

Occlusale dentinelaesies onder een klinisch ogenschijnlijk intact glazuerooppervlak

Een bacteriologisch onderzoek

Samenvatting. Van 11 elementen met een occlusale laesie onder een klinisch ogenschijnlijk gaaf oppervlak werden de dentinemonsters bacteriologisch onderzocht. In het overwegend zachte, licht gekleurde dentine werden meestal mutans streptococci en lactobacillen aangetroffen. De resultaten suggereren actieve laesies, die volgens de huidige inzichten een curatief restauratieve behandeling vereisen.

WEERHEIJM KL, DE SOET JJ, VAN AMERONGEN WE, DE GRAAFF J. Occlusale dentinelaesies onder een klinisch ogenschijnlijk intact glazuerooppervlak. Een bacteriologisch onderzoek. Ned Tijdschr Tandheelkd 1992; 99: 213-6.

K.L. Weerheijm, tandarts¹
J.J. de Soet, biochemicus²
W.E. van Amerongen, tandarts¹
J. de Graaff, microbioloog²

Uit de ¹vakgroep Kindertandheelkunde en de ²vakgroep Orale microbiologie van het Academisch Centrum Tandheelkunde Amsterdam (ACTA).

Trefwoorden: Cariologie – Bacteriologie

Datum van acceptatie: 16 augustus 1991.

Adres: Mevr. K.L. Weerheijm, ACTA, Louwesweg 1, 1066 EA Amsterdam

1 Inleiding

De diagnose van occlusale cariës kan moeilijk zijn,¹ vooral wanneer het gaat om dentinelaesies die schuilgaan onder een ogenschijnlijk gaaf glazuerooppervlak.² In de Engelstalige literatuur worden deze laesies ook wel aangeduid als 'hidden' of 'occult caries';³⁻⁵ in dit artikel zal de term 'verborgen cariëslaesie' gehanteerd worden.

Vooralsnog speelt de bitewing een belangrijke rol bij de diagnostiek van deze laesies. Op de bitewing is bij dit soort laesies een duidelijke radiolucentie waarneembaar onder het glazuur van het occlusale vlak, terwijl het element bij klinische inspectie gaaf lijkt.

Over het ontstaan van verborgen cariëslaesies is weinig bekend. Ligt er een speciale bacteriële samenstelling aan ten grondslag of speelt de toegenomen toepassing van fluoridepreparaten een rol?³⁻⁵ Het voorkomen van dit soort laesies is echter geen nieuw verschijnsel: in 1931 wordt er al melding van gemaakt door Hyatt.⁷ De fissuurvorm mag dan ook niet geheel worden uitgesloten als factor bij het ontstaan van dit soort laesies. De hernieuwde belangstelling voor deze laesies is gelegen in het feit dat het idee bestaat dat verborgen

cariës tegenwoordig frequenter wordt waargenomen dan enkele jaren geleden.⁶

Het doel van dit onderzoek is inzicht te verkrijgen in de bacteriële samenstelling van de verborgen occlusale cariës. Tevens wordt de bacteriële flora van het speeksel van patiënten met verborgen laesies vergeleken met het speeksel van patiënten uit een controlegroep zonder dit soort laesies. Aan de hand van de resultaten wordt een behandelingsvoorstel voor deze verborgen cariëslaesies gegeven.

2 Materiaal en methode

2.1 Klinische selectie

Uit het patiëntenbestand van de vakgroep Kindertandheelkunde van het Academisch Centrum Tandheelkunde Amsterdam werden negen personen in de leeftijd van acht tot 18 jaar met 11 elementen met verborgen cariëslaesies geselecteerd. De selectie van de elementen werd uitgevoerd door getrainde tandartsen en was gebaseerd op de volgende criteria:

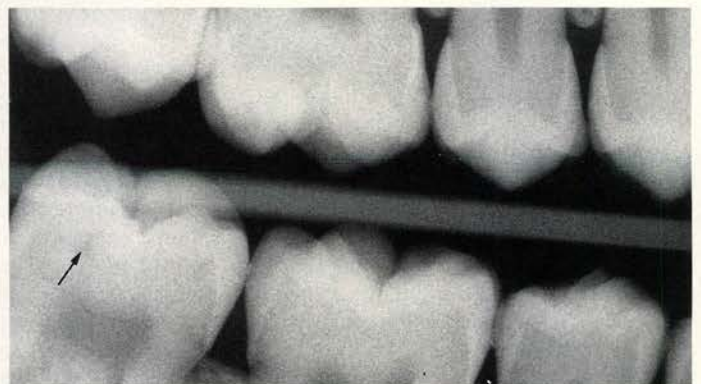
1. Het element moet bij klinische inspectie een gaaf glazuerooppervlak hebben (zie afb. 1a). Hierbij wordt gebruik gemaakt

van spiegel, luchtblazer en operatielamp. De sonde wordt hierbij alleen gehanteerd om de te beoordelen fissuren te reinigen.

