



De validiteit van een nieuwe cariësiindicator bij het aantonen van carieus, geïnfecteerd dentine

A.P.S. Knabben
E.A. de Waard
E.H. Verdonshot

Bij het excaveren van cariëslaesies worden vaak diagnostische tests uitgevoerd om te voorkomen dat gezond dentine onnodig wordt verwijderd. In dit onderzoek is de validiteit van een nieuwe, blauwkleurende cariësiindicator (Quadrant CariTest) onderzocht. Daartoe werden 25 vers geëxtraheerde gebits-elementen met cariëslaesies tot in het dentine onmiddellijk na extractie verzameld. De cariëslaesies werden stapsgewijs geëxcaveerd en van ongeveer 4 excavatiefasen per laesie werden een visuele (ordinaire) en een digitale blauwmeting verricht. Per fase werd ook een kleine hoeveelheid geëxcaveerd dentine op bloedplaten gekweekt. De correlatiecoëfficiënten van de ordinale en de digitale blauwmeting met het aantal micro-organismen op de bloedplaten, uitgedrukt in $\log(\text{CFU})/\text{ml}$, bedroegen respectievelijk 0,56 en 0,45. De sensitiviteit en de specificiteit van de ordinale blauwmeting bedroegen 0,69 en 0,83, die van de digitale blauwmeting 0,76 en 0,65. De oppervlakte onder de Receiver Operating Characteristic (ROC)-curve van ordinale blauwmetingen bedroeg 0,77, die van digitale blauwmetingen 0,70. Beide oppervlakten verschilden niet significant van elkaar ($p = 0,14$). Geconcludeerd werd dat de nieuwe cariësiindicator goed toepasbaar is tijdens de caviteitspreparatie om geïnfecteerd dentine aan te tonen.

KNABBEN APS, WAARD EA DE, VERDONSHOT EH. De validiteit van een nieuwe cariësiindicator bij het aantonen van carieus, geïnfecteerd dentine. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 2001; 108: 273-277.

Inleiding

Doel van de caviteitspreparatie en -restauratie is het tot stilstand brengen van het cariësproces. In tekstboeken wordt vrij algemeen aangenomen dat al het carieus weefsel moet worden verwijderd alvorens restauraties in de caviteit kunnen worden aangebracht. Onderzoek heeft aangetoond dat carieus dentine dat achtergebleven is onder composietrestauraties, kan leiden tot stilstand van het cariësproces (Mertz-Fairhurst *et al*, 1995). Tevens is aangetoond dat carieus dentine, achtergebleven op de glazuur-dentinegrens, zonder progressie onder amalgaamrestauraties aanwezig kan blijven (Kidd *et al*, 1996). Omdat ook composietrestauraties op enig moment lekkages kunnen vertonen, wordt aanbevolen om ook onder composietrestauraties geen carieus dentineweefsel achter te laten (Hörsted-Bindslev en Mjör, 1988; Thylstrup en Fejerskov, 1994).

Een veel toegepaste test op de aanwezigheid van carieus weefsel in de wanden van een caviteitspreparatie is het indrukken van de sondepunt in het dentine. 'Zacht' aanvoelend dentine wordt geassocieerd met gedemineraliseerd dentine (Kidd *et al*, 1996). De uitkomsten van deze test, die weinig gestandaardiseerd is, kunnen gemakkelijk fout-positief zijn, waardoor onnodig gezond dentine wordt geëxcaveerd, of fout-negatief, waardoor carieus dentine achterblijft. Vooral ook omdat de begrippen 'zacht' en 'hard' moeilijk objectiveerbaar bleken te zijn, werd door wetenschappers en de industrie gezocht naar andere tests.

Een cariëslaesie in dentine omvat een front van geïnfectede dentine en een buitenlaag van geïnfecteerd dentine. De buitenste laag bevat talloze micro-organismen en gedenatureerd collageen, en is niet meer volle-

dig remineraliseerbaar. De binnenste laag van de cariëslaesie bestaat uit niet-geïnfecteerd dentine dat enigszins verweekt, verkleurd en gedemineraliseerd is, maar wel volledig remineraliseerbaar is. De kleurstof basisch fuchsine blijkt in staat te zijn om de geïnfecteerde laag te kleuren, waardoor het geïnfectede en gezonde dentine zoveel mogelijk kan worden behouden. Excavatie van het met basisch fuchsine aangekleurde dentine resulteerde in caviteitswanden die qua hardheid goed overeen bleken te komen met de hardheid van onaangestast dentine (Fusayama *et al*, 1979).

