

# Bacteriologische tests in de parodontale praktijk<sup>\*)</sup>

F.H.M. Mikx, microbioloog

## Samenvatting

De specificiteit, gevoeligheid en gebruikswaarde van bacteriologische tests in de parodontologie worden besproken. Als microbiologische doelstelling van de parodontale therapie wordt gesteld: *het veranderen van de pocketflora in een facultatief anaërobe flora die compatibel is met de gastheer*. Bacteriologische tests kunnen daarbij dienst doen in het opsporen van zogenaamde 'gids'bacteriën. Aangegeven wordt op welke niveaus een microscopische test of bacteriologische identificatie de diagnose en indicatiestelling in de parodontale therapie kan ondersteunen.

Uit de vakgroep Parodontologie en Preventieve Tandheelkunde, laboratorium voor Orale Microbiologie en het TRIKON (Tandheelkundig Research Instituut Klinisch Onderzoek Nijmegen) van de Katholieke Universiteit te Nijmegen.

Trefwoorden: **Parodontologie** – Bacteriologie – Antibiotica

MIKX FHM. Bacteriologische tests in de parodontale praktijk. Ned Tijdschr Tandheelkd 1990; 97: 414-7.

Datum van acceptatie: 9 maart 1990.

Adres: F.H.M. Mikx, postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.

<sup>\*)</sup>Onderzoeksprogramma van het laboratorium voor Orale Microbiologie.

## 1 INLEIDING

Meer dan 100 jaar bacteriologisch onderzoek van de orale microflora heeft een waslijst opgeleverd van commensale en potentieel pathogene bacteriesoorten in de mond. In de subgingivale microflora blijkt het aantal potentiële ziekteverwekkers het aantal vormen van parodontale aandoeningen te overschrijden, terwijl nog steeds een grote groep microscopisch waarneembare bacteriën, de spirocheten, onvoldoende is onderzocht. Het uitzicht op het aanvaarden van een specifieke plaquehypothese wordt hierdoor vertroebeld.

Een uitkomst uit deze impasse wordt verwacht van de bestudering van virulentiefactoren en van het onderzoek van bacteriemengsels in relatie tot weefselaab-<sup>1</sup> Naar verwachting zal dit leiden tot de bepaling van groepen bacteriën, consortia genaamd, die verantwoordelijk kunnen worden gesteld voor parodontale destructie. Waarschijnlijk zullen deze consortia eerder een gemeenschappelijk biochemische dan bacteriële noemer hebben. Evenwel zijn er de laatste jaren diagnostische tests op de markt verschenen die specifieke bacteriën in de subgingivale plaque kunnen aantonen en die in aanmerking komen voor de indicatiestelling.

## 2 DIAGNOSTISCHE TESTS

Een globaal overzicht van de beschikbare bacteriologische tests is vermeld in tabel I. Het nut van een test wordt bepaald door zijn relatie met de ziekte. Ideaal is een test die bij ziekte altijd (100%) positief uitvalt en bij afwezigheid van ziekte altijd (100%) negatief is. Gebruikt men een test bij personen van wie bekend is dat ze de ziekte hebben dan kan de gevoeligheid van een test worden bepaald. Deze proefpersonen vormen de 'gouden standaard' voor een ziekte. Op eenzelfde manier zal een gou-

Tabel I. Bacteriologische tests voor identificatie van subgingivale bacteriën.

Bacterie	Methode	Plaats
Spirocheten	microscopie <sup>*)</sup>	P, Acta, Nijm. <sup>**)</sup>
<i>Bacteroides</i>	kweek DNA-probe Ifm <sup>***)</sup>	Acta, Nijm. BTD, Nijm. Acta
<i>Actinobacillus</i>	kweek DNA-probe Ifm	Acta, Nijm. BTD, Nijm. Acta

<sup>\*)</sup> Het detectieniveau van de microscopie ligt bij 0,5% van de totale flora voor de overige methoden ligt die rond de 0,05%.<sup>17</sup>

<sup>\*\*)</sup> P = tandartspraktijk. Acta = laboratorium voor Orale Microbiologie VU A'dam. Nijm = laboratorium voor Orale Microbiologie KU Nijmegen. BTD = Biotechnica Diagnostics Cambridge MA, USA.

