HOOFDSTUK II

METHODIEK EIGEN ONDERZOEK

1. Bacteriologische methoden

a. Techniek van het uitstrijken

Voor het uitstrijken werden steriele wattestokken gebruikt, die, in een buis afgesloten met een watteprop, bewaard werden. Het uitstrijken van neuzen en van wonden werd met droge wattestokken gedaan. Voor andere lichaamsdelen en kledingstukken werd de wattestok met steriel fysiologisch zout bevochtigd. Het materiaal van de neus werd verkregen door de wattestok in ieder neusgat driemaal rond te strijken. Van wonden werd pus of vocht afgenomen tussen de wondranden door, waardoor men het contact met de huid vermeed. De overige uitstrijken werden gemaakt van de binnenkant der handen, de laterale zijde van de onderarmen, het hoofdhaar en/of de schedelhuid, voorzijde kleding, pantalon en operatiepak. In het algemeen werd met dezelfde wattestok driemaal over de hierboven genoemde plaatsen gestreken. Het op deze wijze afgenomen materiaal werd binnen één uur verwerkt.

b. Kweekmethoden

De uitstrijken werden geënt op het stafylokokkenmedium van Difco, modificatie volgens Chapman. Dit werd 48 uur bebroed bij 37°C. Daarna bleef de plaat nog 2 dagen op tafel staan, waardoor een goede pigmentvorming verkregen werd. Gepigmenteerde kolonies, die van kleur konden variëren van licht tot donker geel werden afgeënt voor verder bacteriologisch onderzoek. Waren er kolonies van verschillende kleur, dan werd van elke groep één kolonie afgeënt.
Voor de strooiproeven en het onderzoek van de operatiekamers werden sedimentatieplaten gebruikt. Dit zijn petrischalen met een middellijn van 9 cm, gevuld met bloedbouillonagar (5% gedefibrineerd bloed in 2% bouillonagar), die een bepaalde tijd met open deksel aan de lucht werden blootgesteld. Ook deze werden daarna 48 uur bebroed bij 37°C. Het totale aantal kolonies, dat op deze platen macroscopisch te zien was, werd geteld en vervolgens alle kolonies van St. aureus, die te herkennen waren aan een duidelijk pigment.
Alle St. aureus kolonies, die op de sedimentatieplaten van de operatiekamer waren gegroeid en maximaal vijf van iedere plaat van het strooionderzoek, werden ook weer afgeënt voor verder bacteriologisch onderzoek.
Waren de aldus verkregen stammen coagulase positief, dan werd een bepaling van de resistenties tegen een aantal antibiotica gedaan en het faagtype bepaald.

c. Resistentiebepaling

De resistentie van de St. aureus stam werd bepaald ten opzichte van penicilline, streptomycine, tetracycline, chloromycetine en erythromycine. Voor dit onderzoek werd de schijfjes methode gekozen. De papiertjes, waarvan de diameter 1 cm. was, hadden een bepaalde concentratie van ieder antibioticum. Voor penicilline was dit 10 E., voor chloromycetine 62,5 γ en voor streptomycine, tetracycline en erythromycine elk 50γ. Om verwisseling te voorkomen had men

voor ieder antibioticum een andere kleur papier gebruikt. Het kweekmedium, dat hiervoor gebruikt werd, was een medium bereid door Oxoid voor de bepaling van de resistentie, "D.S.T. agar base".
De St. aureus cultuur werd met het entoog op de plaat gebracht, waarna ze uitgespateld werd met twee druppels steriele fysiologische zoutoplossing. Vervolgens werden de resistentiepapiertjes aangebracht en werden de platen 24 uur bij 37°C. bebroed.
Iedere keer, wanneer er resistentiebepalingen plaats vonden, diende de "Oxford" stam van St. aureus, een voor alle antibiotica gevoelige stam, als controle.
Voor de notatie werd een plus-teken genomen als de stam gevoelig voor het antibioticum en een min-teken, wanneer deze resistent was. Het antibioticum werd in de volgorde penicilline, streptomycine, tetracycline, chloromycetine en erythromycine geplaatst. Voor en na de tetracyclines werd een schuine streep gezet.
Eén voor al deze vijf antibiotica gevoelige stam ziet er als volgt uit: ++/+/++. Is de stam bijvoorbeeld penicilline en streptomycine resistent dan is de notatie: --/+/++.

d. Faagtypering

Het is mogelijk om stafylokokken met behulp van de gevoeligheid voor bacteriofagen van elkaar te onderscheiden. Wij hebben hiervoor de techniek gevolgd, die door Blair en Williams in 1961 beschreven is. Dr. R. Th. Scholtens, hoofd van de afdeling Faagtypering van het Rijks Instituut voor de Volksgezondheid te Utrecht, stelde ons de benodigde hoeveelheid fagen, de internationale set, ter beschikking. Deze ziet er als volgt uit:

Groep I	: 80, 81, 29, 52, 52A, 79, N.
Groep II	: 3A, 3B, 3C, 55, 71.
Groep III	: 6, 7, 47, 53, 54, D, 83A, 75, 77, 77AD, 42E, 44B, B5, 42D.
Apart	: 187.

