

Streptococcus mutans v ústní dutině a kazivost chrupu

Jaklová H., Nováková K.

Klinika zubního lékařství LF UP a FN, Olomouc

SOUHRN

V rámci studie provedené na základě grantu LF UP Olomouc SPP: 91110291 byl sledován vliv hladiny *Streptococcus mutans* (SM) v ústní dutině na vznik zubního kazu u dětí. Celkem bylo vyšetřeno 75 pacientů ve věkovém rozmezí 12 - 14 let. U pacientů byl hodnocen vztah indexů PLI, CPITN, KPE a SM v ústní dutině.

Klíčová slova: *Streptococcus mutans* - prevence zubního kazu - děti ve věku 12-14 let - kazivost stálého chrupu

SUMMARY

Jaklová H., Nováková K.: Streptococcus Mutans in Oral Cavity and Tooth Decay Rate

The influence of the *Streptococcus mutans* (SM) level in oral cavity on the caries rate in children was investigated within the framework of the grant provided by Medical Faculty, Palacký University in Olomouc SPP: 91110291. A total of 75 patients at the age of 12 - 14 years were examined. The relations of the indices PLI, CPITN, KPE and SM in oral cavity were evaluated.

Key words: *Streptococcus mutans* – caries prevention – children at the age of 12 - 14 years – caries incidence of permanent teeth

Prakt. zub. Lék., roč. 58, 2010, č. 5, s. 65–67.

ÚVOD

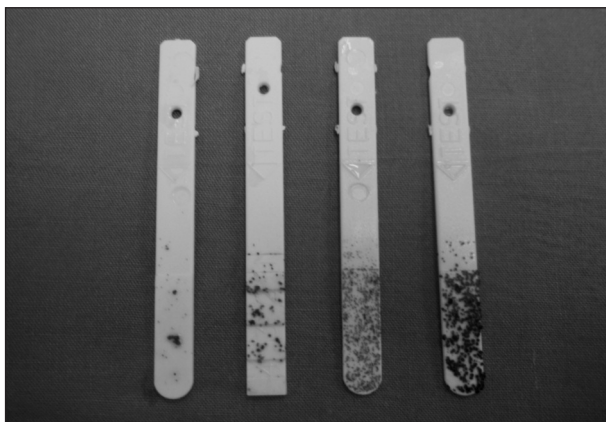
Streptococcus mutans (SM) je hodnocen jako nejčastější a nejnebezpečnější kariogenní mikroorganismus, který se podílí hlavní rolí na vzniku zubního kazu [7]. Bakterie skupiny SM jsou členěny do 5 tříd a 8 rozdílných sérologických typů a–h. Do sérotypu a řadíme *Streptococcus cricetus*, do sérotypu b *Streptococcus rattus*, do sérotypu c, e, f *Streptococcus mutans*, do sérotypu d a g *Streptococcus sobrinus* a do sérotypu h *Streptococcus downei* [7]. *Streptococcus mutans* byl poprvé izolován v roce 1924 [15, 16]. V roce 1960 prokázali Fitzgerald, Jordan, Stanley a Keyes infekční povahu SM u laboratorních zvířat, později byla prokázána souvislost mezi zubním kazem a SM i u lidí [8, 15]. Tato bakterie žije zejména v plaku, který se tvoří na povrchu zubů. U dětí mladších dvou let nepatří SM k typickým bakteriím ústní mikroflóry. K průkazu *Streptococcus mutans* v ústní dutině se užívají jednoduché detekční metody, s jejichž pomocí lze kvantitativně hodnotit množství této bakterie v ústech vyšetřovaného pacienta. Testy lze provádět přímo v ordinaci, aniž by se musela využívat mikrobiologická laboratoř. Výsledky se odečítají po 48 hodinách. Kromě SM

má vliv na vznik zubního kazu mnoho faktorů; patří mezi ně i hostitel – zuby, čas a strava – přítomnost nízkomolekulárních cukrů [6, 8, 19].