<sup>\*\*\*)</sup> Ifm = immunofluorescentiemicroscopie.

Tabel II. Definities en berekeningen van gevoeligheid, specificiteit en trefzekerheid van diagnostische tests.

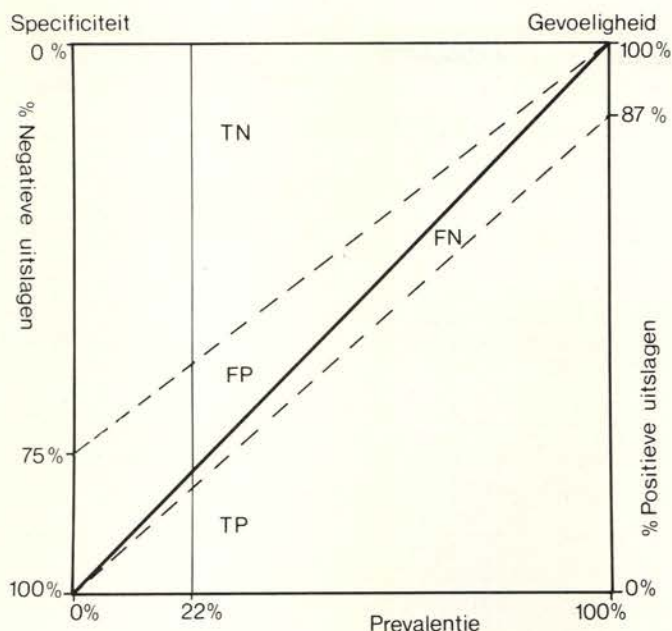
Doel van de test	Testuitslag		Totaal
	positief	negatief	
Ziekte aanwezig	a (terecht positief)	b (fout negatief)	(a + b)
Ziekte afwezig	c (fout positief)	d (terecht negatief)	(c + d)
Totaal	(a + c)	(b + d)	

*Gevoeligheid* =  $a : (a + b) \times 100$ , de waarschijnlijkheid dat de test een positieve uitslag geeft die overeenkomt met de aanwezige ziekte.

*Specificiteit* =  $d : (c + d) \times 100$ , de waarschijnlijkheid dat de test een negatieve uitslag geeft in afwezigheid van ziekte.

*Trefzekerheid* of voorspellende waarde van een positieve testuitslag. T pos. =  $a : (a + c) \times 100$ , de verhouding van de terecht positieve uitslagen en het totaal aantal positieve uitslagen. In overeenstemming hiermee is de trefzekerheid van een negatieve testuitslag, T neg. =  $d : (b + d) \times 100$ , de verhouding van de terecht negatieve uitslagen en het totaal aantal negatieve uitslagen.<sup>17</sup>





Afb. 1 De verdeling van testuitslagen in terecht-positief (TP), fout-positief (FP), fout-negatief (FN) en terecht-negatief (TN) voor een test met een gevoeligheid van 87% en een specificiteit van 75%. De verdeling van de verticale lijn door een bepaalde prevalentie (hier 22%) geeft de verhouding weer van de terecht- en fout-positieve en negatieve uitslagen.<sup>2</sup>

den standaard van niet-ziekten moeten worden onderzocht om de specificiteit van een test te weten te komen (tab. II). Tenslotte zal men willen weten welke trefzekerheid een test heeft wanneer die bij een groep willekeurige personen wordt toegepast.

De trefzekerheid, ook wel voorspellende waarde genoemd, wordt beïnvloed door de prevalentie van de ziekte in de populatie. Zijn er weinig zieken in de te onderzoeken populatie (lage prevalentie), dan is het relatieve aandeel van de fout-positieve uitslagen hoger dan bij een hoge prevalentie. In afbeelding 1 wordt de relatie tussen gevoeligheid, specificiteit, en prevalentie geïllustreerd.<sup>2</sup>

Men kan de trefzekerheid van een test verhogen door de te onderzoeken populatie te beperken tot bijvoorbeeld gezinsleden van parodontitispatiënten, patiënten met uitgebreide restauraties of patiënten met andere predisponerende factoren.