2. Op de bitewing moet een duidelijke radiolucentie onder het occlusale vlak zichtbaar zijn (zie afb. 1b).

2.2 Verzameling van klinische gegevens

Uit de fissuur van het te behandelen element werd plaque verzameld met behulp van een met watten omwikkelde ruimer en gesuspenderd in een flesje met 1 ml 'reduced transport fluid' (RTF).⁸ Gedurende vijf minuten werd daarna gestimuleerd speeksel verzameld waarvan ter plaatse het volume en de buffercapaciteit (met behulp van Dentobuff®-strips) werden bepaald. Bij het gebruik van Dentobuff®-strips kan aan de hand van de kleur op de teststrip een groepsindeling worden gemaakt. Een pH van ≤ 4 (een geelbruine kleur) is gerelateerd aan een lage buffercapaciteit, een pH 4,5-5,5 (groene kleur) aan een gemiddelde en een ≥ 6 (blauwe kleur) aan een hoge buffercapaciteit. Indien sprake was van een mengsel van kleuren, werd de laagste pH genoteerd. De speekselmonsters werden



Afb. 1. Element met een klinisch ogenschijnlijk gave fissuur (links). Radiolucentie onder de occlusale fissuur aangegeven door de pijl (rechts). (Opmerking: de Redactie heeft de originele bitewing gezien. De daarop duidelijk zichtbare radiolucentie blijkt niet of nauwelijks in gedrukte vorm zichtbaar te zijn.)

Tabel Ia. Patiëntenleeftijd met speekselparameters van een groep personen met verborgen cariës.

Patiënt	Leeftijd (j)	Speekselbuffercapaciteit ¹	Speekselsecretiesnelheid ²	<i>S. mutans</i> (log cfu/ml)	<i>S. sobrinus</i> (log cfu/ml)
1	10	2	1,00	5,08	2,48
2	8	2	0,20	5,26	5,48
3	12	2	0,96	6,60	NG
4	14	3	0,72	6,83	4,41
5	15	3	0,85	6,67	4,78
6	18	2	1,32	5,79	6,34
7	14	2	1,56	6,60	4,00
8	14	1	0,72	5,18	NG
9	16	3	1,88	7,26	5,85

Tabel Ib. Speekselparameters uit de controlegroep.

Patiënt	Leeftijd	Speekselbuffercapaciteit ¹	Speekselsecretiesnelheid ²	<i>S. mutans</i> (log cfu/ml)	<i>S. sobrinus</i> (log cfu/ml)
C1	11	3	1,02	6,28	NG
C2	17	2	1,26	7,42	6,22
C3	6	3	0,40	7,58	6,53
C4	18	3	1,58	6,58	NG
C5	9	3	0,52	4,60	NG
C6	15	2	0,84	5,04	NG
C7	16	2	1,56	6,00	4,60
C8	6	3	0,62	5,43	4,60
C9	11	3	1,84	5,18	4,78
C10	12	3	0,94	5,56	NG

1: Speeksel buffercapaciteit, gemeten met Dentobuff®: 1: laag; 2: gemiddeld; 3: hoog.
2: Speeksel secretiesnelheid in ml/min. NG: Niet gevonden.

voor verder bacteriologisch onderzoek in goed afgesloten buisjes bewaard. Na het verzamelen van de speekselmonsters werd het element onder cofferdam geplaatst en gereinigd met puimsteen. Hierna werden alleen nog maar steriele instrumenten gebruikt.