MATERIÁL A METODIKA

Na dětské ambulanci Kliniky zubního lékařství v Olomouci jsme provedli vyšetření hladiny SM v ústní dutině u 75 pacientů ve věkovém rozmezí 12 – 14 let pomocí testů Dentocult v časovém období leden 2009 – červen 2009 v rámci vnitřního grantu Lékařské fakulty Univerzity Palackého. Tyto testy slouží k detekci *Streptococcus mutans* (SM) ve slinách a zubním plaku. Jsou určeny pouze pro diagnostiku in vitro. Metoda je založena na použití selektivního kultivačního média a adhezenci bakterií *Streptococcus mutans* na testovací proužek. U pacientů jsme provedli komplexní stomatologické vyšetření, zhodnotili indexy PLI (plakový index) CPITN (Community Periodontal Index of Treatment Needs) a KPE (kazy, plomby, extrakce).

Pro statistické zpracování jsme vytvořili dvě skupiny: Skupinu SM-A (hodnoty SM=0, SM=1, SM=2) a skupinu SM-B (hodnoty SM=3).



Obr. 1. Testovací proužky používané při vyšetřování hodnoty bakterií.



Obr. 2. Vzorník k hodnocení výsledků vyšetření.



Obr. 3. Zkumavka s kultivačním médiem.

Pro kazivost chrupu podle indexu KPE skupiny: A (KPE=0, KPE=1, KPE=2, KPE=3); B (KPE=4, KPE=5, KPE=6, KPE=7, KPE=8, KPE=9, KPE=10) a C (KPE=11, KPE=12, KPE=13).

Bylo provedeno testování shody hodnot SM pro všechny 3 skupiny současně pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu a pak vzájemné porovnání vždy dvou skupin (A-B, B-C, A-C) pomocí Studentova testu.

Postup vyšetření:

- 15 minut před odběrem vzorku jsme vložili do zkumavky s kultivačním médiem bacitracinový disk.
- Pacienta jsme nechali žvýkat 1 minutu parafinovou kuličku, čímž došlo ke stimulaci slin a uvolnění *Streptococcus mutans* ze zubního povrchu do slin.
- Pacient vyplivl přebytek slin do plivátka, testovací proužek jsme přiložili na povrch jazyka a přes jemně stisknuté rty jsme jej vyňali.
- Proužek jsme vložili do zkumavky s kultivačním médiem, zkumavku jsme označili pacientovým jménem, dnem odběru a vložili ve svislé poloze do inkubačního zařízení o teplotě 35 až 37 °C na 48 hodin.
- Po inkubaci jsme z testovacího proužku odečetli hodnoty bakterií *Streptococcus mutans*, které byly na proužku patrné v podobě modrých kolonií. Hodnoty jsme odečítali dle přiloženého vzorníku a následně zapisovali do karty pacienta, který byl informován o množství SM v ústní dutině (obr. 1, obr. 2, obr. 3).

Statistické hodnocení bylo provedeno pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (testování shody

Tab. 1. Výskyt KPE v souboru.

Skupina A n = 52		Skupina B n = 15		Skupina C n = 8	
KPE	N	KPE	n	KPE	N
0	29	4	6	11	1
1	13	5	3	12	1
2	7	6	2	13	2
3	3	7	0	14	0
		8	2	15	0
		9	1	16	3
		10	1	21	1

Tab. 2. Aritmetické průměry KPE ve skupinách A, B, C.

Skupina A	Skupina B	Skupina C
0,69	5,73	14,75

Tab. 3. Hodnoty SM.

Skupiny SM	Hodnoty SM	N
SM-A n=64	SM=0	13
	SM=1	26
	SM=2	25
SM-B n=11	SM=3	11

Tab. 4. Vztah SM a KPE.