De fagen zijn in verschillende groepen ingedeeld, omdat bleek, dat een stafylokok meestal gevoelig is voor meerdere fagen uit één groep. Wanneer een stam gevoelig is voor faag 187, is hij tot op heden ongevoelig voor alle andere fagen gebleken. Ook zijn er stafylokokken, die voor fagen uit verschillende groepen gevoelig zijn, bijvoorbeeld voor fagen uit Groep I en III.
De fagen werden gebruikt in de zogenaamde Routine Test Dilution (R.T.D.): dit is die verdunning, die nog net geen complete lysis geeft.

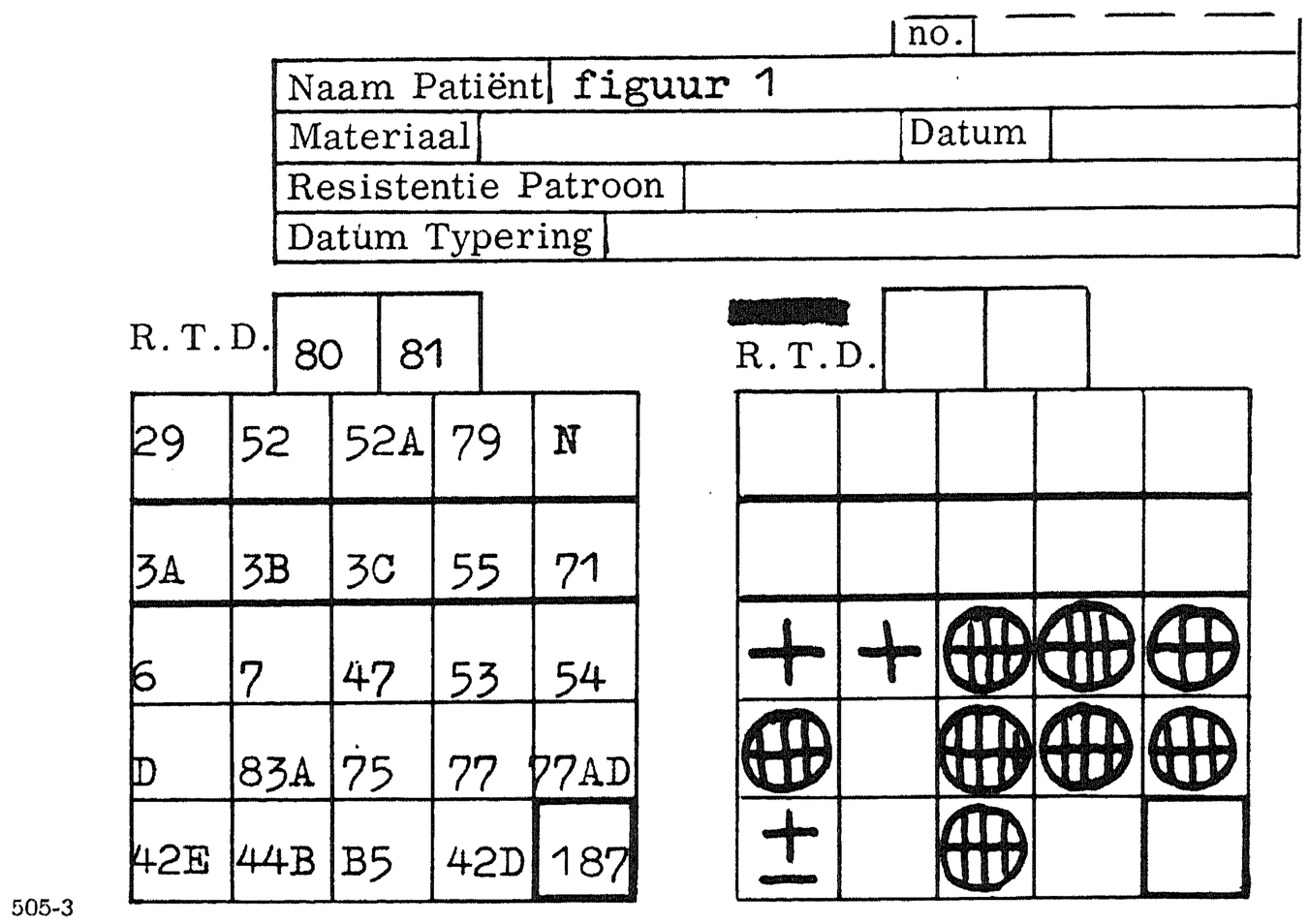
Techniek van het typeren

Voordat het eigenlijke typeren kan beginnen, moet eerst de R.T.D. bepaald worden. Voor de R.T.D. bepaling, en voor het typeren zelf werd de Hartley agarplaat gebruikt.
De fagen werden tienvoudig geometrisch verdund tot 10^{-6}. Van iedere verdunning werd één druppel (0,02 ml) op een Hartleyplaat, die reeds beënt was met een 18 uur oude bouillonculture van de corresponderende propagatiestam, gebracht. Na drogen werd de plaat 24 uur bebroed bij 30°C. en vervolgens de R.T.D. afgelezen.
Iedere maand werden de fagen opnieuw verdund en de R.T.D. bepaald, omdat sommige fagen in sterkte kunnen teruglopen.

