

PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/22400>

Please be advised that this information was generated on 2018-07-07 and may be subject to change.

De spirochetentest, een subgingivaleplak-verklikker

De relatie tussen tandplak en gingivitis is duidelijk. De bacteriemassa van de tandplak irriteert de gingiva die daarop reageert met een ontsteking. Het evenwicht tussen de gastheer en zijn microflora verschuift maar de bacteriële aanval wordt geneutraliseerd door de weerstand van de ontstekingsreactie. We zien wat zwelling en bloeding, zonder weefselverlies. Gingivitis is een ontsteking die lang stand kan houden maar ook snel kan genezen door eenvoudigweg de tandplak ter plaatse te verwijderen.

Onduidelijk is de overgang van gingivitis naar parodontitis. De balans tussen aanval en weerstand slaat bij parodontitis zo ver door dat er aanhechtingsverlies, weefselverlies en botverlies optreedt. De bacteriesoorten die bij parodontitis in de subgingivale plak worden aangetroffen komen ook voor bij gingivitis en in gezonde monden. Opvallend bij parodontitis is de selectieve uitgroei van de anaërobe Gram-negatieve bacteriën inclusief de spirocheten.

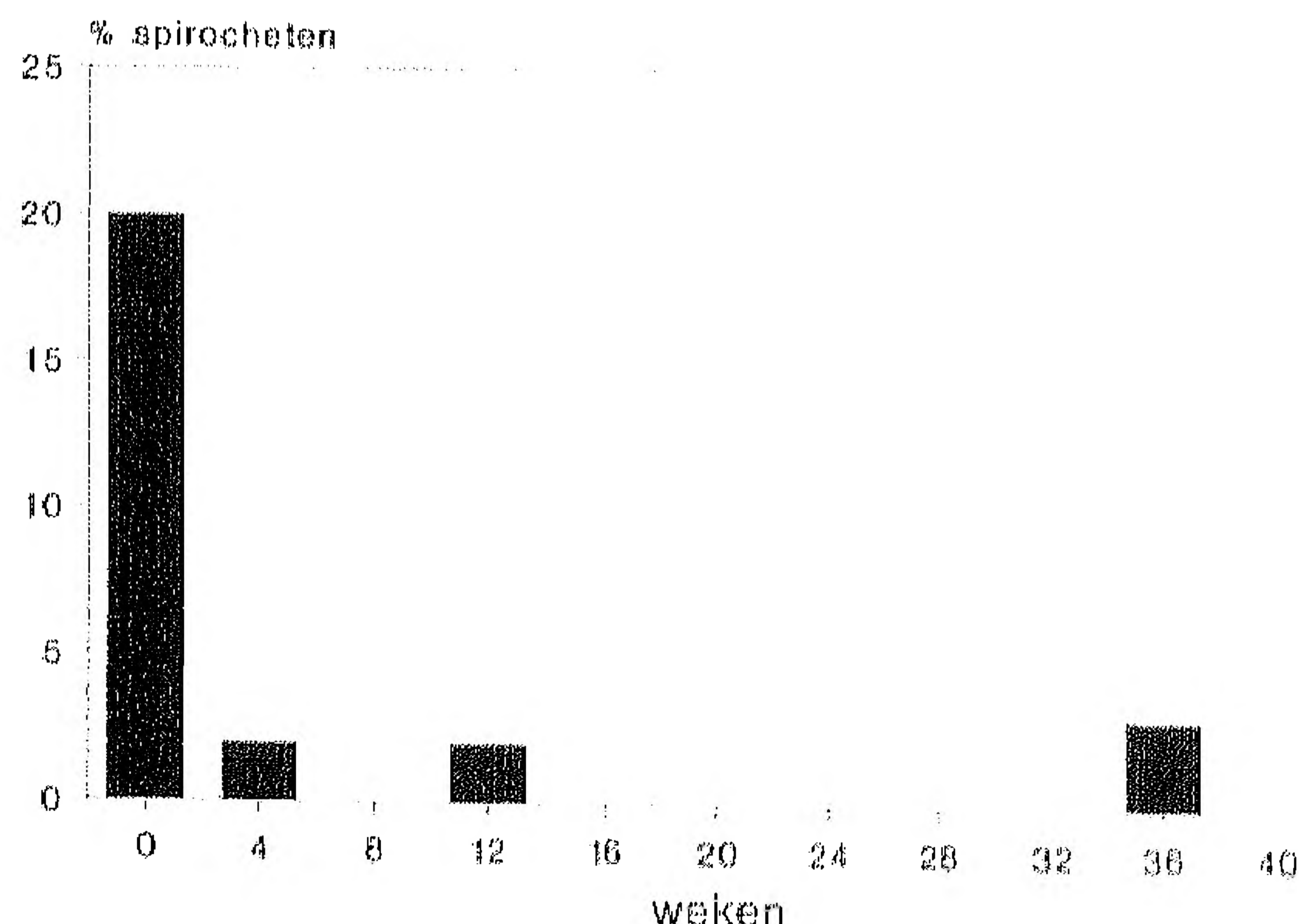
Climax

Op een schone tand komen maar weinig bacteriën voor, het zijn voornamelijk Gram-positieve kokken en staven die op het glazuur uitgroeien. Als de plak niet wordt verstoord komen er Gram-negatieve staafjes en fusobacteriën bij en na 5 à 7 dagen worden tenslotte spirocheten waargenomen. De spirocheten stellen veel eisen aan hun milieu. Zij zijn voor hun groei afhankelijk van andere bacteriën en van nutriënten in het exudaat afkomstig van de gastheer.

Bij de ontwikkeling van de soortenrijkdom van de tandplak staan de spirocheten aan de top van de successie. In de ecologie spreekt men dan van een climax-samenleving.

De subgingivale plak van verdiepte pockets kan zich ongestoord ontwikkelen, vrij van de invloed van borstels

