	-	-	3	1	1	3	-	-	-	-
Gram + staven.	-	-	8	2	1	5	1	1	2	-
Gram - staven.	-	-	-	2	1	3	-	-	1	-
Gist.	-	-	1	1	5	2	2	1	-	2
Sporevormers .	-	-	1	1	18	6	-	1	-	-
Lactobacillen .	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Sarcinen. . . .	2	2	5	1	4	-	-	1	-	-
Diphtheroïden .	-	-	-	1	2	3	2	-	-	-
Gram - draden	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tetracoccen . .	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1
Actinomyces . .	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Schimmel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Totaal.	15	10	67	22	73	66	24	20	9	19

TABEL VI

Vergelijking van het aantal bacteriesoorten per kweekproef in de verschillende voedingsbodems. (Totaal van dubbel en enkel positief)

Groep	A		B		C		D		E	
	Brain h. inf. broth	Schapenbloedbouill.	Brain hl inf. broth	Levinthal agar	Brain h. inf. broth	Brewer's thioglyc.	Brain h. inf. broth	Trypt. dextr.	Brain heart inf. broth	
									Buis	Fles
Voedingsbodems										
Bacteriesoorten per kweekproef										
1	67	62	112	73	222	227	56	54	88	89
2	3	3	14	13	25	15	2	2	9	16
3	2	2	1	1	9	2	1	-	-	1
4	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
5	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Totaal.	72	67	128	87	257	244	59	56	97	106

TABEL VII

Verhouding van gelijke- en ongelijke bacteriesoorten per kweekproef in de verschillende voedingsbodems bij de dubbel positieve gevallen

Groep	A	B	C	D	E
Voedingsbodems	Br. h. inf. br.	Br. h. inf. br.	Br. h. inf. br.	Br. h. inf. br.	Br. h. inf. br.
Bacteriesoorten per kweekproef	Schapebloedbouill.	Levinthal agar	Brewer's thioglyc.	Trypt. dextr.	Buis Fles
Gelijk	57 (100%)	52 (79%)	177 (95%)	34 (92%)	81 (93%)
Ongelijk	—	14	9	3	6
Totaal	57	66	186	37	87

Tabel III moet als volgt gelezen worden:

De aantallen in de verticale kolommen onder de + en — tekens hebben betrekking op het cultuurmedium dat boven de schuine lijn in de linker bovenhoek staat, terwijl de horizontale regels achter de + en — tekens slaan op het medium dat onder de schuine lijn is aangegeven. De getallen onder aan de kolommen en achter aan de regels zijn totalen, het getal rechts onderaan geeft het aantal experimenten weer.

In beide voedingsbodems blijken 57 gevallen positief te zijn en 168 negatief, terwijl 10, resp. 15 gevallen, enkel positief zijn, de eerste in schapebloedbouillon, de tweede in brain heart infusion broth.

In totaal groeien dus in brain heart infusion broth 72 maal bacteriën en in schapebloedbouillon 67 maal. Statistisch bezien moet hieruit besloten worden dat er geen verschil in uitkomst bestaat.

In de 57 dubbel positieve gevallen blijken de bacteriesoorten gelijk in beide voedingsbodems (Tabel IV *) groep A en Tabel VII groep A). Ook de bacteriën, verkregen uit de totaal 25 enkel positieve gevallen blijken in beide voedingsbodems gelijk (Tabel V groep A).

De verdeling van het aantal bacteriesoorten per kweekproef voor beide media is aangegeven in tabel VI (groep A). Ook hier blijkt geen noemenswaardig verschil te bestaan.

*) Aangezien in de aanvang slechts morfologisch werd beoordeeld, geeft de classificatie in de tabellen IV en V slechts een benaderend beeld. Zij diende in dit stadium slechts om een voorlopige indruk te krijgen van de aangetroffen bacteriën.

Groep B. Tabel VIII vermeldt de uitkomsten van de vergelijking tussen brain heart infusion broth en Levinthalagar.