### 3 TESTS IN DE KLINISCHE PARODONTOLOGIE

Het bacteriologische onderzoek in de klinische parodontologie is het laatste decennium voornamelijk gericht geweest op de microscopie van de subgingivale plaque, met name spirocheten en de kweek van de bacteriesoorten *Bacteroides intermedius*, *B. gingivalis*, *Actinobacillus actinomycescomitans* en *Capnocytophaga*. Deze bacteriesoorten, die soms 30 tot 80% van het kweekbare deel van de subgingivale microflora uitmaken, kunnen evenwel in de minderheid zijn ten opzichte van de spirocheten. De spirocheten behoren tot

het niet-kweekbare deel van de microflora en vormen soms 30 tot 60% van het totale aantal bacteriën. Overigens blijken spirocheten virulentiefactoren te bezitten, die overeenkomen met die van de eerder genoemde bacteriën.

Ondanks het feit dat het bewijs voor het oorzakelijke verband tussen deze bacteriesoorten en parodontale aandoeningen niet is geleverd en er bovendien onduidelijkheid is over de rol van de kwaliteit dan wel de kwantiteit van bepaalde bacteriën in de subgingivale flora, zijn er voldoende argumenten om deze bacteriën als 'gids'-bacteriën te beschouwen. De eenvoudigste manier om bepaalde gidsbacteriën op te sporen is een microscopisch preparaat van de subgingivale plaque waarin naast kokken en staven, 'beweeglijken' en spirocheten kunnen worden geteld.

### 4 MICROSCOPIE

De aanwezigheid van spirocheten in plaque monsters geeft informatie over de graad van ontwikkeling en complexiteit van de microflora en indirect over de ontstekingsgraad van het weefsel en pathogeniciteit van de lokale microflora.<sup>3</sup> Ondanks het geringe onderscheidingsvermogen in een microscopisch preparaat blijkt de aanwezigheid van een hoog percentage spirocheten in de subgingivale plaque van parodontitispatiënten een redelijke indicatie te zijn voor actieve parodontale afbraak.<sup>4</sup>

Listgarten en medewerkers toonden een relatie aan tussen het microscopische beeld van de subgingivale plaque en de parodontale status.<sup>5</sup> Zij testten vervolgens pa-

tiëntengroepen in longitudinale studies op de aanwezigheid van spirocheten en beweeglijke staven in de subgingivale plaque. In de experimentele groep werd op grond van de uitslag van de test de lengte van de recallperiode bepaald. In de controlegroep werden de patiënten elke drie maanden gescaled. Men vond dat het aantal patiënten waarbij weefselverlies optrad in de experimentele en controlegroep gelijk was. De koppeling van de lengte van de recallperiode aan de uitslag van de microscopische test leidde tot een aanzienlijke reductie van de behandelingsfrequentie bij een gelijk blijvend resultaat. De microscopische test bleek voor het opsporen van patiënten met weefselverlies in de daaropvolgende een à twee jaar een trefzekerheid te bezitten van 60 tot 70% terecht-positieve uitslagen. Dit is een redelijk hoge trefzekerheid in vergelijking met de *S. mutans*-test voor cariësactiviteit.

Uit deze en andere studies blijkt dat de parodontale behandeling door middel van scaling een effectieve reductie geeft van de anaërobe bacteriën inclusief de spirocheten.<sup>5,6</sup> Het microscopisch preparaat blijkt bij parodontitispatiënten bruikbaar voor de diagnose, indicatie en evaluatie van de behandeling. De microscopische test kan als basis dienen voor een verantwoordde behandelingsreductie van parodontale 'controle'-patiënten.<sup>6</sup>

## 5 MICROBIOLOGIE

### 5.1 *Bacteroides species*

Zwart gepigmenteerde *Bacteroides species* (bpB) werden in Nederland al in 1937 uit orale monsters gekweekt. Deze strikt anaërobe Gram-negatieve bacteriën werden aanvankelijk *Bacteroides melaninogenicus* genoemd. Op het ogenblik onderscheidt men tien orale zwart gepigmenteerde *Bacteroides species* soorten. De meest bestudeerde soorten zijn *B. gingivalis* en *B. intermedius*, die inmiddels *Porphyromonas gingivalis* en *Prevotella intermedius* worden genoemd.