Het element werd met een kleine diamantboor op de meest verdachte plaats geopend tot aan de glazuur-dentinegrens. Tijdens het prepareren werd gekoeld met steriel pyrogeenvrij water. Net onder de glazuur-dentinegrens werd met een ronde boor en een excavator een dentinemonster verzameld (monster A) en bewaard in een buisje met 1 ml RTF, waarna met een ronde boor de cariës verder werd verwijderd, totdat bijna alle cariës verwijderd leek. Vervolgens werd een tweede dentinemonster (monster B) verzameld op dezelfde wijze als het eerste. De speeksel-, dentine- en plaquemongsters werden direct voor verdere verwerking naar de afdeling Orale Microbiologie vervoerd en binnen één uur verwerkt. Na de verzameling van het B-monster werd de laatste cariës verwijderd en werd de preparatie afgemaakt en gevuld met amalgaam. Naast de speekselmonsters van de experimentele groep zijn ook speekselmonsters van tien patiënten met een ver-

gelijkbare leeftijd en tandheelkundig verleden, zonder gediagnostiseerde verborgen cariëslaesies, onderzocht.

2.3 Bacteriologische tests

Elk monster werd op ijs gesonificeerd (tienmaal 1 sec.) en vervolgens onderzocht op de aanwezigheid van mutans streptococci en lactobacillen. Daarnaast werd het totaal aantal anaërobe bacteriën bepaald ('colony forming units'). Voor de bepaling van de mutans streptococci werden geschikte verdunningen van het monster gekweekt op een nitrocellulose membraan, dat gesitueerd was op een bloedagarplaat. Na twee dagen van incubatie bij 37° C (anaëroob) werden de mutans streptococci geïdentificeerd en geteld met behulp van een immunochemische kleuring. Daarbij werd gebruik gemaakt van monoclonale antistoffen, specifiek voor de verschillende mutans streptococci soorten.⁹

Lactobacillen werden aangetoond op een Rogasa-plaat, na vier dagen anaëroob te zijn gekweekt. Voor de bepaling van het totaal aantal micro-organismen werd een niet-selectieve bloedagarplaat gebruikt. Alle incubaties werden uitgevoerd in een

anaërobe kamer (80% N₂, 10% CO₂, 10% H₂) bij 37° C.

3 Resultaten

De aantallen mutans streptococci in het speeksel zijn weergegeven in tabel I. De speekselmonsters van de onderzoeksgroep bevatten in 55% van de monsters meer dan 10⁶ mutans streptococci per ml speeksel. De speekselsecretiesnelheid was gemiddeld 1,02 ml per speeksel per minuut (0,2 tot 1,88 ml), terwijl de buffercapaciteit varieerde van laag tot hoog (zie tab. Ia). Het speeksel van de patiënten van de controlegroep (zie tab. Ib) bevatte in 50% van de monsters meer dan 10⁶ mutans streptococci per ml speeksel, de secretiesnelheid was gemiddeld 1,06 ml speeksel per minuut (0,4 tot 1,84 ml), terwijl de buffercapaciteit varieerde van gemiddeld tot hoog. De buffercapaciteit van de verschillende groepen verschilde niet significant van elkaar (chi-kwadraat = 3,06, df = 2, n.s.). Ook de secretiesnelheid liet geen significante verschillen tussen de groepen zien (t = -0,15, df = 17, n.s.). Hetzelfde gold voor het aantal mutans streptococci in het speeksel (chi-kwadraat = 1,53, df = 1, n.s.).

In tabel II zijn de resultaten van de dentinemonsters uit de onderzoeksgroep te zien. Hieruit bleek dat alle A-monsters (met uitzondering van element 47 van patiënt nummer 6) op bloedagar tussen de 10² en 10⁵ kolonievormende eenheden (cfu) per monster bevatten. De B-monsters bevatten (met uitzondering van het B-monster van patiënt nummer 1, waar geen micro-organismen aangetoond konden worden) tussen 10 en 10⁴ cfu per monster. In alle A-monsters werden mutans streptococci aangetroffen; in acht A-monsters werden eveneens lactobacillen gevonden. De andere micro-organismen die werden aangetroffen waren Gram-positieve staven die niet nader zijn geïdentificeerd. In de B-monsters werden bij de meeste elementen dezelfde micro-organismen aangetroffen als in de A-monsters.

In de A- en B-monsters van element 47 van patiënt nummer 6 werden slechts twee kolonies *S. mutans* aangetroffen, terwijl er geen andere bacteriën werden gevonden. Het dentine van dit element was na openen zwart van kleur en hard van consistentie, terwijl het dentine van de andere elementen zacht van consistentie was en in kleur varieerde van wit tot bruin, waarbij de lichte kleur duidelijk vaker voorkwam.