De kleurstof werd in de conserverende tandheelkunde, en vooral in het onderwijs aan tandheelkunde studenten, toegepast. Later werd het basisch fuchsine vervangen door de niet-carcinogene voedingskleurstof 'acid red'. Onderzoeken naar de mate waarin acid-red, vaak aangeduid met de term 'cariësiindicator', het geïnfecteerde dentine aankleurt, tonen een acceptabele validiteit. Een van de weinige nadelen van deze rode kleurstof is de mogelijkheid om een doorschemerende pulpa te maskeren waardoor onopgemerkt de pulpa kan worden geëxponeerd.

Recentelijk werd een nieuwe cariësiindicator geïntroduceerd. Quadrant CariTest (Cavex Holland BV, Haarlem, Nederland), een in glycol opgeloste blauwe kleurstof, zou in staat zijn om het geïnfecteerde dentine te kleuren. In het hier beschreven onderzoek werd de validiteit van Quadrant CariTest bij het kleuren van carieus geïnfecteerd dentine onderzocht.

Materiaal en methode

In een laboratoriumonderzoek werden 25 blijvende gebits-elementen met cariëslaesies onderzocht. De

Samenvatting

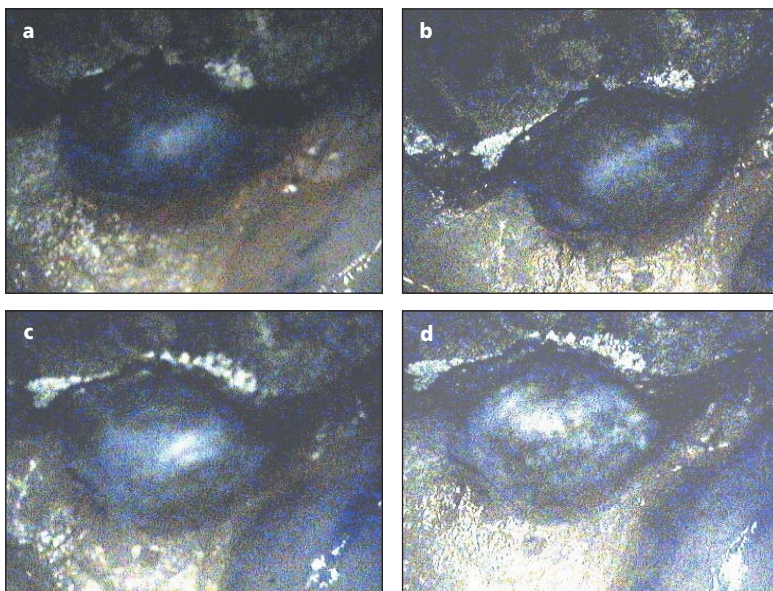
Trefwoorden:

- Cariës
- Cariologie
- Cariësiindicator

Uit de afdeling Cariologie en Endodontologie van het Universitair Medisch Centrum Sint Radboud te Nijmegen.

Datum van acceptatie: 31 oktober 2000.

Adres:
Dr. E.H. Verdonshot
UMC St. Radboud
Postbus 9101
6500 HB Nijmegen



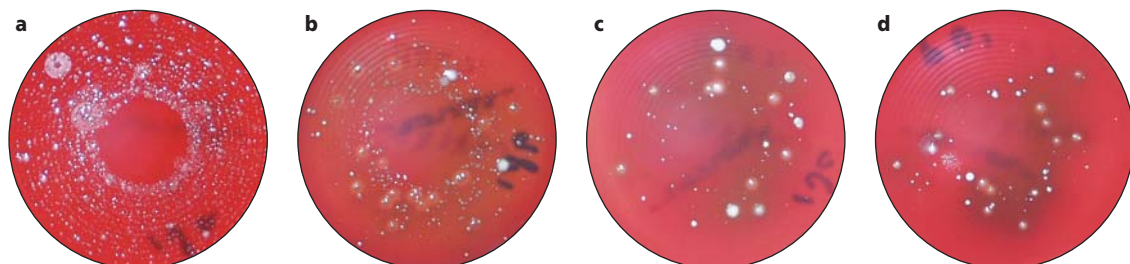
Afb. 1. Detailbeeld van vier excavatiefasen van een cariëslaesie. Afbeelding 1a toont de laesie na de eerste CariTest-kleuring en excavatie van het aangekleurde tandweefsel, hetgeen resulteerde in relatief veel Colony Forming Units (CFU's) zoals weergegeven in afb. 2a. Nadat de caviteit opnieuw werd aangekleurd volgden nog drie excavatiefasen (afb. 1b, 1c en 1d). Afbeelding 1d toont de blauwkleuring van gezond dentine. Deze drie fasen resulteerden in steeds geringere aantallen CFU's, zoals geïllustreerd in de afbeeldingen 2b, 2c en 2d.