Br.H. Lev.	+	-	
+	66	21	87
-	62	231	293
	128	252	380

TABEL VIII

Vergelijking brain heart infusion broth — Levinthalagar

In 66 gevallen blijken beide voedingsbodems groei op te leveren, terwijl in 231 een negatieve uitkomst verkregen werd. In 62 gevallen groeien alleen bacteriën in brain heart infusion broth, terwijl in slechts 21 gevallen uitsluitend groei optreedt in Levinthalagar. In totaal groeien er in brain heart infusion broth 128 maal bacteriën tegen 87 maal in Levinthalagar.

Hieruit kan geconcludeerd worden dat de laatste voedingsbodem inferieur is in vergelijking met de eerste. De verdeling van de bacteriesoorten, gevonden in de dubbel positieve gevallen blijkt uit tabel IV (groep B). Een duidelijk verschil valt hieruit niet waar te nemen. Evenmin is dit het geval bij de enkel positieve gevallen (tabel V groep B), hoewel in de Levinthalagar de groei van streptococci in procenten uitgedrukt duidelijk minder is dan in brain heart infusion broth.

In tabel VI groep B is het aantal bacteriesoorten per kweekproef vermeld voor beide media. De Levinthalagar bevordert de groei van meer bacteriesoorten per kweekproef. Dit ligt ook in de verwachting doordat in een vaste voedingsbodem de kans op overgroeien minder groot is. Het aantal dubbel positieve gevallen waarbij gelijke bacteriesoorten werden gevonden per kweekproef is vermeld in tabel VII groep B. In 52 van de 66 gevallen (79%) blijkt gelijkheid te bestaan.

Groep C. De uitkomsten van de vergelijking tussen brain heart infusion broth en Brewer's thioglycollaat, zijn dusdanig gegroepeerd dat een overzicht verkregen wordt zowel van vitale- als necrotische pulpae, terwijl tevens een verdeling gemaakt is tussen gevallen waarbij de eerste kweekproef in brain heart infusion broth, de tweede in thioglycollaat werd gedeponereerd, en die, waarbij in omgekeerde volgorde te werk werd gegaan. (Tabellen IX en X).

Thio. 2		Br.H.1			Thio.1		Br.H.2		
		+	-				+	-	
+	40	12	52	+	24	19	43		
-	19	190	209	-	20	194	214		
	59	202	261		44	213	257		
	a.				b.				

Thio.		Br.H.			1°kw.		2°kw.		
		+	-				+	-	
+	64	32	96	+	64	31	95		
-	38	384	422	-	39	384	423		
	102	416	518		103	415	518		
	c.				d.				

TABEL IX
Vitale pulpae.

Vergelijking brain heart infusion broth en Brewer's thioglycollaat

Thio. 2		Br.H.1			Thio.1		Br.H.2		
		+	-				+	-	
+	61	13	74	+	61	17	78		
-	16	228	244	-	13	225	238		
	77	241	318		74	242	316		
	a.				b.				

Thio.		Br.H.			1°kw.		2°kw.		
		+	-				+	-	
+	122	26	148	+	122	30	152		
-	33	453	486	-	29	453	482		
	155	479	634		151	438	634		
	c.				d.				

TABEL X
Necrotische pulpae

Vergelijking brain heart infusion broth en Brewers thioglycollaat

Tabel IXa vermeldt de uitkomsten bij vitale pulpae waarbij de eerste kweekproeven in brain heart infusion broth zijn gebracht.

De brain heart infusion broth levert 59, de thioglycollaat 52 positieve gevallen op in totaal 261 proeven.

In IXb waarbij de eerste kweekproeven in de thioglycollaat zijn gedeponeerd, blijkt dat deze voedingsbodem 44 positieve gevallen oplevert tegen brain heart infusion broth 43 op een totaal van 257 gevallen. In beide groepen zijn geen significante verschillen te constateren.

Telt men a en b op dan blijkt dat zich in de brain heart infusion broth 102, en in de thioglycollaat 96 positieve gevallen manifesteren op 518 kweekproeven (IXc).

Vergelijkt men de som van alle 1e kweekproeven met die van de 2e dan blijken deze respectievelijk 103 tegen 95 positieve gevallen op totaal 518 kweekproeven op te leveren (IXd).