De fagen werden in de koelkast bij 4°C. bewaard.
Voor het typeren van een onbekende stafylokok begiet men een Hartley agarplaat met een 18 uur oude bouilloncultuur van deze te onderzoeken stam. De overtollige vloeistof wordt met een waterstraalzuigpomp afgezogen en de plaat een uur gedroogd.
De 27 testfagen werden met behulp van een faagtyperingsapparaat (ontwerp Williams) volgens een vast schema op de plaat gebracht. Na droging werden de platen één nacht bij 30°C. bebroed. Vervolgens werden ze afgelezen met behulp van de platenmicroscoop.
De faagwerking is te zien in de vorm van volledige lysis, (d.i. wanneer er helemaal geen groei van stafylokokken meer is ter plaatse van de faagdruppel) tot enkele plaques.

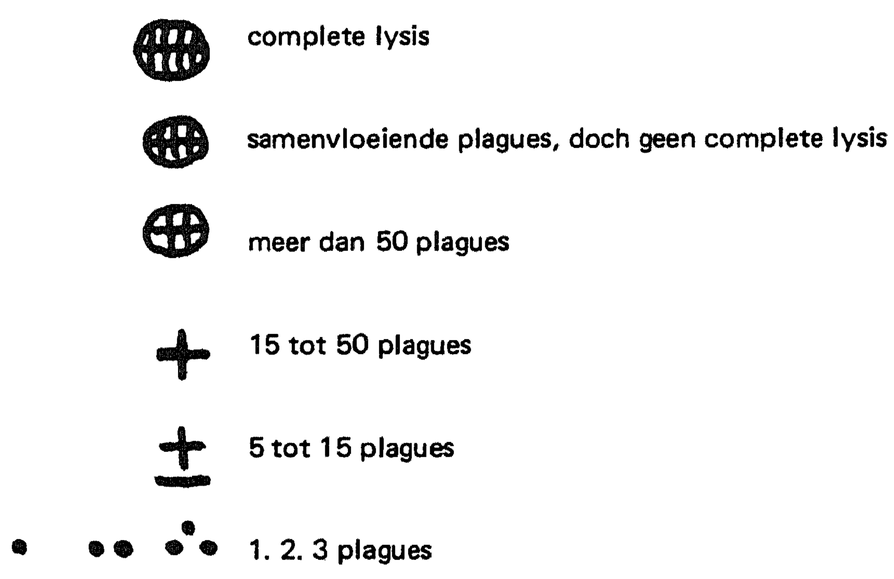
Voor de notatie van de typeringsresultaten werd het schema gebruikt dat door Dr. R.Th. Scholtens in 1959 ontworpen is.
Wij hebben hiervoor kaarten laten drukken, waarvan de afbeelding in figuur 1 te zien is. Het was hierdoor gemakkelijk geworden om dezelfde typen te sorteren.
Voor het uitschrijven van de faagreacties gebruikten wij de methode, die door Ruys en Borst in 1959 aanbevolen is. Men noteert dan de reacties in volgorde van sterkte.
Voor de eerste schuine streep staan de fagen met complete lysis. Tussen de eerste en tweede schuine streep staan in volgorde van sterkte die fagen, die lysis geven tot 15 plaques.
Achter de tweede schuine streep staat alles wat minder dan 15 plaques aan lysis geeft.
Het teken:, dat internationaal gebruikt wordt om de grens aan te geven tussen fagen, die meer dan 50 plaques lysis geven, hebben wij achterwege gelaten.
Het voorbeeld van het schema in figuur 1 ziet er dan als volgt uit: 53, 75, B5 / 47, 54, D, 77, 77AD / 6,7,42E.
Volgens internationaal gebruik hebben wij de stafylokokken, die met de R.T.D. geen sterke reactie (= meer dan 50 plaques) vertoonden, opnieuw getypeerd met fagen in een concentratie van 1000 x R.T.D..

Om vast te stellen dat stammen tot een verschillend faagtype behoren, neemt men in de regel aan dat er ten opzichte van 2 fagen een duidelijk verschil moet zijn. Als er slechts ten opzichte van één faag een verschil is moet dit met de nodige voorzichtigheid bezien worden.
Deze criteria zijn gebaseerd op de variaties waarvan men weet, dat ze bestaan. Zij moeten echter beschouwd worden als een betrekkelijke, onnauwkeurige maatstaf. Onder zekere omstandigheden kan deze maatstaf gewijzigd worden. Het is echter ook zo, dat twee vermoedelijk verwante stammen als gelijk beschouwd worden als het faagpatroon van één een zwakke reactie geeft, terwijl de andere met dezelfde faag een sterkere of complete lysis geeft.
Wanneer bij twee stammen het faagpatroon in twee reacties in sterkte van lysis verschilt, is het echter niet uitgesloten dat deze stammen toch verwant zijn, als bijvoorbeeld de bron dezelfde is. In deze en in andere gevallen moet men met de interpretatie van de uitkomsten dus zeer voorzichtig zijn.
Bij het typeren met fagen van een sterkte van 1000 x R.T.D. moet men alleen van de faagreactie met 50 of meer plaques gebruik maken. Uit de reacties met minder dan 50 plaques mag men geen gevolgtrekkingen maken.
Ook is het belangrijk om de mogelijk verwante stammen op één dag te typeren met voedingsbodems uit één "batch". Men kan dan veilig stellen, dat de verschillen, die optreden in ieder geval niet veroorzaakt worden door variaties in de gebruikte fagen of in de voedingsbodems.



505-3

Verklaring der tekens.