De plaquesamenstelling met betrekking tot mutans streptococci en lactobacillen staat beschreven in tabel III. De plaquemongsters bevatten op bloedagar tussen de 10² en 10⁶ cfu per monster. In twee plaquemongsters (patiënt 4, 7) werd een extreem hoog percentage *S. mutans* aangetroffen. De percentages *S. sobrinus* en lactobacillen

en de plaque waren over het algemeen laag. Vergelijking van de plaquemongsters (tab. III) met de dentinemonsters (tab. II) laat zien dat de floramenstelling van de beide monsters verschilt.

4 Discussie en conclusie

Het is algemeen geaccepteerd dat mutans streptococci betrokken zijn bij het ontstaan van cariës en dat lactobacillen bij de verdere ontwikkeling van de laesies een belangrijke rol kunnen spelen.^{10 11} Deze twee groepen bacteriën werden in relatief hoge percentages aangetroffen in het dentine van de onderzochte verborgen cariëslaesies. De verhoudingen tussen *S. mutans*, *S. sobrinus* en lactobacillen in de plaque waren verschillend ten opzichte van de verhoudingen in de dentinemonsters. Gezien de zorgvuldig gehanteerde aseptische methode suggereren deze resultaten dat de bacteriologische monsters niet gecontamineerd zijn door bacteriën uit de plaque maar een afspiegeling zijn van de samenstelling van de dentineflora. Het feit dat dezelfde micro-organismen worden aangetroffen in 'gewone' cariëslaesies doet vermoeden dat de demineralisatieprocessen mogelijk gelijk zijn in beide typen laesies.

Een duidelijk verschil met 'gewone' laesies is dat er bij de onderzochte elementen de variatie in micro-organismen, zoals die gevonden wordt in de 'gewone' laesies, ontbreekt.¹² Procentueel werden er veel meer mutans streptococci en lactobacillen aangetroffen ten opzichte van andere micro-organismen. De hoge percentages mutans streptococci in het dentine van de meeste onderzochte elementen doen vermoeden dat er een selectie ten gunste van mutans streptococci heeft plaatsgevonden. Dit zou kunnen wijzen op de beschikbaarheid van bacterieel substraat zoals suikers in het dentine. Dit fenomeen behoeft nader onderzoek.

Patiënten die meer dan 10^6 mutans streptococci per ml speeksel bezitten worden wel aangeduid als 'cariës risicopatiënten'.¹⁰ In beide groepen bevatte de helft van de onderzochte monsters meer dan 10^6 mutans streptococci per ml speeksel. Zowel in de controle- als in de experimentele groep bleek er geen correlatie te zijn tussen het aantal mutans streptococci in het speeksel en de aanwezigheid van 'gewone caviteiten' of ontkalkingen. Het bleek op grond van de speeksamenstelling niet mogelijk om patiënten met verborgen laesies te selecteren.

Klinisch worden de beschreven laesies als een actief proces beoordeeld. Alleen het element 47 van patiënt nummer zes gaf na opening een geremineriseerd aspect te zien terwijl er slechts zeer lage aantallen mutans streptococci werden gevonden. Dit suggereert een relatie tussen de klini-

Tabel II. Bacteriologische gegevens van de dentinemonsters van elementen met verborgen cariës.

pat	Dentinemonster A					Dentinemonster B			
	elem	tot ¹	mut ²	sob	lac	tot ¹	mut ²	sob	lac
1	46	5,0	34	NG	<1	0,0	NG	NG	NG
2	36	4,6	10	3,5	43	2,9	5	36	7
3	37	4,6	1	NG	5	4,9	11	NG	<1
4	36	3,7	5	NG	3	1,7	99	NG	<1
5	47	4,5	18	NG	10	4,8	3	NG	<1
6	47	0,0	100	NG	NG	0,0	100	NG	NG
	37	2,0	62	35	NG	1,8	5	NG	NG
7	47	4,3	38	2	7	4,3	22	<1	77
8	46	5,5	35	28	28	3,0	8	1	17
9	25	2,3	100	NG	NG	2,5	35	NG	NG
	34	3,5	7	70	70	2,5	47	NG	5

1: Totaal aantal kolonievormende eenheden op bloedagar (log cfu per dentine-monster).

2: Percentages van respectievelijk *S. mutans*, *S. sobrinus* en lactobacillen ten opzichte van het totaal aantal bacteriën. NG: Niet gevonden.