Skupiny SM	Hodnoty SM	Skupina A				Skupina B								Skupina C					
		Hodnoty KPE				Hodnoty KPE								Hodnoty KPE					
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		11	12	13	14 15	16	21
SM-A n=26	SM=0	6	2	0	1	1	1	0	0	1	0	0		0	0	0	0	0	0
	SM=1	13	4	5	1	0	0	0	0	0	0	1		0	0	1	0	1	1
	SM=2	7	5	0	1	3	2	1	0	1	1	0		1	0	1	0	2	2
	Celkem	26	11	5	3	4	3	1	0	2	1	1		1	0	2	0	3	3
SM-B n=3	SM=3	3	2	2	0	2	0	1	0	0	0	0		0	1	0	0	0	0

Tab. 5. Aritmetické průměry SM pro jednotlivé skupiny KPE.

Skupina KPE	N	Aritmetický průměr SM
A (0-3)	52	1,3
B (4-10)	15	1,7
C (11 a výše)	8	1,9
Průměrné KPE souboru	75	1,6

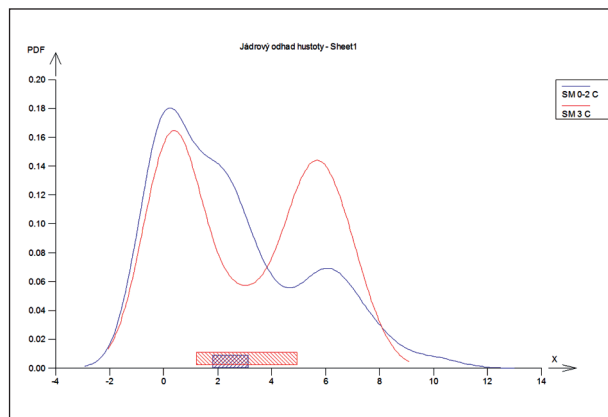
hodnot SM pro všechny 3 skupiny současně) a vzájemným porovnáním vždy dvou skupin (A-B, B-C, A-C) pomocí Studentova testu.

VÝSLEDKY

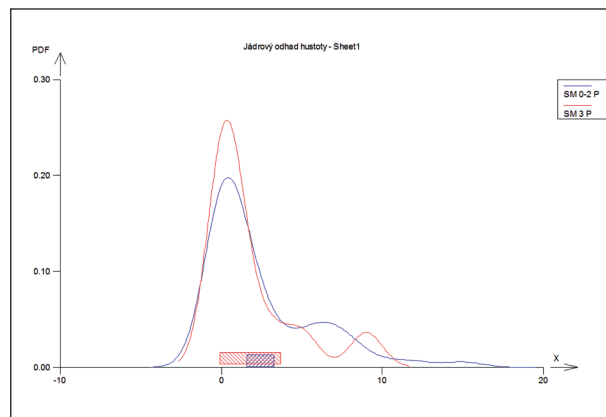
Hodnocení KPE: pro statistické hodnocení jsme hodnoty KPE sdružili do tří skupin: A (0-3), B (4-10) a C (11 a výše) (tab. 1 – tab. 5).

Statistické hodnocení bylo provedeno pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (testování shody hodnot SM pro všechny 3 skupiny současně) a vzájemným porovnáním vždy dvou skupin (A-B, B-C, A-C) pomocí Studentova testu.

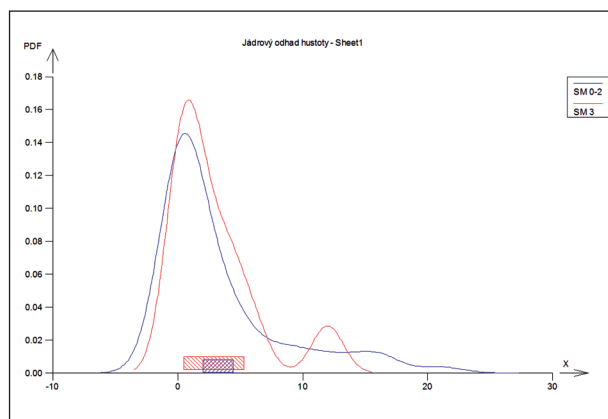
Analýza rozptylu prokázala, že je statisticky významný rozdíl, pokud porovnáváme všechny 3 skupiny současně. Studentovy testy ale rozdíl mezi jednotlivými dvojicemi skupin neprokázaly.