2. Onderzoek patiënten

Bij het onderzoek waren patiënten van de algemene chirurgie (hoofd Dr. P.R.J. Pinxter) en de orthopedie (hoofd: Dr. Th. G.J. van Rens), die op de zalen 1, 2, 3, 4, 5 en 6 van het Onze Lieve Vrouwe Gasthuis te Amsterdam verpleegd werden, betrokken. De patiënten moesten aan enkele voorwaarden voldoen. Allereerst moest de operatie, die ze ondergingen, primair steriel zijn. Verder moest de ingreep plaats vinden in het operatiecomplex van het Maria Paviljoen.

Onder primair steriele operaties (klasse I), verstaan wij die operaties, waarbij tijdens de in-

greep geen pus aanwezig is en waarbij geen darmen geopend worden, bijvoorbeeld strumectomieën, osteotomieën, enz.. Wij hebben dezelfde criteria hiervoor aangehouden als Siebbeles (1968).
Vlak voor de operatie of vlak erna, indien het niet eerder kon geschieden, werd een neusuitstrijk van de patiënt gemaakt.
Iedere dag, behalve het weekeinde, werd door de onderzoekster de ronde langs de zalen gedaan om te informeren welke patiënten de volgende dag geopereerd zouden worden en om na te gaan of er wondinfecties opgetreden waren.
De wonden van de primair steriele operaties werden na de operatie niet eerder bekeken, dan wanneer de hechtingen verwijderd werden, tenzij er eerder een reden was om dit te doen, bij voorbeeld wanneer er aan een wondinfectie gedacht werd.
Indien een wondinfectie was ontstaan, hetgeen door de onderzoekster in overleg met de chirurg werd vastgesteld, werd er een uitstrijk van de wond en van de neus van de patiënt gemaakt.
Van de pus werd allereerst een Gram-preparaat gemaakt en vervolgens gekweekt.
Mocht er een St. aureus in het spel zijn, dan werden de resistentie en het faagtype bepaald.
Het uitstrijken van de neus en wond werd, indien de wondinfectie na een week nog bestond, herhaald.

3. Onderzoek van de bacteriële luchtverontreiniging in de operatiekamers

a. Ruimtebeschrijving

Het onderzoek van de lucht geschiedde in het operatiecomplex van het Maria Paviljoen. Het complex bestaat uit vijf operatiekamers (1, 2, 3, 4 en 5) en twee sluizen, één aan de kant van het Maria Paviljoen en één aan de kant van het Anna Paviljoen. Tussen deze twee sluizen in liggen de operatiekamers 1, 2, 3 en 4.

In deze operatiekamers is een overdrukventilatie-systeem aangebracht. Via het plafond wordt gefiltreerde, naar wordt verwacht steriele lucht aangevoerd. Deze wordt afgezogen via de vloer, zodanig, dat er een lichte overdruk blijft bestaan. De lucht in de operatiekamer wordt acht maal per uur vervangen.
In de sluis aan de kant van het Maria Paviljoen bevindt zich operatiekamer 5. Hier worden uitsluitend geïnfecteerde patiënten geopereerd. Deze patiënten komen dus niet op de operatiekamers 1, 2, 3 en 4. Via operatiekamer 5 kan men in het kantoor van de hoofdzuster komen.
Dit kantoor is verder te bereiken buiten de sluis om. In beide sluizen bevinden zich ook kleedkamers.
Iedereen, die de operatiekamers wil betreden moet zich in speciale operatiekleding steken. De dames trekken een witte katoenen mouwschort aan, de heren een katoenen lange broek en jasje. Verder moet een ieder het hoofd bedekken, een mondlapje voordoen en schoencovers aantrekken.
De operatiekamers en de bijruimten worden iedere dag schoon gemaakt. Iedere avond worden de vloeren en het meubilair met 1% chlooramine (Halamid) afgenomen.

In de beide sluizen en hun bijruimten is op 7 november 1966 een ultravioletlicht installatie aangebracht. Iedere ochtend gaan deze lampen van 7.15 tot 7.45 uur aan.
Wanneer er een besmette operatie in kamer 5 geweest is, gaat daar het ultraviolette licht na de operatie gedurende een half uur aan en worden de vloeren weer met chlooramine 1% (Halamid) gedweild.

