

Genetická diverzita *S. mutans* v rodinách a u dětí s nízkým a vysokým rizikem zubního kazu

Dušková J.¹, Broukal Z.¹, Janata J.², Novotná G.², Janatová T.¹

¹Výzkumný ústav stomatologický 1. LF UK a VFN, Praha, přednostka prof. MUDr. J. Dušková, DrSc.

²Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha, ředitelka prof. RNDr. B. Řihová, DrSc.

Souhrn

Práce shrnuje výsledky studií sledujících genetickou shodu *S. mutans* mezi dětmi a jejich matkami, mezi dětmi a oběma rodiči nebo mezi rodiči. Pokud jde o shodnost genotypů *S. mutans* mezi rodiči a dětmi, ukazuje se, že častější je v páru matka a dítě než v páru otec a dítě, kde jsou naznačeny kontinentální rozdíly. Pokud byla v evropských souborech nalezena shoda genotypu *S. mutans* mezi rodičem a dítětem, pak se týkala ve více než 70 % páru matka a dítě. Shoda páru otec a dítě se v evropských studiích opakovaně nenašla, zatím co v Japonsku byla shoda v páru otec a dítě nalezena až u 31,4 % vyšetřovaných rodin. U rodičovských párů byly nalezeny homologní klony *S. mutans* pouze v 10 až 15 %. Děti s vyšší kazivostí dočasného chrupu měly v ústech více genotypů *S. mutans* než děti s kazivostí malou nebo s intaktním chrupem.

Klíčová slova: orální streptokoky – *S. mutans* – přenos kariogenních streptokoků – genotypová identifikace kariogenních streptokoků

Dušková J., Broukal Z., Janata J., Novotná G., Janatová T.: Genetic Diversity of *S. Mutans* in Families and Children of Low and High Caries Risk

Summary: The paper summarizes the results of studies dealing with genetic conformity of *S. mutans* between children and their parents, between children and both parents or between parents. As far as the conformity of *S. mutans* genotypes between children and parents are concerned, there were more frequent in the pair of mother/child than in the pair father/child, where continental differences were observed. In cases of European groups, where there was conformity of *S. mutans* genotype between the parent the child, it proved to concern the mother and child pair in 70% of cases. There was no conformity in the father and child pair in European studies repeatedly, whereas the Japanese father and child pairs proved to agree in 31.4 of the examined families. Homologous clones of *S. mutans* were found in 10 to 15% of the parents pairs only. The children suffering from higher caries rate of the primary teeth proved to have more *S. mutans* genotypes than those with low caries rate or with intact teeth.

Key words: oral streptococci – *S. mutans* – transfer of cariogenic streptococci – genotype identification of cariogenic streptococci

Čes. Stomat., 105, 2005, č. 4, s. 109–112.

Použití metod genové analýzy napomáhá identifikovat virulentní formy v jednom druhu, představuje lepší základ pro vyjádření stupně virulence a umožňuje detailnější porozumění vztahu hostitel – mikroorganismus. Tím vznikají – v případě orálních streptokoků – nezbytné předpoklady pro pokračování ve vývoji vakcíny proti zubnímu kazu.

Plošný výskyt streptokoků skupiny *mutans* jednoznačně totiž řadí *S. mutans* a *S. sobrinus* mezi dominantní lidské bakteriální druhy. Ve většině zemí Evropy, Severní Ameriky, Afriky a východní Asie byla sledována detekovatelnost

kariogenních streptokoků ve smíšené slině ve smíšené slině a v zubním povlaku, která představuje (s výjimkou Švédska) osídlení u více než devadesáti procent populace. Studie ukázaly, že jak prevalence, tak podíl *S. mutans* na celkovém množství orálních mikroorganismů u dětí s dočasným, smíšeným nebo stálým chrupem je podobná bez ohledu na vyspělost země. Mezi státy s vysokým záchytem *S. mutans*, ale naopak s nízkým výskytem zubního kazu, patří především africké země. Proto lze předpokládat, že tyto děti mají ústní dutinu osídlenou nižším kariogenním typem streptokoků než děti v Euro-

pě nebo Severní Americe [14, 20, 22]. Nižší výskyt zubního kazu v těchto oblastech nelze vztahovat pouze k nižšímu podílu sacharidů v potravě, protože podle skandinávských studií z poslední doby byl význam sacharidů pro vznik zubního kazu přeceňován [11].

Obdobné rozdíly ve virulenci kariogenních streptokoků lze proto očekávat i u dětské populace s různými hodnotami KPE zubů. Tyto odlišné virulentní vlastnosti byly již v ústní dutině prokázány u potenciálních parodontálních patogenů, a to především u *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, kde z 12 genetických variant pouze jedna byla izolována u pacienta s lokalizovanou juvenilní parodontitidou [15].