In tabel X zijn de uitkomsten vermeld bij necrotische pulpae. Hier worden uit de brain heart infusion broth 77 (1e kweekproeven), uit de thioglycollaat 74 (2e kweekproeven) positieve cultures verkregen (Xa).

Daarnaast levert de thioglycollaat (1e kweekproef) 74, en de brain heart infusion broth (2e kweekproef) 78 positieve cultures op.

Tezamen worden uit de brain heart infusion broth 155, en uit de thioglycollaat 148 positieve gevallen op een totaal van 634 verkregen (Xc).

Ook het verschil tussen de uitkomsten van de eerste en tweede kweekproeven is minimaal, nl. resp. 151 en 152 positieve gevallen op een totaal van 634 dubbele kweekproeven (Xd).

Aangezien er zo goed als geen verschillen zijn waar te nemen in de onderscheiden groepen zijn tenslotte de resultaten uit de tabellen IX en X bij elkaar opgeteld (Tabel XIa en b).

Thio.	Br.H.			2 ^o kw.			
	+	-			+	-	
+	186	58	244	+	186	61	247
-	71	837	908	-	68	837	905
	257	895	1152		254	898	1152
	a.			b.			

TABEL XI

Vitale- en necrotische pulpae.

Vergelijking brain heart infusion broth — thioglycollaat

Hieruit blijkt een te verwaarlozen verschil tussen brain heart infusion broth (257 positieve cultures) en thioglycollaat (244 positieve cultures) op een totaal van 1152 dubbele kweekproeven (XIa).

Evenzo blijkt dat de eerste kweekproeven niet meer positieve cultures opleveren dan de tweede (XIb).

De verdeling van de bacteriesoorten verkregen uit de 186 dubbel positieve en de 129 (71 + 58) enkel positieve kweekproeven kunnen worden afgelezen respectievelijk uit de tabellen IV groep C en V groep C. Er valt ook in dit opzicht geen principieel verschil op te merken tussen de beide voedingsbodems.

Ten aanzien van het aantal bacteriesoorten dat per kweekproef werd gevonden, is enig verschil te noteren (tabel VI groep C) ten gunste van de brain heart infusion broth. Hierin vinden we in 35 gevallen meer bacteriesoorten per kweekproef op een totaal van 257 (14%) tegen 17 maal op 244 (7%) in de thioglycollaat.

Van de 186 dubbel positieve cultures werden per kweekproef in 177 gevallen (95%) gelijke bacteriesoorten gevonden (tabel VII groep C).

De resultaten van dit deel van ons onderzoek zijn in grote lijnen in overeenstemming met de uitkomsten van Crowley¹⁸.

Men kan nu uit het bovenbeschreven materiaal, dat kweekproeven uit alle stadia van de behandeling omvat, de uitkomsten van de initiaal-cultures selecteren en zodoende een antwoord vinden op de vraag of in dat geval een verschil tussen de „aerobe”- (brain heart infusion broth) en „anaerobe” (thioglycollaat) kweekproeven aan de dag treedt (Tabel XII).

		BrH.Inf.Br.		
		+	-	
Th.gl.	+	44	9	53
	-	9	63	72
		53	72	125

a.

		BrH.Inf.Br.		
		+	-	
Th.gl.	+	66	13	79
	-	6	46	52
		72	59	131

b.

TABEL XII

Vergelijking „aerobe”- en „anaerobe”-kweektechniek uitgaande van kweekproeven, genomen voordat kanaalbehandeling plaats vond. (Initiaalcultures).

a. elementen met vitale pulpae.

b. elementen met necrotische pulpae.

Geen enkel onderscheid valt op te merken bij de vitale pulpae (a), waar zowel bij de thioglycollaat als de brain heart infusion broth 53 positieve cultures werden gevonden op een totaal van 125 gevallen.

Bij de necrotische pulpae (b) treedt een gering verschil op ten voordele van de thioglycollaatvoedingsbodem, nl. 79 positieve cultures tegen 72 bij de brain heart infusion broth op een totaal van 131 gevallen. Dit verschil is echter volgens berekening niet significant.

Groep D. De resultaten van de vergelijking tussen brain heart infusion broth en trypticase dextrose zijn op dezelfde wijze verkregen als die in groep C.