*Bacteroides* worden geassocieerd met parodontale afbraak. Zij komen echter ook voor in personen zonder parodontale destructie, hetgeen is gebleken uit serologisch en bacteriologisch onderzoek (tab. III). Onderzoekt men parodontale pockets op de aanwezigheid van een van beide bovengenoemde soorten dan blijkt *B. gingivalis* uit 42-46% van de pockets te worden gekweekt en *B. intermedius* uit 98%.

De waarde van *Bacteroides*-tests voor de bepaling van progressieve parodontale destructie is tot nu toe niet precies bekend. Met behulp van de uit verschillende studies afgeleide specificiteit en gevoeligheid kan een schatting worden gemaakt van de trefzekerheid van *Bacteroides*-tests voor het opsporen van parodontale risicopatiënten



in Nederland. In de leeftijdscategorie van 30 tot 64 jaar worden bij 22% van de Nederlanders diepe pockets waargenomen. Een test met bijvoorbeeld een gevoeligheid van 87% en een specificiteit van 75% heeft bij een prevalentie van 22% een trefzekerheid of voorspellende waarde van 50% bij een positieve uitslag (tab. II en afb. 1). Let wel, de trefzekerheid is de kans dat de testuitslag ook werkelijk met de afwezigheid respectievelijk aanwezigheid van de aandoening te maken heeft. Een uitspraak over het toekomstige ziekteverloop is hiermee niet gedaan.

## 5.2 Actinobacillus

Ook voor het aantonen van *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) zijn testen beschikbaar. Voor de associatie van deze bacterie met parodontitis worden bijna dezelfde specificiteits- en gevoeligheidswaarden gevonden als voor zwart gepigmenteerde *Bacteroides* bpB (tab. III).<sup>7</sup> Aa komt niet alleen in pockets van juveniele parodontitispatiënten voor maar werd bijvoorbeeld ook bij 17% gezonde Amerikanen aangetroffen, waaruit een specificiteit van 83% kan worden afgeleid.<sup>9</sup> Bovendien wordt Aa niet in alle juveniele parodontitispatiënten aangetroffen, de gevoeligheid van een Aa-test is ongeveer 89%.<sup>9</sup> Deze gevoeligheid heeft waarschijnlijk een grote spreiding. In een groep Amsterdamse JP-patiënten werd Aa slechts in 41% aangetroffen.<sup>18</sup> Gegeven een prevalentie van diepe pockets bij 5% van de Nederlandse adolescenten zou voor het opsporen van deze risicogroep een positieve Aa-test in de meeste gevallen, 80%, een fout-positieve uitslag geven. Uit het voorgaande kan worden geconcludeerd dat de klinische diagnose juveniele parodontitis, onvoldoende indicatie is voor antibioticagebruik; men zal eerst moeten vaststellen welke bacteriën bestreden dienen te worden.

Genoemde bacteriën zijn een selectie uit de mogelijk pathogene bacteriën van de subgingivale plaque. Het grote aantal potentieel pathogene bacteriën en de geringe

Tabel IV. Parodontale indicatie gebaseerd op bacteriologische testuitslag na initiële therapie.

Bacteriën in pocketmonster			Indicatie
Spirocheten	<i>Bacteroides</i>	<i>Actinobacillus</i>	
+	-	-	reiniging
+	+	+	reiniging
-	+	-	antibioticum
-	+	+	antibioticum
-	-	+	antibioticum

specificiteit, voeden de gedachte dat parodontale destructie niet te wijten is aan een specifieke infectie maar dat het consortia van bacteriën zijn die gemeenschappelijk parodontale destructie induceren. Men ziet dan ook dat enerzijds het gebruik van gidsbacteriën voor de indicatie en evaluatie van de parodontale behandeling terrein wint en anderzijds er onderzoek wordt verricht naar het effect van antibiotica op deze anaërobe menginfecties.<sup>11</sup>