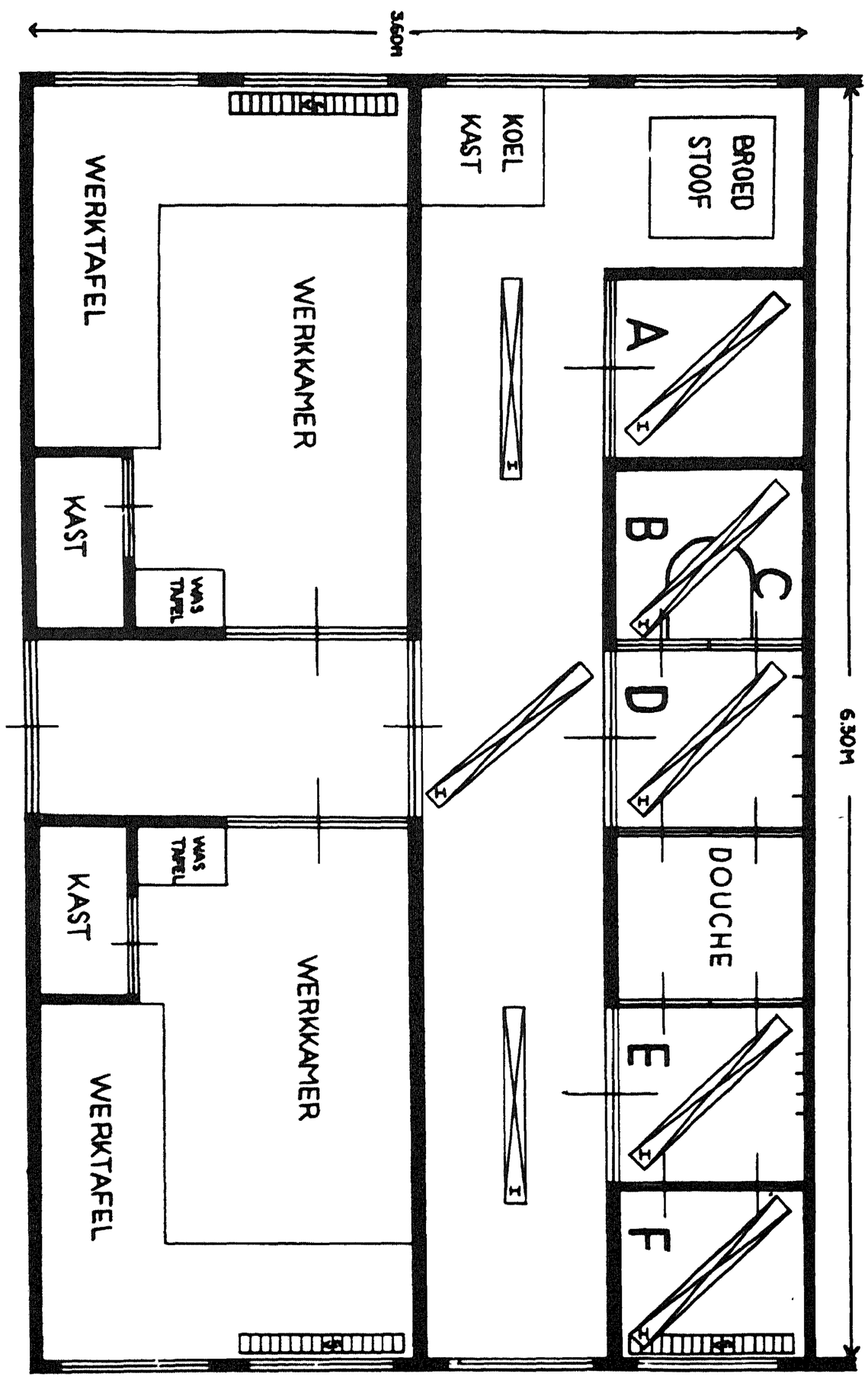
b. Luchtonderzoek
Voor het luchtonderzoek werd de sedimentatieplaatmethode gekozen (dissertatie Siebbeles). Naar aanleiding van de bevindingen van Huijsmans-Evers en van der Kolk (1966) werd er één sedimentatieplaat op een vaste plaats neergezet, namelijk op het hechtingstafeltje aan het voeteneind van de operatietafel. Deze plaat stond van het begin tot het einde van iedere operatie open.
Als begin van de operatie werd het tijdstip genomen, dat de patiënt de operatiekamer binnengereden werd. Als het einde van de operatie gold het moment, dat de patiënt weggereden werd.

c. Maandelijks onderzoek personeel
Van al het personeel, dat werkzaam was in de operatiekamer werd maandelijks een neusuitstrijk op St. aureus gedaan.
Daar wij menen, dat bij een voor ons onbekend persoon aan één neusuitstrijk niet voldoende waarde gehecht kan worden, werd voordat iemand kwam werken op de operatiekamer, drie dagen achter elkaar de neus op St. aureus onderzocht.
Nadat het strooionderzoek goed op gang gekomen was, werd een ieder, die kwam werken of werkzaam was op de operatiekamer tevens aan een strooiproef onderworpen. Werd bij een persoon met een negatieve neusuitstrijk (geen St. aureus) na verloop van tijd St. aureus gevonden, dan werd wederom een strooiproef gedaan.
Alle strooiers en de twijfelgevallen werden meerdere malen door middel van een strooiproef gecontroleerd.

4. Onderzoek op strooien van St. aureus door gezonde personen

a. Inrichting onderzoekkamertjes
In een barak van het Onze Lieve Vrouwe Gasthuis waren een aantal beschikbare ruimten ingericht voor het strooionderzoek.
Een plattegrond hiervan is te zien op tekening I. A, BC, D, E en F zijn onderzoekkamers. Deze zijn 90 x 90 x 245 cm. D en E werden gebruikt als kleedkamers.
BC is in tweeën gedeeld door een houten plank, die zich op 100 cm van de grond bevindt. Het gat hierin is met een stuk plastic verder afgesloten. C is het bovengedeelte en B is het ondergedeelte.
In A staan twee slit-samplers, waarvan één met C en een met B in verbinding staat door

Tekening 1


3.60m
6.30m
BROED STOOF
KOEL KAST
A
B
C
D
DOUCHE
E
F
WERKTAFEL
WERKKAMER
KAST
WAS TAFEL
WERKKAMER
KAST
WAS TAFEL
WERKTAFEL

middel van een plastic slang. De insteekplaatsen van de slang bevinden zich op respectievelijk 35 en 135 cm van de grond.
F is een kamertje, waar de loopproef werd uitgevoerd. In de kamertjes D en E zijn stalen kleerhaken aangebracht. Op de vloeren is linoleum gelegd. De wanden en de plafonds zijn geschilderd met matlak.
Om controle op de proeven te kunnen uitoefenen zijn er kijkgaten in de wand van de kamertjes aangebracht.
De verdere verklaring van de tekens uit tekening 1 is als volgt:

I : ultraviolette buizen van 30 Watt. In BC bevindt zich zowel in B als in C een een ultraviolet ornament.
C.V. : radiator centrale verwarming, deze is 80 cm hoog.

b. Ontsmetting van de kamertjes

Allereerst hebben wij uitgezocht, hoelang het ultraviolette licht moest branden om tot een goede ontsmetting te komen. Wij namen van een 24 uurs cultuur van St.aureus in bouillon, die 100 x verdund werd, één druppel en spatelden deze uit op een bloedagarplaat.
Wij zetten in het midden van ieder onderzoekkamertje één en in de gang twee platen neer.
Vervolgens werd het ultraviolette licht 10 minuten aangezet.
De platen werden daarna 48 uur bij 37°C. bebroed.
De resultaten op twee verschillende data waren als volgt:

Kamertje A	2 kol.	2 kol.
Kamertje B	1 kol.	2 kol.
Kamertje C	—	3 kol.
Kamertje D	25 kol.	5 kol.
Kamertje E	45 kol.	1 kol.
Kamertje F	1 kol.	2 kol.
Gang I	2 kol.	5 kol.
Gang II	30 kol.	14 kol.

Op een controle plaat, die niet onder het ultraviolette licht geplaatst was, waren na 48 uur bebroeden bij 37°C. een ontelbaar aantal kolonies gegroeid. Men ziet dus, dat na 10 minuten ultraviolet licht het aantal kolonies gereduceerd is tot een verwaarloosbaar minimum.
Ook hebben wij een controle op dezelfde manier als boven beschreven uitgevoerd, waarbij het ultraviolette licht een half uur bleef branden. De resultaten waren nagenoeg dezelfde.
Iedere maand werd een controle op de werkzaamheid van het ultraviolette licht uitgevoerd.
De lampen bleven goed tot aan het einde van het onderzoek.
Om na te gaan hoe het ultraviolette licht werkte, wanneer wij een strooier van stafylokokken een proef lieten doen, zijn wij als volgt te werk gegaan.
Wij kozen hiervoor een proefpersoon, die bekend was als strooier uit het onderzoek van Huijsmans-Evers en van der Kolk.
Wij lieten, nadat het ultraviolette licht 10 minuten gebrand had, de proefpersoon 2 min. in

kamertje F op de plaats marcheren. Daarna verliet hij het kamertje.
Wij zetten bij het begin van het lopen 5 bloedboullonagarplaten open, in iedere hoek één en één op de verwarming. Deze platen lieten wij tot 30 min. na het lopen openstaan om ze daarna te bebroeden. Vervolgens ging het ultraviolette licht weer 10 min. aan, waarna dezelfde proefpersoon nogmaals de proef deed. Er werden tegelijkertijd weer 5 nieuwe platen opengezet. Nadat deze proef beëindigd was, werd direct het ultraviolette licht 10 min. aangezet. De platen bleven hierna nog tot 30 min. openstaan.
De eerste keer werden na 48 uur bebroeden op de vijf platen samen 595 kolonies geteld, waarvan 20 kolonies St. aureus waren. De tweede maal waren het in totaal 11 kolonies, waarvan geen enkele St. aureus was.
Naar aanleiding van deze twee proefnemingen, waren wij van mening, dat het voldoende zou zijn om het ultraviolette licht 10 min. te laten branden om de aanwezige stafylokokken te doden.
In de praktijk bleek echter, dat wij in het begin van de proeven een enkele maal St. aureus vonden van het faagtype van iemand, die daarvóór een proef had gedaan.
Hierdoor zijn wij er toe gekomen om na iedere proef de vloer te dweilen met chlooramine 1% (Halamid). Daarna kwamen verontreinigingen niet meer voor.
De voorbereidingen voor een proef waren dus de volgende: voor iedere proef werden de vloeren gedweild met chlooramine 1% en daarna brandde het U.V. licht 10 minuten.

c. Uitvoering strooiproeven

Voor de duur van het uitvoeren van de strooiproeven hebben wij 2 min. gekozen. In de literatuur vinden wij bij Bethune e.a. (1965) ook 2 min., bij Speers (1965) 1 minuut.
Het langer voortzetten van de proef (6 min.) in een zo klein kamertje werd door een aantal personen als onaangenaam ervaren, daarom hebben wij dit niet verder voortgezet. De juiste tijd werd afgesteld met een wekker.
De vraag, die zich nu aan ons opdrong was, hoelang moeten wij de platen na een proef laten openstaan en hoeveel platen zijn er nodig.
Voordat de proef begon, werd het kamertje op de boven beschreven manier ontsmet. Daarna werden 5 platen in kamertje F 30 min. opengezet (in iedere hoek één en één midden op de verwarming). Dit is de basiswaarde.
Vervolgens lieten wij de proefpersoon 2 min. in dit kamertje op de plaats marcheren, bovendien zwaaiend met de armen. Tegelijkertijd zetten wij weer 5 platen open. Deze lieten wij een half uur openstaan. Na 10 min. werden er 5 platen bijgezet, die 20 min. openstonden. Op deze wijze hebben wij 14 proeven gedaan. De eerste groep platen werd dus 30 min. aan de lucht blootgesteld, de tweede groep 30 min. en de derde 20 min. In 11 van deze gevallen hebben wij de proefpersoon tevoren een douche laten nemen en daarna opnieuw 2 min. laten lopen,gekleed in een uit de wasserij komend schoon operatiepak, dat 10 min. in het ultraviolette licht gehangen had. De reflectoren van de lampen maken dat het pak aan alle kanten werd bestraald. Hiermede werd practisch sterilisatie van de pakken bereikt. Van 40 pakken is na bestraling een uitstrijk gemaakt. Nooit werd St. aureus geïsoleerd.
De resultaten van bovengenoemde proeven zijn weergegeven in tabel 1. Hieruit blijkt, dat de meeste bacteriën met inbegrip van de St. aureus in de eerste 10 min. op de plaat vallen.
Slechts in één geval hebben wij ook na 10 min. nog enkele St. aureus gevonden. Naar aan-