Omdat ook hier nergens verschil bestaat tussen de uitkomsten van 1e en 2e kweekproeven zijn alleen de totalen vermeld (Tabel XIII).

		Br.H.		56			1° kw.		52
		+	-				+	-	
Trypt.	+	37	19	242	2° kw.	+	37	15	246
	-	22	220			-	26	220	
		59	239	298			63	235	298

TABEL XIII

Vergelijking brain heart infusion broth — trypticase dextrose.

Wederom blijkt geen significant verschil te bestaan noch tussen de vergeleken media, noch tussen de 1e en 2e kweekproeven.

De kwalitatieve uitkomsten van de 37 dubbel- en 41 enkel positieve kweekproeven zijn respectievelijk vermeld in de tabellen IV groep D en V groep D. Belangrijke verschillen zijn niet op te merken, evenmin als in het aantal bacteriesoorten dat per kweekproef werd gevonden (Tabel VI groep D).

Van de 37 dubbel positieve cultures werden per kweekproef in 34 gevallen gelijke bacteriesoorten gevonden (92%) (Tabel VII groep D).

Groep E. Met brain heart infusion broth 0,05% agar als medium werden vergeleken de cultuurbuis met wattenprop en het met een schroefdop afgesloten flesje (Tabel XIV).

		Fles		97			1° kw.		103
		+	-				+	-	
Buis	+	87	10	193	2° kw.	+	87	16	187
	-	19	174			-	13	174	
		106	184	290			100	190	290

TABEL XIV

Vergelijking cultuurbuis met wattenprop en fles met schroefdop.

Voedingsbodem brain heart infusion broth + 0,05% agar.

Aangezien evenmin als in de groepen C en D verschillen werden gevonden tussen de uitkomsten uit necrotische- en vitale pulpae en

evenmin tussen de resultaten van de 1e en 2e kweekproeven worden ook hier alleen de eindresultaten vermeld.

In de fles werden 106 maal bacteriën gevonden tegen 97 maal in de buis; een onbelangrijk verschil dus ten voordele van de eerste.

Tussen de eerste en tweede kweekproef bleek wederom geen verschil (100 tegen 103 positieve gevallen). In de tabellen IV en V groep E zijn de bacteriesoorten vermeld, waaruit blijkt dat er geen verschil bestaat tussen de groeicondities in buis en fles.

Het aantal bacteriesoorten per kweekproef is in de fles iets gunstiger dan in de buis (tabel VI groep E).

Uit tabel VII groep E blijkt dat het aantal malen dat in de dubbel positieve gevallen per kweekproef gelijke bacteriesoorten werden gevonden 81 bedraagt (93%).

Aangezien in de flesjes omstandigheden bestaan, die de anaerobe groei bevorderen, werd nogmaals nagegaan of bij beschouwing van de initiaalcultures alléén een meer merkbaar verschil tussen de „aerobe”- en „anaerobe”-groei optrad.

		Fles		
		+	-	
Buis	+	63	6	69
	-	6	37	43
		69	43	112

TABEL XV

Vergelijking cultuurbuis met wattenprop en fles met schroefdop.
 Voedingsbodem brain heart infusion broth + 0,05% agar.
 Uitsluitend initiaalcultures.

Tabel XV die zowel de uitkomsten van de vitale- als necrotische pulpae bevat (hiertussen bleek geen verschil te bestaan) levert wederom geen enkel winstpunt op noch voor de „aerobe”- noch voor de „anaerobe” (fles) groei. In beide voedingsbodems groeiden 69 maal bacteriën op een totaal van 112 gevallen.

Discussie en conclusies

Wanneer men het aantal positieve cultures als maatstaf neemt, blijkt dat bij vergelijking tussen brain heart infusion broth en de andere media geen significante verschillen bestaan met uitzondering van de Levinthalagar, die duidelijk inferieur bleek te zijn.