Afb. 2. Bloedplaten met Colony Forming Units (CFU's) na incubatie van vier opeenvolgende monsters afkomstig van de vier excavatiefasen, afgebeeld in de afbeeldingen 1a, 1b, 1c respectievelijk 1d. De afname van de aantallen CFU's van excavatiefase 1a naar 1d is duidelijk waarneembaar.

gebitselementen werden in het kader van een behandelingsplan geëxtraheerd door tandartsen in de directe omgeving van het onderzoeksinstituut en onmiddellijk na extractie bewaard in fysiologisch zout. De gebitselementen werden binnen 24 uur na extractie ingevroren op een temperatuur van -70°C, zodat verwerking in het microbiologisch laboratorium kon worden ingepland.

Binnen 10 minuten na ontdooiing van de gebitselementen werd het glazuur rondom de cariëslaesie met een diamantboor onder waterkoeling zodanig verwijderd dat een goede visuele inspectie van de cariëslaesie mogelijk werd. Vervolgens werd het carieuze dentine aan de oppervlakte met een gedesinfecteerde, scherpe excavator of een langzaam draaiende, eveneens gedesinfecteerde ronde boor (150 rotaties per minuut) verwijderd. Met een gedesinfecteerde excavator werd van het buitenste carieuze dentine een monster van enkele microliters genomen en gedeponereerd in een reageerbuis gevuld met 0,5 ml fysiologisch zout. Vervolgens werd met een applicator Quadrant CariTest aangebracht en werd de caviteit na 10 sec. met waterspray uitgespoeld (5 sec.) en gedroogd (5 sec.). De blauwe kleurintensiteit werd op 2 manieren bepaald. Een visuele beoordeling van de blauwe kleurintensiteit werd onafhankelijk uitgevoerd door 2 gekalibreerde waarnemers, die daarbij gebruikmaakten van een ordinale 10-puntsschaal met als uitersten: 1 = niet blauw en 10 = maximaal blauw.

Van de gekleurde laesie werd met behulp van een intraorale videocamera (FlexiView, vergroting x50) een digitale Red-Green-Blue (RGB)-kleurenopname vervaardigd (afb. 1). In dit digitale beeld werd op de computer het gemiddeld aantal blauwe beeldpunten (pixels) binnen een window in het centrum van de cariëslaesie bepaald.



Dit gemiddelde werd gezien als representatief voor de mate van blauwkleuring. Hierna werd de aangekleurde laag dentine volledig verwijderd. Vervolgens werd de gehele procedure herhaald totdat de operateurs beide van mening waren dat de preparatie zich diep in gezond dentine bevond, daarbij geleid door de subjectief bepaalde hardheid (excavator) en kleur van het dentine. Op deze wijze werden per gebitselement 3 à 5 metingen verricht.

Er werd aangenomen dat de digitale blauwmeting van het laatste monster een onvermijdbaar minimum opleverde omdat ook volkomen gezond dentine nog enigszins blauw kleurde. Om de digitale kleurmeting te standaardiseren voor verschillen in belichting en camerapositionering werd de blauwmeting van het laatste monster afgetrokken van de blauwmetingen van de voorgaande monsters van hetzelfde gebitselement.

De elementen werden random verdeeld in groepen van 3 à 5 elementen en vervolgens microbiologisch onderzocht. In het microbiologisch laboratorium werd de inhoud van de reageerbuisjes gedurende 60 seconden op kamertemperatuur gemengd waarna zwaardere delen gedurende 90 seconden konden bezinken. Verdunningen werden gemaakt met behulp van steriel fysiologisch zout. Het eerste monster werd onverdund en in een verdunningenreeks van 1:10 en 1:100 ingezet; alle volgende monsters onverdund en in een verdunning van 1:10. De monsters werden geënt (Spiral plater, Don Whitley Scientific L.M., West Yorkshire, England) op een Columbia bloedplaat en gedurende 7 dagen onder anaërobe condities bij een temperatuur van 37°C geïncubeerd. De platen werden op dag 3 en dag 5 na aanvang van de incubatie partieel geteld en op dag 7 werd een totaal telling van alle micro-organismen uitgevoerd (afb. 2). Het totaal aantal micro-organismen per monster werd uitgedrukt in Colony Forming Units per milliliter testvloeistof (CFU/ml). In de statistische analyse werd de logaritme daarvan gebruikt.