Tabel 1. Het strooien van bacteriën na 2 minuten lopen al of niet na voorafgaande douche.

	Voor douchen								Na douchen							
proef personen	na 10 min. U.V. platen 30 min. open basiswaarde		2 min.lopen platen 30 min. open		na 10 min. platen bij-gezet tot 30 min. open		platen van 30 – 60 min. open		basiswaarde		2 min. lopen platen tot 30 min. open		na 10 min. platen bij-gezet tot 30 min. open		platen van 30 – 60 min. open	
	T[1]	S[2]	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S
A	7	–	595	20	96	3	20	1								
B	61	–	325	–	65	–	103	–	29	–	280	–	48	–	46	–
C	8	–	31	–	5	–	12	–	8	–	130	1	12	–	14	–
D	9	1*	70	2	17	–	17	–	1	–	309	7	29	–	9	–
E	17	–	238	1	32	–	43	–	11	–	797	4	53	–	19	–
F	19	–	1217	2	115	–	39	–	16	–	1436	22	146	–	54	–
G	15	–	298	1*	39	–	35	–	27	–	556	1*	91	–	56	–
H	7	–	392	3	54	–	12	–	9	–	418	3	26	–	10	–
I	11	–	436	1*	55	–	19	–	5	–	532	–	62	–	13	–
J	16	–	145	–	32	–	19	–	13	–	468	–	55	–	20	–
K	10	–	195	–	27	–	10	–								
L	7	–	295	12	26	–	15	–								
M	25	–	92	3*	24	–	23	–	7	–	380	–	44	–	11	–
N	11	–	128	–	29	–	18	–	13	–	520	–	50	–	28	–

1) = totaal aantal kolonies

2) = aantal koloniés St. aureus

* = St. aureus van een ander type dan uit de neus en/of de huid en kleding.

leiding hiervan dachten wij dat het voor dit onderzoek voldoende was om de platen 10 min. open te laten staan.
Het feit, dat de meeste bacteriën binnen 10 min. op de plaat vallen, komt omdat de bacteriën in huidschilfers en aan vezels van de kleding zitten, waardoor zij snel vallen (Lidwell en Noble, 1961).
Uit deze 25 proeven bleek verder dat wij niet één of meer platen konden weglaten, daar de St. aureus nu weer op de ene, dan weer op de andere plaat viel.
In de kleedkamers D en E werd in twee tegenoverstaande hoeken tijdens iedere proef een sedimentatieplaat neergezet. Dit hebben wij 114 maal gedaan. Twintig maal vonden wij zowel in D als E St. aureus en één en twintig maal alleen in D. Wij hebben nooit St. aureus alleen in E gevonden. Hieruit blijkt, dat in het kamertje E waarin na het douchen het steriële pak werd aangetrokken, veel minder bacteriën werden verspreid dan in het kamertje D, waar de werkkleding werd uitgetrokken. Daarna werd alleen kleedkamer D in het onderzoek betrokken, omdat dit ons de beste informatie gaf.
Bij 95 personen hebben wij uitstrijken van neus, handen en hoofdhaar vóór en na de doucheproef gemaakt.
Van de voorzijde van de kleding werd alleen vóór de proef en het operatiepak na het gebruik uitgestreken.
De resultaten hiervan zijn weergegeven in tabel 2.

tabel 2. Onderzoek aanwezigheid stafylokokken bij een aantal personen vóór en na douchen.

totaal aantal proef-personen	Aantal positieve uitstrijken									
	Voor douchen					Na douchen				
	neus	armen	handen	haar	voorzijde kleding	neus	armen	handen	haar	operatie-pak
95	50	1 1*	5	6	8 1*	52	5 1*	7 3*	7 1*	1
95	50	2	5	6	9	52	6	10	8	1

* = stammen, van een ander type dan de neusstam, of behorend bij personen zonder St. aureus in de neus.

Na het douchen vonden wij niet minder positieve resultaten dan er voor. Wij hebben daarom in het vervolg alleen nog na het douchen uitstrijken gemaakt.
Wij hebben geen perineumuitstrijken gemaakt, omdat dit onplezierige onderzoek het aantal vrijwilligers zeker beknot zou hebben, speciaal bij twee en meerdere proeven.
Het doucheschema was als volgt: vijf minuten douchen met toiletzeep zonder hexachlorofeen. Daarna afdrogen met een schone handdoek, die 10 minuten in het ultraviolette licht gehangen heeft. Vervolgens trok men het operatiepak aan, waarna men 2 minuten op de plaats marcheerde.