De mogelijkheid werd geopperd dat de uitkomsten verkregen met deze laatste voedingsbodem beïnvloed konden zijn doordat bij het nemen van de kweekproeven niet alternerend te werk gegaan werd

zoals dit geschiedde in de daarna uitgevoerde experimenten. Gezien het feit echter dat hier geen verschillen te constateren zijn tussen 1e en 2e kweekproeven moet worden vastgesteld dat de ongunstige uitkomsten uitsluitend geweten moeten worden aan de kweektechniek uitgevoerd met Levinthalagar. Het is denkbaar dat een andere vaste voedingsbodem betere resultaten kan opleveren doch de techniek bleek zeker niet eenvoudiger dan de later gebruikte flesjes met vloeibare media, zodat hieraan geen verdere aandacht werd besteed. De relatief goedkope schapenbloedbouillon bleek één nadeel te bezitten, namelijk dat tijdens het bewaren van dit medium haemolyse optrad, welke de klinische beoordeling — die voor de practicus stellig van belang kan zijn — bemoeilijkt.

Uit de vergelijking tussen 1e en 2e kweekproeven bleek dat het aantal dubbel positieve cultures dat van de enkel positieve, verre overtrof. Dit is van belang, daar dit er op wijst dat in het merendeel van de gevallen de infecties, kwantitatief bezien, niet gering zijn.

In overeenstemming met de resultaten verkregen door Crowley¹⁸ bleek bij beschouwing van de cultures, verkregen in alle stadia van behandeling geen verschil te bestaan tussen de „aerobe“- en de „anaerobe“-kweektechniek (brain heart infusion broth en thioglycollaat).

Dit bleek ook niet het geval wanneer uitsluitend de uitkomsten van de initiaalcultures met elkaar werden vergeleken. De gegevens komen practisch overeen met die van Buchbinder²⁰ en van Morse en Yates²¹.

Zij schijnen echter in tegenspraak met de resultaten van Julius¹⁷, die uit vitale pulpae veel organismen isoleerde, die juist onder anaerobe condities goed groeiden. Een verklaring is wellicht te vinden in het feit dat deze onderzoeker vooral plaatcultures gebruikte. Volgens eigen — later te beschrijven — ervaringen groeien inderdaad een aantal der op onze vloeibare voedingsbodems gekweekte micro-organismen, wanneer zij in plaatcultures worden gebracht veel beter bij afwezigheid van zuurstof. In ander opzicht stemmen onze resultaten wel met die van Julius overeen daar in beide gevallen circa 50% positieve kweken werden verkregen (62 op 125 tabel XIIa en 73 van 146¹⁷).

In de literatuur worden de begrippen aerob en anaerob soms vrij absoluut tegenover elkaar gesteld. De Lactobacteriaceae (streptococci en lactobacilli) waar het in ons geval meestal om gaat, geven dikwijls de voorkeur aan een lage zuurstofspanning, maar groeien, mits het medium rijk genoeg is, dikwijls ook bij aanwezigheid van zuurstof. In vloeibare media is bovendien in de diepere lagen van de vloeistof de zuurstofspanning meestal laag genoeg. De tegenstelling aerob - anaerob is daarom voor vloeibare voedingsbodems niet zeer scherp.

Ten aanzien van de bacteriesoorten kon in de diverse voedingsbodems weinig verschil worden vastgesteld.

Het aantal bacteriesoorten per kweekproef bleek in de thioglycollaat enigermate geringer te zijn dan in de brain heart infusion broth, terwijl in dit laatste medium de flescultures iets gunstiger resultaten te zien gaven dan de buiscultures (Tabel VI).

In alle media groeiden in de dubbel positieve gevallen ongeveer gelijke bacteriesoorten (90 à 100%) met uitzondering van de groep brain heart infusie broth — Levinthalagar, waar slechts in 79% van de gevallen gelijkheid bestond.

Uit het voorgaande kon worden vastgesteld dat voor het nemen van kweekproeven zowel brain heart infusie broth als trypticase dextrose het meest geschikt bleken. Aangezien met de laatste voedingsbodem betrekkelijk weinig ervaring is opgedaan, werd besloten de eerste als basis voor verder onderzoek te gebruiken en hierbij de cultuurbuis te vervangen door de fles met schroefdp. In hoeverre de resultaten, verkregen met de beschreven kweekproeven, representatief kunnen worden geacht voor de werkelijke bacteriologische toestand van het wortelkanaal en peri-apex kon niet worden vastgesteld. Een vergelijkend onderzoek hierover is gaande en zal t.z.t. worden gepubliceerd.