Figuur 1 Het percentage spirocheten in subgingivale plak van in totaal 40 pockets vlak voor aanvang en 4, 12 en 36 weken na het uitvoeren van een geslaagde subgingivale scaling en rootplaning, naar Oosterwaal et al 1991¹



* Orale Microbiologie, Tandheelkunde KUN, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen

en stokers. Daarom is een climax-samenleving met een hoog percentage spirocheten in de pockets van parodontitispatiënten eerder regel dan uitzondering. Een opvallende uitzondering is de goed gereinigde restpocket waarin, maanden na reiniging, nog steeds het percentage spirocheten onderdrukt blijft (minder dan 5%), ofschoon vóór de subgingivale reiniging het percentage spirocheten meer dan 20% van de totale bacteriemassa uitmaakte (Figuur 1)¹.

Subgingivaleplak-verklikker

De theorie van de spirocheten in de climax-samenleving vormt de basis voor de Nijmeegse spirochetentest. De climax-samenleving in de parodontale pocket wordt door een goede subgingivale reiniging verstoord. Door scaling en rootplaning verdwijnen de bacteriën niet uit de rest pocket maar wel blijft lange tijd na een goede subgingivale reiniging het aandeel van de spirocheten in de subgingivale microflora laag. Deze waarnemingen sluiten aan op de bevindingen van Listgarten en medewerkers². Zij gebruikten onder andere het percentage spirocheten als indicator voor de recall-behandeling en toonden aan dat op grond van de microscopische test het nazorg of recall-interval van patiënten met een laag percentage spirocheten zonder meer kon worden verlengd (Tabel 1).

Spirocheten zijn gidsbacteriën voor de climax-samenleving (oude plak) en een anaeroob milieu. Zij kunnen worden ingezet bij de bepaling van de aanwezigheid van oude plakresten. De spirochetentest is een soort *subgingivaleplak-verklikker* die toegepast kan worden: ter diagnose van de subgingivale plak, ter evaluatie van de subgingivale reiniging (oude plakresten) en ter bepaling van het nazorg interval. In die zin is de spirocheter test in Nijmegen opgenomen in de PAOT cursussen maar ook in het reguliere onderwijs aan studenten en mondhygiënist.