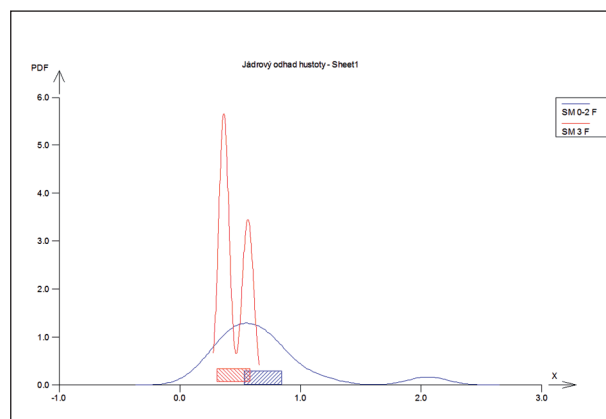
Graf 1. Srovnání hladiny SM a indexu CPITN.



Graf 3. Srovnání hladiny SM a indexu PLI.



Graf 2. Srovnání hladiny SM a indexu KPE.



Graf 4. Srovnání hladiny SM a F.

Hodnoty aritmetických průměrů SM pro jednotlivé skupiny KPE jsou uvedeny v tabulce 5.

Grafy Gausových křivek pro jednotlivé parametry (PDF - Probability Distribution Function): pokud se křivky překrývají, znamená to shodu porovnávaných parametrů, pokud jsou významně rozdílné, znamená to rozdíl porovnávaných parametrů (graf 1 – graf 4).

DISKUSE

Zubní kaz je infekční multifaktoriální přenosná nemoc s interakcí genetických a zevních faktorů. Vznik zubního kazu je závislý na přítomnosti čtyř základních podmínek, kterými jsou: vnímavý zubní povrch, přítomnost mikrobiálního povlaku, přísun fermentabilních uhlohydrátů, čas [10].

Posouzení individuálního rizika kazu a následného stanovení preventivních opatření v zubní praxi vychází mimo jiné i z hodnot *mutans streptococci*, které představují bakteriální ataku [1, 4, 5, 20]. Imunofluorescenční studie prokázala, že SM může přednostně kolonizovat oblast proximálního a marginálního plaku [2]. *Lactobacillus* spp. byl izolován zřídka, a to vždy spolu s *mutans streptococci*. Přítomnost obou SM (zejména *S. mutans* „c“ a *S. sobrinus* „d“) velmi silně korelovala s iniciální kariézní lézí [2]. Také Sansone a kol. pozorovali, že hladina SM byla pozitivní ve vztahu ke kazivosti, nižší pozitivita byla pozorována u no-SM bakterií, které jsou schopné acidogenity a nízkého pH (konečné pH < 4,4). Hladiny *Lactobacilli* byly téměř vždy velmi nízké. Snižující se potenciál pH (finální pH a poměr poklesu pH) byl vyšší u plaku z oblastí s bílými skvrnami než z plaku ze zdravých povrchových ploch [18].

Mutans streptococci (MS), zejména *Streptococcus mutans* a *Streptococcus sobrinus*, mají velmi těsnou vazbu na kazivost chrupu. Virulence kariogenity SM je dána jejich schopností adheze, acidogenity a tolerance ke kyselinám. Tyto vlastnosti souhrnně modifikují fyzikálně-chemické vlastnosti biofilmu. Zejména vysoký počet genotypů SM, charakterizovaných zvyšováním virulence v kariézní aktivitě, zdůrazňuje i důležitost jednotlivých méně důležitých faktorů při zvyšování rizika kazu [17]. Jelikož klinické studie ukázaly, že riziko kazu koreluje s věkem, při kterém nastala počáteční kolonizace SM, strategie pro prevenci kazivosti by měla obsahovat včasnou kontrolu výskytu kolonizace kariogenických bakterií. V plaku v oblasti kariézní léze je posun k SM a *lactobacillům* [12]. Stanovení hladiny obou MS (*S. mutans* a *S. sobrinus*) je považováno za účinnou metodu zjištění kazivosti chrupu [11].