## 6 MICROBIOLOGISCHE TESTS IN DE PRAKTIJK

### 6.1 De gewenste pocketflora

Mechanische reiniging met hand- of ultrasoon instrumentarium leidt tot reductie van de pocketdiepte, bloedingsneiging en het aantal anaërobe bacteriën.<sup>6</sup> Natuurlijk levert mechanische reiniging van pockets geen steriele pocket op. In een gereinigde en herstelde of zogenaamde gezonde pocket, leven nog minstens een miljoen bacteriën. Deze bacteriën zijn voornamelijk facultatief anaëroben en klaarblijkelijk in evenwicht met de gastheer.

De met de gastheer verenigbare pocketflora, ook wel residente flora genoemd, kan voor zover is nagegaan meer dan negen maanden in evenwicht blijven.<sup>12</sup> Aangenomen wordt dat de residente flora door zijn samenstelling en compatibiliteit met de gastheer een microbiel milieu in de pocket

onderhoudt dat gedurende lange tijd een zekere kolonisatieresistentie vertoont tegen pathogene anaërobe bacteriesoorten. Op grond van deze waarnemingen kan het doel van parodontale therapie in microbiologische zin worden omschreven als: *Het veranderen van de pocketflora in een facultatief anaërobe flora die compatibel is met de gastheer.* Over de gewenste bacteriesoorten is minder bekend dan over ongewenste vectoren van de pocketflora, die bovendien als gidsbacteriën kunnen worden gebruikt, zoals spirocheten, *Bacteroides* en *Actinobacillus*. Kennis over de gidsbacteriën is van belang bij de microbiologische diagnose en parodontale indicatie (tab. IV).

### 6.2 Microscopie en reiniging

Een microbiologische test van een plaats waarbij supragingivale plaque wordt waargenomen heeft weinig zin. De supragingivale plaque en de daaronder liggende subgingivale plaque zullen meestal hoge spirocheten en *Bacteroides*-aantallen te zien geven. Een bacteriologische test geeft dan geen extra informatie en bevestigt slechts de reeds op grond van de supragingivale plaque gestelde indicatie: Verbetering van de algemene of lokale mondhygiëne.

Een bacteriologische test kan van belang zijn na de initiële therapie, inclusief mondhygiëne-instructie en subgingivale reiniging. Immers een persisterende aanwezigheid van hoge percentages spirocheten in de pocket duidt op een risicodragende anaërobe microflora en geeft aan dat het gestelde doel niet is bereikt.

Als hoge percentages spirocheten worden aangetroffen in pockets na de initiële therapie is de aanvankelijke conclusie gerechtvaardigd dat nog 'oude' plaqueresten aanwezig zijn en is de indicatie: Verdere reiniging van de betreffende pockets, al of niet 'onder zicht'. Dezelfde indicatie zou worden gesteld als naast spirocheten ook *Bacteroides* en of *Actinobacillus* zouden worden aangetroffen. Derhalve is de waarneming van een hoog percentage spirocheten aanvankelijk voldoende voor de indicatiestelling en is verdere identificatie van de pocketflora niet strict noodzakelijk (tab. V).

Tabel III. Berekende gevoeligheid en specificiteit van spirocheten, *Bacteroides* en *Actinobacillus* tests in relatie tot parodontale destructie.

	Gevoeligheid	Specificiteit
Spirocheten <sup>*)4</sup>	92%	33%
<i>B. gingivalis</i> <sup>**)7</sup>	50-79%	77-95%
<i>B. intermedius</i> <sup>**)78</sup>	13-69%	17-71%
bpB <sup>**)7</sup>	45%	95%
<i>A. actinomycetemcomitans</i> <sup>****)910</sup>	89-97%	83%

\*) hoger dan 8% in relatie tot destructie in één jaar.

\*\*) verhoogde serumtiter in relatie tot het klinische beeld.

\*\*\*) zwart gepigmenteerde *Bacteroides* kolonies in relatie tot het klinische beeld.