Samenvatting

Een beschrijving werd gegeven van de wijze waarop kweekproeven kunnen worden verkregen. Hierbij werd een vergelijking getroffen tussen de groei-mogelijkheden in brain heart infusie broth (Difco) en de volgende voedingsbodems:

1. Schapenbloedbouillon.
2. Levinthalagar.
3. Brewer's thioglycollaat met 0,05% agar.
4. Trypticase dextrosebouillon.

Een onderzoek werd ingesteld naar de bruikbaarheid van brain heart infusie broth in flesjes met schroefdp, die geschikt zijn voor praktijkgebruik.

Het volgende kon worden vastgesteld:

1. Behalve Levinthalagar, die inferieur bleek te zijn, leverden de vier overige voedingsbodems ongeveer gelijke resultaten op.
Dit houdt tevens in dat het medium met thioglycollaat, dat veelal als anaeroob betiteld wordt, geen voordelen biedt boven de drie andere. Dit geldt — zowel bij vitale als necrotische pulpae — voor de kweekproeven uit alle stadia van de behandeling maar evenzeer voor initiaalcultures alléén. Voor vloeibare media kan men de begrippen anaerobe en aerobe bebroeding niet altijd als schrille tegenstellingen beschouwen.
Om praktische redenen werd aan brain heart infusie broth de voorkeur gegeven.
2. Bij de toepassing van deze voedingsbodem bleek geen significant verschil bij bebroeding in flesjes met een schroefdp in vergelijking met een normale cultuurbuis.
3. Wanneer in één zitting twee achtereenvolgende kweekproeven werden genomen, bleken de uitkomsten van de 1e en 2e kweekproef gelijk.

Summary

In the above study, some culture media were examined in order to find out if any of them would be superior to brain heart infusion broth (Difco) for taking cultures from root canals. The following media were studied:

1. Sheep blood broth.
2. Levinthal agar.
3. Brewer's thioglycollate with 0,05% agar.
4. Trypticase dextrose broth.
5. Moreover cultures were made in brain heart infusion broth in screw capped bottles and compared with cotton plugged tubes containing the same medium to see whether the bottles would be suitable for use in the dental office.

Cultures were taken before treatment, after mechanical preparation and after every application of a therapeutic agent. Finally, a control culture was taken immediately before the filling of the root canal.

In total 4740 cultures were taken in the usual manner by inserting an absorbent point into the root canal for 3 minutes, collecting pulp tissue, or, in later stadia of treatment, peri-apical moisture and dentin particles from the walls of the canal.

The comparison between the media was made as follows.

1. Brain heart infusion broth — sheep blood broth.
Technique of culture: The absorbent point to be cultured was ground in a test tube, containing 5 ml brain heart infusion broth and a little sterile sand, a method described by Shaly¹⁹. Of the obtained suspension 0,1 ml was added to 5 ml sheep blood broth and an equal volume to 5 ml brain heart infusion broth.
2. Brain heart infusion broth — Levinthal agar.
In this instance the liquid medium was tested against the solid Levinthal agar. (Hettche¹⁵ and Tischler¹⁶).
Technique of culture: With a Hedströmfile some material from the canal was dislodged. The file was inserted into the agar and withdrawn with a rotating movement. (For the Levinthal agar special tubes were constructed (Fig. 1)). Immediately thereafter a second culture was taken in the usual manner i.e. with an absorbent point, which was dropped into a tube containing 5 ml brain heart infusion broth.
3. Brain heart infusion broth — Thioglycollate 0,05% agar.
Thioglycollate medium is generally recommended for the growth of anaerobic bacteria.
Technique of culture: Two subsequent cultures were taken from the root canal.
In the odd numbered cases the first absorbent point was dropped into 5 ml brain heart infusion broth and the second into 5 ml thioglycollate. In the even numbered cases the sequence was reversed. Moreover in each individual case the sequence was likewise reversed in every following stadium of treatment.

4. Brain heart infusion broth — Trypticase dextrose broth.

According to *S h a y*¹⁹ the latter medium yields more positive cultures than the former.