De Nijmeegse spirochetentest

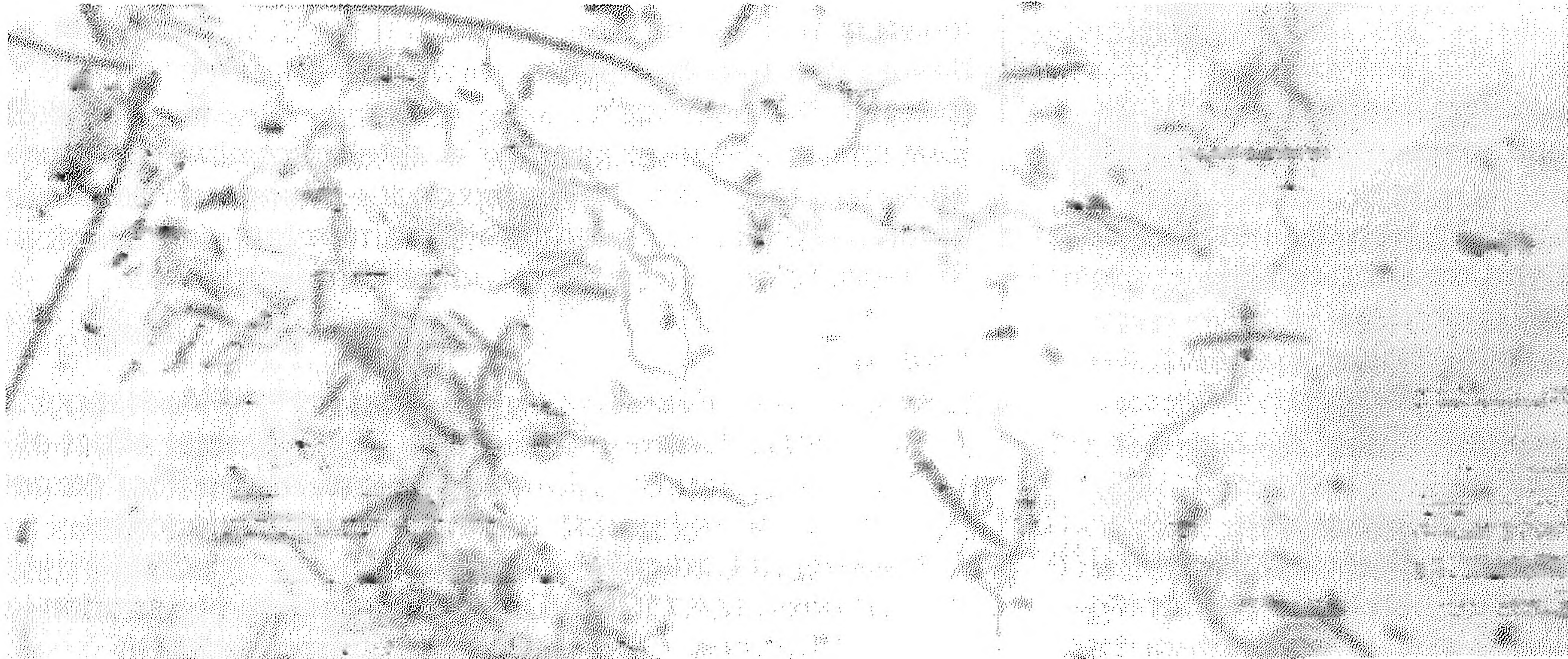
De microscopische test voor de bepaling van het percentage spirocheten in de subgingivale plak is in Nijmegen aangepast aan een normale lichtmicroscopie

Tabel 1

Nazorginterval en refractaire parodontitis in patiënten die iedere 3 maanden (Controle) en patiënten die op grond van de microscopische test (Test) een subgingivale reiniging ondergingen. Resultaten na 4 jaar, volgens Listgarten 1986².