\*\*\*\*) isolatie van Aa in relatie tot het klinische beeld.



Tabel V. Beslissingschema bij voortschrijdende of recidieve parodontitis na initiële therapie.

Bemonstering	Test	Uitslag	Maatregel
1e bemonstering subgingivaal	Microscopie	Spirocheten hoog	Herhalen van reiniging
		Spirocheten laag	2e bemonstering
2e bemonstering subgingivaal	Identificatie en gevoeligheidsbepaling	Bacterienamen Gevoeligheid	Keuze uit antibiotica

Met behulp van de microscopische telling van een subgingivaal monster kan aldus routinematig het resultaat van de initiële therapie worden geëvalueerd en eventueel de recallperiode worden verlengd.<sup>5</sup> In recidiverende pockets kan met deze betrekkelijk eenvoudige test worden vastgesteld of verdere reiniging is geïndiceerd dan wel een antimicrobiële therapie dient te worden overwogen.

### 6.3 Identificatie

Identificatie van de pocketflora kan van belang zijn bij afwezigheid van spirocheten in het subgingivale monster van een recidiverende pocket. De identificatie van de gidsbacteriën *Bacteroides* en/of *Actinobacillus* is een voorwaarde voor het gebruik van antibiotica ter ondersteuning van de parodontale therapie (tab. V).<sup>3</sup>

In verschillende studies is gebleken dat ter bestrijding van de anaërobe pocketflora inclusief spirocheten en *Bacteroides* het gebruik van metronidazol te zamen met mechanische reiniging tot de gewenste resultaten leidt.<sup>12, 13</sup> Dit geldt in mindere mate voor het gebruik van tetracyclines ter bestrijding van *Actinobacillus*. Ondanks de gevoeligheid van Aa voor deze antibiotica bleek bijvoorbeeld deze bacterie slechts bij vier van de acht patiënten na behandeling te verdwijnen en trad bij twee van de acht patiënten recidief op.<sup>14</sup> Recent heeft Van Winkelhoff en medewerkers laten zien dat met een combinatie van antibiotica *A. actinomycetemcomitans* kan worden bestreden.<sup>15</sup> Uit hun onderzoeksverslag blijkt tevens dat bij het voorschrijven van antibiotica de tandarts rekening dient te houden met het optreden van bijwerkingen. Verder onderzoek zal moeten uitwijzen, of de eliminatie van de Aa daadwerkelijk leidt tot een beter klinisch resultaat op lange termijn.<sup>14</sup>

Ondanks het feit dat het gebruik van antibiotica in de parodontologie in een experimenteel stadium verkeert, wordt een toename geconstateerd in het voorschrijven van antibiotica door de tandartsen in Nederland.<sup>16</sup> Het aanbod van bacteriologische identificatie en gevoeligheidstests

(tab. I) evenals de begeleiding door de laboratoria voor orale microbiologie in Amsterdam en Nijmegen leiden hopelijk tot een beperkt en rationeel gebruik van antibiotica in de praktijk.<sup>3, 17</sup> In dit kader wordt de deelname van tandartsen aan een plaatselijk geneesmiddelenoverleg met apothekers en artsen aanbevolen. Gevreesd wordt dat een onvoorzichtig antibioticagebruik zal leiden tot een toename van complicaties zoals abscesvorming en verstoring van residente microflora.<sup>18</sup> De residente microflora vervult een belangrijke rol in de gastheerafweer. Verstoring van die flora kan leiden tot overgroei van bacteriesoorten zoals enterobacteriën of *Pseudomonas* die niet in de mond thuis horen.<sup>19</sup>

## SUMMARY

### BACTERIOLOGICAL TESTS IN PERIODONTAL PRACTICE

Key words: Periodontology - Bacteriology - Antibiotics

The specificity, sensitivity and predictive value of bacteriological tests in periodontology are reviewed. It is stated that the bacteriological aim in periodontal therapy is *the change of the subgingival flora in a facultative flora which is compatible with the host*.

Bacteriological tests can be used to identify indicator bacteria. It is discussed how a microscopical or a bacteriological identification test can support periodontal diagnoses and indication of periodontal therapy.