V současné době se pozornost soustřeďuje na studium plaku, nové poznatky umožňují i strategii

prevence [14]. Dentální plak je strukturálně a funkčně organizovaný biofilm. Plak se formuje uspořádaně a diverzifikace mikrobiálních komponent ve zdraví má relativně stabilní komponenty během své tvorby. Predominantní druhy se diferencují na zdravých místech a jsou v nízkých hodnotách SM. V kariézních místech je posun k SM a *lactobacillům* [14]. Za určitých okolností je homeostáza plaku porušena a je pozorováno onemocnění, např. kaz [13].

Beighton [3] uvádí, že spoluodpovědnost orálního biofilmu v kariézním procesu vyžaduje nové zhodnocení. Esenciální role *streptokoků* (*Streptococcus mutans* a *Streptococcus sobrinus*) v kariézním procesu není prokázána. Produkce kyselin v plaku není vázána jen na SM. Kaz se objevuje i při jejich absenci a jejich přítomnost není nezbytně nutná pro vyvolání kariézní aktivity. Ostatní orální bakterie *Actinomyces* spp. a *Bifidobacterium* spp. mají schopnosti acidogenní i acidurické. Převyšují SM v dentálním plaku a jsou východiskem a podporou pro SM v iniciaci a progresi kazu. Důležitý je další výzkum k zjištění změny povrchu zubu ze zdravé a intaktní plochy na lézi typu „white spot“. Kombinací konvenčního a molekulárního výzkumu je možné objasnit zapojení individuálních faktorů a mikrobiální populace při vzniku a vývoji kariézního procesu [3]. Také Aguilera uvádí, že ačkoliv *S. mutans* a *Lactobacillus* sp. jsou mikroorganismy s kariogenní kapacitou, jejich přítomnost neurčuje vznik kariézní léze, ale jejich detekce je dobrým prediktorem a přispívají vývoji zubního kazu [1]. Z celé řady příčin je za primární příčinu změny homeostázy ústní dutiny považováno přemnožení *Streptococcus mutans* [9].

V naší studii jsme vycházeli z všeobecně uznávaných poznatků. U pacientů s vyššími hodnotami *Streptococcus mutans* (SM) jsme předpokládali a také zjistili vyšší hodnoty KPE. Dle aritmetických průměrů byla nejvyšší hodnota bakterií SM naměřena u pacientů s hodnotami indexu KPE 11 a výše (skupina C). Dále u pacientů s vyššími hodnotami indexu PLI a indexu CPITN. U pacientů s nižšími hodnotami SM byla hodnota indexu KPE 0-3 (skupina A) a nízké hodnoty indexu PLI a indexu CPITN. Mnozí pacienti z této skupiny měli intaktní chrup. V této studii bylo vyšetřeno 75 pacientů ve věkovém rozmezí 12 - 14 let.

ZÁVĚR

Vysoká koncentrace *Streptococcus mutans* ve slině je pro rychlý vznik zubního kazu velmi nebezpečná. Na vzniku zubního kazu se podílí několik faktorů, kterými jsou vnímavý zubní povrch, mikrobiální zubní povlak, čas a působení fermentabilních uhlohydrátů.

Pacientům s vyššími hodnotami KPE indexu a vyšší hladinou SM ve slinách jsme zhotovili individuální preventivní program, zaměřený na zlepšení hygieny a úpravu hygienických návyků.