De validiteit van CariTest om geïnfecteerd dentine aan te tonen wordt uitgedrukt in Pearson's correlatiecoëfficiënten, sensitiviteit en specificiteit en in de oppervlakte onder de Receiver Operating Characteristic (ROC)-curve. Om de sensitiviteit en de specificiteit te berekenen werden de gemiddelde ordinale blauwmetingen van de twee waarnemers gedichotomiseerd. Meetwaarden lager dan 4 werden omgecodeerd naar '0' (niet blauw) en de meetwaarden gelijk aan of hoger dan 4 werden omgecodeerd naar '1' (blauw). Van de digitale blauwmetingen werden de meetwaarden lager dan 7 omgecodeerd naar '0' (niet blauw) en de meetwaarden gelijk aan of hoger dan 7 werden omgecodeerd naar '1' (blauw). Van de logaritmen van het aantal CFU/ml werden de meetwaarden lager dan 3 omge-

codeerd naar '0' (niet geïnfecteerd dentine) en de meetwaarden gelijk aan of hoger dan 3 werden omgecodeerd naar '1' (feitelijk geïnfecteerd dentine).

De sensitiviteit van de test is de ratio van het aantal juist-positieve testresultaten en het totaal aantal feitelijk positieve testresultaten (feitelijk geïnfecteerd dentine). De specificiteit van de test is de ratio van het aantal juist-negatieve testresultaten en het totaal aantal feitelijk negatieve testresultaten (niet geïnfecteerd dentine). In dit onderzoek bepaalt de sensitiviteit het vermogen van de kleurstof om feitelijk geïnfecteerd dentine aan te tonen (dentine met 1.000 CFU/ml of meer), terwijl de specificiteit het vermogen van de test bepaalt om niet-geïnfecteerd dentine (dentine dat minder dan 1.000 CFU/ml bevat) aan te tonen.

Een ROC-curve zet de waarden van de sensitiviteit van de ordinale en de digitale blauwmetingen uit tegen 1 minus de waarde van de specificiteit. De oppervlakte onder de curve is een maat voor de validiteit van de blauwmetingen wanneer deze worden toegepast als een diagnostische test. De oppervlakten onder de ROC-curve van 2 diagnostische tests kunnen statistisch worden vergeleken met behulp van een area-test (Metz en Kronman, 1980).

Resultaten

In totaal werden 25 gebitselementen onderzocht, hetgeen resulteerde in 97 monsters en microbiologische analyses. De voorkomende micro-organismen gekweekt op de bloedplaten waren *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium* en *Veilonella*. De betrouwbaarheid van de visuele kleurbepaling door 2 beoordelaars, uitgedrukt in een correlatiecoëfficiënt, was 0,88, hetgeen duidt op een goede betrouwbaarheid. Tabel 1 toont de correlatie tussen de logaritme van het aantal CFU/ml van de 6 groepen van gebitselementen en de ordinale en de digitale blauwmetingen. De resultaten geven aan dat de correlatie van de blauwmetingen afhangt van de groep. De gemiddelde ordinale blauwmeting correleert beter met de CFU-tellingen ($r = 0,56$) dan de digitale blauwmetingen ($r = 0,45$). De sensitiviteit en de specificiteit van de ordinale interpretatie van Quadrant CariTest zijn respectievelijk 0,69 en 0,83 (tab. 2), hetgeen duidt op een acceptabele validiteit. De sensitiviteit en de specificiteit van de digitale interpretatie van Quadrant CariTest zijn respectievelijk 0,76 en 0,65, hetgeen eveneens duidt op een acceptabele validiteit.

Afbeelding 3 toont de ROC-curven voor de ordinale en de digitale blauwmetingen. De oppervlakte onder de ROC-curve van de ordinale blauwmetingen is 0,77, terwijl de oppervlakte onder de ROC-curve van de digitale blauwmetingen 0,70 is. De oppervlakten onder beide ROC-curven bleken niet statistisch significant van elkaar te verschillen ($p = 0,14$).