Tabel III. Percentages *S. mutans*, *S. sobrinus* en lactobacillen in de tandplaque van de elementen met verborgen cariëslaesie.

Patiënt	Element	Totaal log cfu	<i>S. mutans</i>	<i>S. sobrinus</i>	Lactobacillen
1	46	2	NG	NG	NG
2	36	5	6	10	NG
3	37	6	3	3	<1
4	36	3	70	NG	7
5	47	6	NG	<1	<1
6	47	5	2	<1	NG
	37	4	NG	NG	NG
7	47	6	83	NG	<1
8	46	5	2	NG	NG
9	25	4	7	NG	NG
	34	5	17	NG	NG

De aantallen micro-organismen zijn weergegeven als percentage t.o.v. het totaal aantal log cfu op bloedagar. NG: Niet gevonden.

Summary

HIDDEN DENTAL CARIES IN OCCLUSAL SURFACES

Key words: Dental caries – Bacteriology

Dentine samples of teeth from patients with occlusal lesions beneath an apparently intact enamel surface were bacteriologically examined. For this purpose two dentine samples, one from the dentino-enamel junction (A) and one just before all caries appeared to be removed clinically (B), were taken under aseptic conditions. In most cases the A and B samples contained considerable numbers of mutans streptococci and lactobacilli, while the dentine after opening was soft with a light colour. These results suggest that one is dealing with active caries lesions, which should be treated as such. Comparison of the saliva data from the patients group with the saliva data of a control group showed no significant differences concerning the numbers of mutans streptococci, secretion rate and buffer capacity.

sche verschijningsvorm en het aantal micro-organismen in een cariëslaesie; een klinisch inactief beeld is gecorreleerd aan weinig micro-organismen.

De molaren die bij dit onderzoek nader bekeken zijn, zijn allemaal ondermolaren. Dit zou kunnen suggereren dat een verborgen laesie veelvuldiger in de onderkaak dan in de bovenkaak wordt aangetroffen. Deze bevinding is in overeenstemming met de resultaten uit een recent onderzoek bij Schotse adolescenten.¹³

Ondanks het feit dat in één geval mogelijk sprake is van een inactief geworden proces lijkt het verstandig, zolang de factoren die hierbij een rol spelen niet bekend zijn, de beschreven laesies als actieve laesies te beschouwen. Dit betekent dat een invasieve therapie voornamelijk geïndiceerd is.

Literatuur

- ¹WEERHEIJM KL. Klinische en röntgenografische diagnostiek van occlusale cariës. In: Van der Kwast WAM, Carels CEL, Carlée A et al, eds. Het tandheelkundig jaar 1990. Utrecht: Bohn, Scheltema en Holkema, 1990: 92-101.
- ²WEERHEIJM KL, VAN AMERONGEN WE, EGGINK CO. The clinical diagnosis of occlusal caries: a problem. *J Dent Child* 1989; 56: 196-200.
- ³LEWIN DA. Fluoride syndrome. *Br Dent J* 1985; 158: 39.
- ⁴BALL IA. The 'fluoride syndrome': Occult caries? *Br Dent J* 1986; 160: 75-6.
- ⁵PAGE J. The 'fluoride syndrome': Occult caries? *Br Dent J* 1986; 160: 228.
- ⁶SAWLE RFD, ANDLAW RJ. Has occlusal caries become more difficult to diagnose? *Br Dent J* 1988; 164: 209-11.
- ⁷HYATT TP. Observable and unobservable pits and fissures. *Dent Cosmos* 1931; 73: 586-92.
- ⁸SYED SA, LOESCHE WJ. Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl Microbiol* 1972; 24: 638-44.
- ⁹DE SOET JJ, HOLBROEK WP, VAN AMERONGEN WE, SCHIPPER E, HOMBURG CHE, DE GRAAFF J. Prevalence of *Streptococcus sobrinus* in relation to dental caries in children from Iceland and The Netherlands. *J Dent Child* 1990; 57: 337-42.
- ¹⁰KRASSE B. Caries risk. A practical guide for assessment and control. Chicago: Quintessence Publishing Co., 1985.
- ¹¹LOESCHE WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiological reviews* 1986; 50: 353-80.
- ¹³CREANOR SL, RUSSEL JI, STRANG DM, BURCHELL CK. The prevalence of clinically undetected occlusal dentine caries in Scottish adolescents. *Br Dent J* 1990; 169: 126-9.