LITERATURA

1. **Aguilera Galaviz, L. A., Premoli, G., Gonzalez, A., Rodriguez, R. A.:** Caries risk in children: determined by levels of mutans streptococci and Lactobacillus. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, 29, 2005, 4, s. 329-333.
2. **Babaahmady, K. G., Challacombe, S. J., Marsh, P. D., Newman, H. N.:** Ecological study of Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus and Lactobacillus spp. at sub-sites from approximal dental plaque from children. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, 37, 2009, 3, s. 241-249.
3. **Beighton, D.:** The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, 33, 2005, s. 248-255.
4. **De Carvalho, F. G., Silva, D. S., Hebling, J., Spolidorio, L. C., Spolidorio, D. M.:** Presence of mutans streptococci and Candida spp. in dental plaque/dentine of carious teeth and early childhood caries. *Eur J. Oral Sci.*, 115, 2007, 4, s. 308-314.
5. **Gábris, K., Nyárasdy, I., Bánóczy, J.:** Significance of assessing risk factors for caries in their prevention. *Orv. Hetil.*, 143, 2002, 24, 1467-1473.
6. **Hecová, H., Merglová, V., Stehlíková, J.:** Využití mikrobiálních testů v prevenci zubního kazu. *LKS*, 17, 2007, s. 7-8.
7. **Igarashi, T., Yamamoto, A., Goto, N.:** Direct detection of Streptococcus mutans in human dental plaque by polymerase chain reaction. *Oral Microbiol. Immunol.*, 1996, 5, s. 294-298.
8. **Ivančáková, R., Seminario, A. L.:** Prevence zubního kazu v kojeneckém a batolecím věku. *Pediatric pro praxi*, 2004, 6, s. 288-290.
9. **Islam, B., Khan, S. N., Khan, A. U.:** Dental caries: from infection to prevention. *Med. Sci. Monit.*, 13, 2007, 11, s. 196-203.
10. **Kilian, J., Fialová, S., Hubková, V.:** Vznik zubního kazu a možnosti jeho prevence. *Prevence ve stomatologii*. Praha, Galén, 1999, s. 45-46.
11. **Kishi, M., Abe, A., Kishi, K., Ohara-Nemoto, Y., Kimura, S., Yonemitsu, M.:** Relationship of quantitative salivary levels of Streptococcus mutans and S. sobrinus in mothers to caries status and colonization of mutans streptococci in plaque in their 2.5-year-old children. *Caries Res.*, 35, 2001, 6, s. 397-406.
12. **Marsh, P. D.:** Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. *Adv. Dent. Res.*, 8, 1994, 2, s. 263-271.
13. **Marsh, P. D.:** Dental plaque as a biofilm: the significance of pH in health and caries. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, 33, 2005, 4, s. 248-255.
14. **Marsh, P. D.:** Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Compend Contin Educ. Dent.*, 30, 2009, 2, s. 76-78, 80, 83-87; quiz 88, 90.
15. **Merglová, V., Ivančáková, R., Liška, J.:** Včasné stanovení rizika vzniku zubního kazu. *VOX Pediatrice*, 2007, 7, s. 2-7.
16. **Merglová, V.:** Prenatální prevence zubního kazu u malých dětí. *Praktikus*, 2008, 1, s. 18-21.
17. **Napimoga, M. H., Höfling, J. F., Klein, M. I., Kamiya, R. U., Gonçalves, R. B.:** Dental transmission, diversity and virulence factors of streptococcus mutans genotypes. *Oral Sci.*, 47, 2005, 2, s. 59-64.
18. **Sansone, C., Van Houte, J., Joshipura, K., Kent, R., Margolis, H. C.:** The association of mutans streptococci and non-mutans streptococci capable of acidogenesis at a low pH with dental caries on enamel and root surfaces. *BMC Oral Health*, 15, 2006, 6, Suppl 1, s. 14.
19. **Seki, M., Yamashita, Y., Shibata, Y., Torigoe, H., Tsuda, H., Maeno, M.:** Effect of mixed mutans streptococci colonization on caries development. *Oral Microbiology Immunology*, 21, 2006, s. 47-52.
20. **Seminario, A., Broukal, Z., Ivančáková, R.:** Mutans streptococci and the development of dental plaque. *Med. Rep.*, 106, 2005, 4, s. 349-358.

*MUDr. Helena Jaklová, Ph.D.
Klinika zubního lékařství LF UP a FN
Palackého 12
779 00 Olomouc*