## LITERATUUR

- TER STEEG PF. Synergistic growth of oral human anaerobic microflora. Nijmegen: Katholieke Universiteit, 1989. Academisch proefschrift.
- BAGGEN JL, LEFFERS P, VAN LEEUWEN YD. Het testdiagram, een visueel hulpmiddel bij de interpretatie van testuitslagen. Ned Tijdschr Geneesk 1984; 128: 1656-95.
- MIKX FHM. Antibacteriële behandeling van parodontale ontstekingen. Ned Tijdschr Tandheelkd 1988; 95: 239-43.
- MIKX FHM. Microscopie in de parodontale praktijk. In: Van der Kwast WAM, ed. Het Tandheelkundig Jaar 1988: 26-340. Utrecht: Bohn Scheltema en Holkema, 1988.
- LISTGARTEN MA, SCHIFTER P, SULLIVAN, GEORGE C, ROSENBERG ES. Failure of a microbial assay to reliably predict disease recurrence in a treated periodontitis population receiving regularly scheduled prophylaxes. J Clin Periodontol 1986; 13: 768-773.
- OOSTERWAAL PJM, MATEE MI, MIKX FHM, VAN 'T HOF MA, RENGGLI HH. The effect of subgingival debridement with hand and ultrasonic instruments on the subgingival microflora. J Clin Periodontol 1987; 14: 528-33.
- SLOTS J, LISTGARTEN MA. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. J Clin Periodontol 1988; 15: 85-93.
- ZAMBON JJ, REYNOLDS HS, SLOTS J. Black-pigmented *Bacteroides* Spp. in the human oral cavity. Infect Immun 1981; 32: 198-203.
- GENCO RJ, ZAMBON JJ, CHRISTERSSON LA. Use and interpretation of microbiological assays in periodontal diseases. Oral Microbiol Immunol 1986; 1: 73-9.
- ASIKAINEN S, JOUSIMIES-SOMER H, KANERVO A, SAXEN L. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and clinical periodontal status in Finnish juvenile periodontitis patients. J Periodontol 1986; 57: 91-3.
- LEWIS MAO, McFARLANE TW, McGOWAN DA. Reliability of sensitivity testing of primary culture of acute dentoalveolar abscess. Oral Microbiol Immunol 1988; 3: 177-80.
- VAN OOSTEN MAC, MIKX FHM, RENGGLI HH. Microbial and clinical measurement of periodontal pockets during sequential periods of non-treatment, mechanical debridement and metroidazole therapy. J Clin Periodontol 1987; 14: 197-204.
- GENCO RJ. Antibiotics in the treatment of human periodontal diseases. J Periodontol 1981; 52: 545-58.
- MANDELL RL, SOCRANSKY SS. Microbiological and clinical effects of surgery plus doxycycline on juvenile periodontitis. J Periodontol 1988; 59: 373-9.
- VAN WINKELHOFF AJ, RODENBURG JP, GOENE RJ, ABBAS F, WINKEL EG, DE GRAAFF J. Metronidazole plus amoxicillin in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. J Clin Periodontol 1989; 16: 128-31.
- RANG JA, PAES AHP. Het voorschrijven van geneesmiddelen door tandartsen en overleg met apothekers. Ned Tijdschr Tandheelkd 1987; 94: 123-7.
- MIKX FHM. Microbiologische detectie van cariërisicopatiënten in de praktijk. Ned Tijdschr Tandheelkd; voor publikatie aanvaard.
- VAN DER VELDEN U, ABBAS F, VAN STEENBERGEN TMJ, et al. Prevalence of periodontal breakdown in adolescents and presence of *actinobacillus actinomycetemcomitans* in subjects with attachment loss. J Periodontol 1989; 60: 604-10.
- TOPOLL HH, LANGE DE, MÜLLER RF. Multiple periodontal abscesses after systemic antibiotic therapy. J Clin Periodontol 1990; 17: 264-7.
- SLOTS J, RAMS TE, LISTGARTEN MA. Yeast, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. Oral Microbiol Immunol 1988; 3: 47-52.