	Controle	Test
Nazorginterval	3 maanden	17 maanden
Refractaire parodontitis*	38%	25%

* % patiënten met in 1 of meerdere pockets een verdieping van 3mm



Figuur 2
Een subgingivaal-plakmonster. De gekronkelde vormen zijn spirocheten. Bij parodontitispatiënten vormen spirochetes soms meer dan 40% van de pocketflora.

met een 100x olie-immersie objectief, ofschoon ook met een fasecontrast-, of donkerveld-microscoop zonder meer de zelfde resultaten kunnen worden bereikt. Het voordeel van de twee laatste microscopen is dat direct na de bemonstering, zonder kleuringstappen, een levendpreparaat kan worden beoordeeld. De nadelen zijn de hogere prijs van deze microscopen en de korte levensvatbaarheid van het preparaat (15 minuten) waardoor nog tijdens de zitting het preparaat moet worden beoordeeld.

De bepaling van het percentage spirochetes bestaat uit drie stappen: de monstername, de kleuring en de beoordeling (Tabel 2).

Monstername

De test is gericht op de subgingivale tandplak, daarom wordt op de plaats van de monstername eerst de supragingivale plak zorgvuldig met een curette verwijderd. Een dunne paperpoint (ISO norm 35) wordt langs het tandoppervlak zo diep mogelijk in de pocket aangebracht en na 15 seconden verwijderd.

De paperpoint met het subgingivale plakmonster wordt in een goed gecodeerd buisje met 1ml formaline gebracht. In deze toestand kan het monster worden bewaard tot het moment van beoordeling en indien ge-

wenst in een archief worden opgeslagen.

Bij fasecontrast- en donkerveld-microscopie wordt in het buisje geen formaline maar water gebruikt en worden de fixatie en kleuringstappen overgeslagen.

Fixatie en kleuring

Het buisje met daarin de paperpoint met subgingivale plak wordt heftig geschud bijvoorbeeld door het buisje tegen een amalgaammixer te houden. Op deze wijze komt de subgingivale plak los van de paperpoint en worden bacterieklonten uit elkaar getrild.

Met behulp van een pipet wordt 10 µl van de suspensie op een objectglaasje aangebracht. (Om achtergrondverstoringen te onderdrukken wordt in Nijmegen standaard het monster ook nog eens 5 x verdund in gedemineraliseerd water, 20 µl monster in 80 µl water).

De druppel met de suspensie wordt gedroogd en gefixeerd door het objectglaasje 10 min op een (koffie)verwarmingsplaatje te leggen of, na droging aan de lucht, het objectglaasje door een gasvlam te halen.

Het gefixeerde preparaat wordt met een druppel 2% kristalviolet oplossing gedurende 30 seconden gekleurd. Het objectglas wordt afgespoeld met water en vervolgens met lugol (kalium jodide oplossing) behandeld. Tenslotte wordt weer afgespoeld en gedroogd door het objectglas omgekeerd op een tissue te drukken.

Tabel 2

Werkwijze bij de "Nijmeegse" spirochetentest

- supragingivaleplak verwijderen
- paperpoint tot op pocketbodem aanbrengen
- na 15 sec paperpoint in 1ml formaline
- homogeniseren
- druppel van plaksuspensie op glaasje brengen
- fixeren op verwarmingsplaatje of door vlam
- kleuren met kristalviolet en lugol
- wassen met water en drogen op tissue
- bekijken met een 100x olie-immersie-objectief
- 200 bacterie-eenheden tellen
- percentage van spirochetes berekenen

<5% = laag, 5-10% = normaal, >10% = hoog.

Beoordeling

Het preparaat is na kleuring gereed voor de analyse. Het preparaat wordt voorzien van een druppel immersie-olie en in een lichtmicroscoop met een 100x objectief bekeken. Het monster moet homogeen zijn verdeeld en mag maar weinig bacterieklonten bevatten. Een willekeurig gezichtsveld wordt gekozen waarin alle bacteriën, inclusief de spirochetes, worden geteld (het onderscheid tussen bacteriën en vlekjes vereist enige oefening, bacterieklonten worden overgeslagen). Vervolgens worden in het zelfde gezichtsveld alle spirochetes geteld. Daarna wordt deze procedure net zo vaak herhaald totdat in totaal minstens 200 bacteriën, inclusief spirochetes zijn geteld. Tenslotte wordt het percentage berekend door het aantal spirochetes te delen door het totaal aantal bacteriën en te vermenigvuldigen met 100.

De spirochetentest, een subgingivaleplak-verklikker

Interpretatie

Als het percentage spirocheten is vastgesteld rijst de vraag naar de zin van de spirocheten telling met het oog op de toepassing.