Een ROC-oppervlakte van 0,70 en 0,77 duidt op een acceptabele diagnostiek. Om een indruk te geven: de validiteit van de diagnostiek van kleine proximale

Tabel 1. Pearson's correlatie (r) tussen de logaritme van het aantal micro-organismen in het dentine, uitgedrukt in log(CFU)/ml, van 6 groepen gebitselementen en de ordinale en de digitale blauwmetingen.

Groep	Aantal gebitselementen	Correlatie tussen log(CFU)/ml en ordinale blauwmeting (r)	Correlatie tussen log(CFU)/ml en digitale blauwmeting (r)
1	4	0,66	0,76
2	3	0,27	0,63
3	4	0,57	0,14
4	4	0,77	0,21
5	5	0,32	0,41
6	5	0,75	0,56
Gemiddeld		0,56	0,45

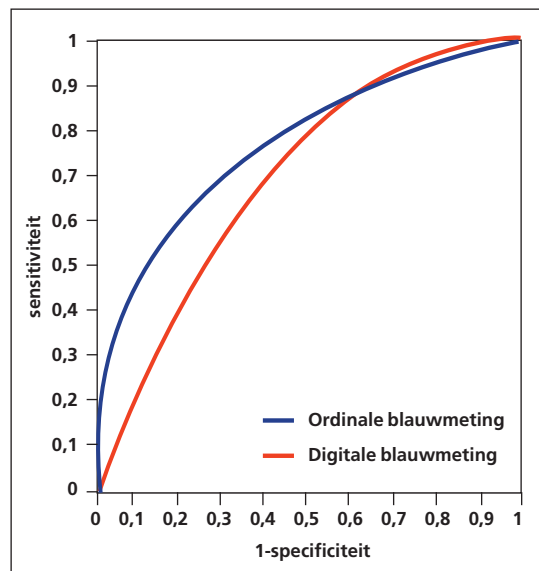
Tabel 2. Sensitiviteit, specificiteit en de oppervlakte onder de ROC-curve van visuele en digitale blauwmetingen.

	Sensitiviteit	Specificiteit	Oppervlakte onder ROC-curve
Ordinale blauwmeting	0,69	0,83	0,77
Digitale blauwmeting	0,76	0,65	0,70

cariëslaesies met behulp van bitewing-opnamen komt zelden boven de 0,77 uit. Die van kleine occlusale cariëslaesies komt vrijwel niet boven de 0,70 uit.

Discussie

In dit onderzoek werd de relatie tussen de mate van blauwkleuring van dentine door CariTest en de aantallen micro-organismen in het blauwgekleurde dentine onderzocht. Om deze reden is het begrip 'geïnfecteerd dentine' gehanteerd en niet het begrip 'cariëslaesie', omdat een cariëslaesie veel ruimer van betekenis is. Een cariëslaesie omvat immers ook het glazuur en in de onderhavige situatie is alleen carieus dentine onderzocht. Het feit dat in de leerboeken met betrekking tot caviteitspreparatie gerapporteerd wordt dat het geïnfecteerde dentine zou moeten worden verwijderd, was reden om alle aanwezige micro-organismen te tellen en dus niet alleen micro-organismen die cariës veroorzaken.



Afb. 3. ROC-curven van de ordinale en de digitale blauwmetingen.

De hogere correlatie tussen ordinale blauwmetingen en de aantallen CFU per milliliter ten opzichte van de digitale blauwmetingen zou verklaard kunnen worden doordat de beoordelaars bij de ordinale blauwmetingen werden beïnvloed door de wetenschap dat de mate van infectie afneemt met de diepte van de laesie, en derhalve ook de mate van blauwkleuring. Bovendien konden de digitale opnamen niet altijd onder exact dezelfde omstandigheden worden gemaakt en was door het excaveren en de daardoor veranderende ruimtelijke verhoudingen het centrum van de cariëslaesie op de opnamen niet altijd precies te reproduceren. Ook de verschillen tussen de groepen van gebitselementen (tab. 1) zijn mogelijk te verklaren uit het feit dat de digitale opnamen niet altijd onder exact dezelfde omstandigheden werden gemaakt. Mogelijk speelt hierbij ook een rol dat de tijd tussen extractie en invriezen van de gebitselementen niet gestandaardiseerd kon worden, waardoor in de ene groep meer micro-organismen werden behouden dan in de andere. Dit is tevens een mogelijke verklaring van de verschillen tussen de correlatiewaarden van de groepen gebitselementen (tab. 1).