Bij een aantal proefpersonen hebben wij gebruik gemaakt van de slit-sampler (volgens Bourdillon). Door de slit-sampler wordt 20 liter lucht per minuut aangezogen. De proefpersoon bevond zich in het kamertje BC. Nadat het kamertje op de gebruikelijke wijze was ontsmet en de basiswaarde was bepaald (de slit-sampler 2 minuten laten draaien) moest ook hier de proefpersoon 2 minuten op de plaats marcheren. Ondertussen draaide de slit-sampler. De proef geschiedde na douchen en de proefpersoon was gekleed in een operatiepak, dat 10 minuten in het ultraviolette lichte gehangen had.
In een aantal proeven lieten wij nadat de proefpersoon weg was, de slit-sampler nogmaals 2 minuten draaien met nieuwe bloedbouillonargarplaten. Verder hebben wij nog een aantal proeven gedaan, waarbij wij de split-sampler, nadat de proefpersoon 2 minuten gelopen had, nog respectievelijk 4 en 16 minuten lieten doordraaien, zonder er nieuwe bloedbouillonargarplaten in te zetten. De slit-sampler draaide dan in zijn geheel respectievelijk 6 en 18 minuten.
Hierbij bleek, dat de lucht dan nog vele bacteriën bevatte. Ook is gebleken, omdat de kamertjes niet luchtdicht afgesloten waren, dat wanneer wij de slit-sampler 18 minuten lieten draaien, de lucht van buiten werd aangezogen. Dit hebben wij nagegaan door het kamertje BC, waar de slit-sampler proef uitgevoerd werd, eerst te ontsmetten. Wij zetten daarna bloedbouillonagarplaten in de slit-samplers en lieten deze 18 minuten draaien. Wij isoleerden toen St. aureus van de bloedbouillonagarplaten, die afkomstig waren van het vertrek D (kleedkamer).
Bij de proeven, waar de slit-samplers 2 minuten en twee maal 2 minuten draaiden, hebben wij dit niet gevonden. Van de proeven met 6 minuten hebben wij te weinig waarnemingen.
Wij kunnen hieruit concluderen, dat bij deze proefopzet de slit-sampler onbetrouwbare uitkomsten geeft, zeker wanneer de slit-sampler 18 minuten aanstaat.
Volgens mededeling van Dr. Huijsmans-Evers zijn later door een andere proefopzet wel waardevolle uitkomsten met de slit-samplers verkregen. De kleedkamer, die zich bevond voor het kamertje, waar de slit-sampler proef werd uitgevoerd, werd niet meer als zodanig gebruikt. 10 minuten voor de proef ging in de kleedkamer het ultraviolette licht aan, dat ook tijdens de proef bleef branden. Er werden dan niet meer van elders bacteriën aangezogen.

Samenvattend verliep de proef dus als volgt:

1. de vloeren werden ontsmet met chlooramine 1% en ultraviolet licht brandde in alle kamertjes 10 minuten;

2. basiswaarden werden in F gedurende een half uur met 5 sedimentatieplaten vastgesteld;

3. de proefpersoon kwam; er werden in F vijf nieuwe sedimentatieplaten neergezet;

4. de proefpersoon marcheerde in F 2 minuten op de plaats, hierbij zwaaiend met de armen;

5. platen werden na 10 minuten weggehaald en het kamertje werd weer ontsmet met ultraviolet licht;

6. de proefpersoon kwam weer terug. In D werden twee en in F vijf platen neergezet;

7. de basiswaarde van de slit-sampler werd bepaald;

8. de proefpersoon kleedde zich uit in D. Nam een douche en trok in E het operatiepak aan;

9. de proefpersoon marcheerde 2 minuten in F en daarna in BC;

10. de proefpersoon kleedde zich aan in D en in BC draaide de slit-smpler bij een aantal proeven nogmaals 2, 4 of 16 minuten;

11. uitstrijken werden gemaakt van neus, armen, handen, voorzijde kleding, hoofdhaar en eventueel de pantalon;

12. er werd gevraagd naar functie, leeftijd, huidafwijkingen en indien het een vrouw betrof naar menstruatieverloop;

13. tien minuten na het beëindigen van de proef werden de sedimentatieplaten weggehaald en werd van het operatiepak een uistrijk gemaakt;

14. de vloeren werden gereinigd met chlooramine 1%. Het ultraviolette licht brandde gedurende 10 minuten, waarna een volgende proef kon beginnen.

De analyste, die de proeven voorbereidde, deed iedere maand zelf een proef. Zij heeft tot de laatste maand van het onderzoek een negatieve neusuitstrijk gehad en nooit St. aureus gestrooid. Zij kreeg toen een rijksdaaldergrote eczeemplek op het achterhoofd, waarvan af veel St. aureus gekweekt werden. Zij strooide deze St. aureus rond en in vele proeven werd dit type St. aureus teruggevonden.
Na behandeling met stafylomycinezalf genas de eczeemplek snel. Er werd geen St. aureus meer van de hoofdhuid gekweekt en ook vonden wij ze niet meer in de strooiproeven.
Wanneer zij de platen neerzette, trok zij schoenen aan die alleen gebruikt werden in het gedeelte waar de proeven plaats vonden.