Technique of culture: The same procedure was followed as described under 3.

5. Brain heart infusion broth in screw capped bottles — brain heart infusion broth in cotton plugged tubes.

The technique of culturing is the same as described under 3.

The culturing and the bacteriologic examination was done in the laboratory of hygiene of the Utrecht University under the direction of Professor Dr. *K. C. W i n k l e r*.

The tubes and bottles were cultured for 72 hours. From the positive cultures microscopic slides were prepared and further subcultures were made on blood agar plates and on gentianviolet azide agar. In the beginning, differentiation was done morphologically, later however, the identification of the growing bacteria was somewhat extended.

The following conclusions were drawn:

1. With the exception of Levinthal agar, which appeared to be inferior, the results of the remaining 4 culture media were approximately equal. (tables III, VIII, IX, X, XI, XIII).

Thus the thioglycollate medium, which is usually called anaerobic, does not give more positive cultures than the other aerobic media.

This holds true — both for vital and necrotic pulps — for cultures taken in all stadia of treatment, but likewise for initial cultures alone (table XII). For liquid media, the notion of aerobic and anaerobic culturing should not always be considered as extreme opposites.

For practical reasons the brain heart infusion broth was preferred.

2. Using this culture medium no significant difference was observed between cultures in screw capped bottles and those in the cotton plugged tubes (tables XIV, XV).

3. When two subsequent cultures were taken during one treatment the total results of the first were the same as the results of the second cultures.

Het bacteriologisch-technische deel van dit onderzoek werd verricht in de afdeling Bacteriologie van het Hygienisch Laboratorium der R.U. te Utrecht door *Mej. T. N o o r d a n u s*, aan wie wij onze hartelijke dank betuigen. Aan de Directeur van deze afdeling, *Prof. Dr. K. G. W i n k l e r* zijn wij bovendien verplicht door de stimulerende belangstelling en steun waardoor hij dit onderzoek heeft mogelijk gemaakt.

De toepassing van bacteriologische controles in de Endodontie

Literatuur

1. J. L. T. Appleton Bacterial Infection. 4th edition. Lea & Febiger. Philadelphia 1950.
2. L. I. Grossman Root Canal Therapy. 4th edition. Lea & Febiger. Philadelphia 1955.
3. G. G. McPhee Brit. Dent. Journal 60 : 119 : 1936.
4. M. Buchbinder J. Dent. Res. 20 : 93 : 1941.
5. J. L. T. Appleton Dental Cosmos LXXIV : 798 : 1932.
6. L. I. Grossman J. Dental Res. 13 : 257 : 1933.
7. F. D. Ostrander, M. C. Crowley, J. Dowson J. Dental Res. 26 : 403 : 1947.
8. F. D. Ostrander, M. C. Crowley J. Endod. 3 : 6 : 1948.
9. M. B. Auerbach N.Y. State Dent. J. 19 : 225 : 1953.
10. G. G. Stewart J. Or. Surg. 8 : 993 : 1955.
11. M. Buchbinder, H. Bartels J. Or. Surg. 4 : 886 : 1951.
12. I. B. Bender, S. Seltzer J. Or. Surg. 7 : 1311 : 1954.
13. F. W. Morse, M. F. Yates J.A.D.A. 28 : 956 : 1941.
14. F. Prader Diagnose und Therapie des Infizierten Wurzelkanales. Benno Schwabe & Co. Basel 1949.
15. O. Hettche D.Z.Z. 7 : 573 : 1952.
16. R. Tischler D.Z.Z. 7 : 576 : 1952.
17. H. W. Julius T.v.T. XLIV : 228 : 1937.
18. M. Crowley J. Dental Res. 20 : 250 : 1941.
19. D. E. Shay J. Dental Res. 26 : 327 : 1947.
20. M. Buchbinder J. Dental Res. 19 : 426 : 1940.
21. F. W. Morse, M. F. Yates, V. J. Fields J. Dental Res. 20 : 249 : 1941.
22. O. Backer Dirks Niet gepubliceerd.
23. J. Finlay Brit. Dent. J. 98 : 318 : 1955.