De sensitiviteit van de digitale blauwmetingen (0,76) is hoger dan de sensitiviteit van de ordinale blauwmetingen. Dit betekent dat de digitale metingen beter dan de ordinale metingen het daadwerkelijk geïnfecteerde dentine aantonen. Dit gaat echter ten koste van de specificiteit want deze is aanzienlijk lager dan de specificiteit van de ordinale blauwmetingen. De relatief lage sensitiviteit van de ordinale blauwmetingen (0,69) geeft aan dat Quadrant CariTest de aanwezigheid van geïnfecteerd dentine neigt te onderschatten. Echter, de relatief hoge specificiteit indiceert dat gezond dentine in het algemeen niet zal worden verwijderd, maar dat er in enkele gevallen wel geïnfecteerd dentine zal worden achtergelaten. Het is vanzelfsprekend dat de ordinale blauwmetingen van dit onderzoek relevanter zijn dan de digitale blauwmetingen. De Quadrant CariTest zal in de praktijk immers alleen gebruikt worden in combinatie met een ordinale blauwmeting uitgevoerd met behulp van visuele

inspectie. Een sensitiviteit van 0,69 en een specificiteit van 0,83 bij de ordinale blauwmetingen betekent dat in de praktijk weliswaar in een aantal gevallen geïnfecteerd dentine zal worden achtergelaten, maar dat er relatief zelden onnodig gezond dentine zal worden verwijderd. Uit onderzoek blijkt dat carieus dentine, achtergelaten onder composietrestauraties kan leiden tot stilstand van het cariësproces, zodat CariTest met redelijke validiteit en derhalve relatief veilig kan worden toegepast. De fabrikant kan het gebruik van de CariTest vereenvoudigen door kleurenstalen, die indicatief zijn voor geïnfecteerd en niet-geïnfecteerd dentine, toe te voegen aan de verpakking.

Conclusie

De validiteit van Quadrant CariTest om geïnfecteerd dentine aan te tonen is aanzienlijk, zowel uitgaande van ordinale als digitale blauwmetingen. Omdat onder praktijkomstandigheden Quadrant CariTest alleen gebruikt zal worden in combinatie met ordinale blauwmetingen verkregen door visuele inspectie, kan deze 'kleurtest' goed ingepast worden in een conserverend behandelingsprotocol.

Literatuur

- FUSAYAMA T, TAKATSU T, INOKOSHI S, ITOH K, YAMAUCHI J, SHIBATANI K. New composition of cariësdetector. *Jpn J Conserv Dent* 1979; 22: 261-264.
- HÖRSTED-BINDSLEV P, MJØR IA, Eds. Modern concepts in operative dentistry. Munksgaard; Copenhagen, 1988.
- KIDD EAM, RICKETTS DNJ, BEIGHTON D. Criteria for carië removal at the enamel-dentine junction: A clinical and microbiological study. *Br Dent J* 1996; 180: 287-291.
- MERTZ-FAIRHURST EJ, ADAIR SM, SAMS DR. Cariostatic and ultraconservative sealed restorations: Nine-year results among children and adults. *J Dent Child* 1995; 62: 97-107.
- METZ, CE, KRONMAN HB. Statistical significance test for binormal ROC-curves. *J Math Psych* 1980; 22: 218-243.
- THYLSTRUP A, FEJERSKOV O, Eds. Textbook of clinical cariology. Copenhagen: Munksgaard, 1994.

Summary

Key words:

- Caries
- Cariology
- Diagnostic dye

Validity of a new dye to detect infected carious dentine

During cavity excavation diagnostic tests are used to prevent any unnecessary removal of sound dentine. In this study the validity of a newly introduced blue dye (Quadrant CariTest) was investigated. Twenty-five carious teeth were collected immediately after extraction. The caries lesions were stepwise excavated. From four excavation steps per lesion a digital and an ordinal blue measurement was obtained. From each excavation phase a little amount of excavated dentine was cultured on blood plates. The correlation coefficients between the ordinal and the digital blue measurements and the counts of micro-organisms, expressed in log(CFU)/ml, were respectively 0.56 and 0.45. The sensitivity and the specificity of the ordinal blue measurements were 0.69 and 0.83, those of the digital blue measurements 0.76 and 0.65. The area under ROC of the ordinal blue measurements was 0.77, and that of digital blue measurements 0.70. The areas under ROC were not significantly different ($p = 0.14$). It was concluded that the new caries indicator is well applicable during the cavity preparation to demonstrate infected dentine