De interpretatie van de testuitslag berust enerzijds op de kennis van de ecologie van de subgingivale microflora³ en anderzijds op klinisch onderzoek^{1,2}. Een spirocheten percentage onder 5% krijgt de score *laag*, een percentage tussen 5 en 9% krijgt de score *normaal* en een percentage van 10% en hoger krijgt de score *hoog*. De score hoog (>10% spirocheten) wordt gezien als een indicatie voor de aanwezigheid van oude plak.

Voordat een parodontitis patiënt behandeld wordt (initiële behandeling) zal men meestal een hoog percentage spirocheten in het subgingivale gebied aantreffen. Een spirochetentest is in deze fase voor behandelaar en patiënt eerder van informatieve dan van diagnostische waarde.

Bij de eerste nazorgzitting, 3 maanden na de initiële behandeling, kan de test mits afgenomen vóór de onderhoudsreiniging informatie verschaffen over het microbiële succes van de initiële therapie. Is het percentage hoog (>10%) dan wijst dat op oude plakresten en nog onvoldoende subgingivale reiniging. Is in deze fase het percentage spirocheten lager dan 10% dan zou op grond van de resultaten van Listgarten² kunnen worden afgezien van subgingivalereiniging en het onderhoudsinterval met 6 maanden kunnen worden verlengd. Het heeft geen zin om een spirochetentest direct na de reiniging uit te voeren, er zijn dan te weinig bacteriën en te veel bloedcellen in het preparaat.

Diagnose

De spirochetentest is van diagnostisch belang voor die pockets die niet reageren op de initiële therapie en ontstekingsverschijnselen blijven vertonen. Een hoog percentage spirocheten in deze pockets duidt erop dat het microbiële doel: subgingivaleplak-verwijdering en reductie van de Gram-negatieve bacteriën niet is bereikt. De ontstoken pockets met een hoog percentage spirocheten dienen opnieuw grondig gereinigd te worden⁴. Blijft ondanks herhaald reinigen het percentage hoog dan wordt de subgingivaleplak onvoldoende bereikt en is reiniging onder zicht, via een flapoperatie, geïndiceerd.

Algemeen

Het succes van de subgingivalereiniging is sterk afhankelijk van de mondhygiëne van de patiënt. De patiënt die op de plaats van de pocket(s) nog steeds supra-gingivaleplak vertoont zal eerst moeten worden geleerd deze plaats(en) schoon te houden met borstel, ragger of tandenstoker. Het is aan te raden de patiënt met plakverklikker en spiegel, lokaal te instrueren. De algemene poetsinstructie wordt in deze fase bekend geacht en leidt de aandacht af van het lokale probleem.

Tenslotte, de orale spirocheten behoren evenals de veroorzaker van syfilis tot het geslacht *Treponema* en hebben evenals andere orale bacteriën verschillende virulentie factoren maar komen in iedere mond voor. We

moeten er daarom voor waken dat we door onze microbiëletesten niet de patiënt verwarren en een of andere (poets)fobie bezorgen.

Een spirochetentest kan bij de auteur schriftelijk worden aangevraagd, maar het is bijzonder informatief de subgingivale plak zelf, eventueel tezamen met de patiënt, te beoordelen in een eenvoudige lichtmicroscop.

Literatuur

- 1 Oosterwaal PJM, Mikx FHM, Van 't Hof MA, Renggli HH (1991). Comparison of the antimicrobial effect of the application of chlorhexidine gel, amine fluoride gel and stannous fluoride gel in debrided periodontal pockets. *J Clinical Periodontology* 18: 245-251.
- 2 Listgarten MA (1986) Direct microscopy of periodontal pathogens. *Oral Microbiol Immunol* 1: 31-36
- 3 Loesche WJ (1988). The role of spirochetes in periodontal disease. *Advances in Dental Research* 2: 275-283.
- 4 Mikx FHM (1988) Microscopie in de parodontale praktijk. In: WAM van der Kwast, Het Tandheelkundig jaar 1988. Bohn, Scheitma en Holkema, Utrecht.