Z tohoto pohledu se sledování vlastností *S. mutans* na úrovni molekulární genetiky jeví jako další, nezbytný krok pro detailnější pochopení mechanismů vzniku zubního kazu [19, 1, 17].

Molekulární epidemiologie kariogenních streptokoků v rodinách

Důkazy o přenosu kariogenních streptokoků z rodičů, eventuálně jiných pečujících osob na děti, se před zavedením molekulárně epidemiologických metod identifikace klonů, resp. genotypů mikroorganismů, odvozovaly jednak z transmisibility zubního kazu v pokusech na gnotobiotických laboratorních hlodavcích a jednak z klinicko-mikrobiologických nálezů u lidí [10]. Vysoké hladiny *S. mutans* ve slinách matek měly za následek časnější kolonizaci dětských úst kariogenními streptokoky a časnějším výskytem kazivých lézí [6, 31]. Podařilo se definovat „infekční okno“, časový úsek, ve kterém k orálnímu infektu kariogenními streptokoky nejčastěji dochází – 18. až 28. měsíc [5]. Časnost kolonizace a masívnost infektu se projevovala i rozdílnou kazivostí chrupu u sourozenců [3]. Explicitní průkaz přenosu však chyběl.

Předstupněm k použití molekulárně genetických metod bylo sledování bakteriocinového profilu izolátů *S. mutans* u rodičů a jejich dětí, které ukázalo vyšší shodnost profilu mezi matkou a dítětem než mezi otcem a dítětem, resp. mezi rodiči [12, 23].

Přehled výsledků nejčastěji citovaných studií, ve kterých již byly použity metody genotypové identifikace kariogenních streptokoků, jsou uvedeny v tabulce 1. Dosud publikované studie se uskutečnily jednak ve skandinávských zemích a v Nizozemí a jednak ve východní Asii (Čína, Japonsko). Tento fakt připomínáme z toho důvodu, že přenos orálních mikroorganismů mezi rodiči a dětmi, resp. mezi rodiči samými, je podmíněn řadou nutričních a kulturně sociálních faktorů, které jsou jistě mezi tak vzdálenými oblastmi odlišné [9]. V neposlední řadě se může lišit i genetická diverzita klonů *S. mutans* v jednotlivých kontinentech [4, 27].

Pokud jde o shodnost genotypů *S. mutans* mezi rodiči a dětmi, ukazuje se, že častější je v páru matka a dítě než v páru otec a dítě [21, 16, 7, 28]. Mezi Evropou a východní Asií je naznačen určitý rozdíl. Pokud byla v evropských souborech nalezena shoda genotypu *S. mutans* mezi rodičem a dítětem, pak se týkala ve více než 70 % páru matka a dítě [30, 8, 18] nebo se vůbec nenašla shoda v páru otec a dítě [7], zatím co v Japonsku byla shoda v páru otec a dítě nalezena až u 31,4 % vyšetřovaných rodin [16]. Homologní klony *S. mutans* byly nalezeny pouze u 10 až 15 % rodičovských párů [29, 16, 28].

Přítomnost homologních klonů *S. mutans* se ale našla u 12 % předškolních dětí v mateřských školách v Brazílii [24] a v Japonsku [26], což ukazuje i na možnost horizontálního přenosu kariogenních streptokoků v dětských kolektivech.

Dalším aspektem je počet genotypů *S. mutans* identifikovaných v materiálu odebraném z úst jedince. Více než jeden genotyp se dařilo identifikovat častěji u dospělých jedinců (rodičů) než u dětí [22, 7], ale děti s vyšší kazivostí dočasněho chrupu měly v ústech více genotypů *S. mutans* než děti s kazivostí malou nebo s intaktním chrupem [2].

Další řešenou otázkou je stabilita výskytu příslušného genotypu (genotypů) *S. mutans* v ústech jedince v čase. Opakovaná vyšetření v intervalu 18 měsíců až 5 let ukázala, že osídlení ústní dutiny příslušným genotypem se změnilo jen u minimálního podílu vyšetřených dětí, nepatrně častěji u dospělých [25, 8, 21, 13]. Jiným aspektem je ekologická stabilita výskytu příslušných genotypů *S. mutans* v jednotlivých lokalitách na chrupu. Předběžné studie ukázaly rozdíly ve výskytu jednotlivých genotypů mezi plakem na okluzálních a interproximálních ploškách postranních zubů [13].

Výsledky citovaných studií ukazují jednoznačně na to, že zdrojem orálního infektu kariogenními streptokoky je nejčastěji matka. Nelze je ale zatím metaanalyticky vyhodnotit, protože použité molekulárně genetické metody se studie od studie částečně liší, stejně jako zachycení a popis všech možných nutričních kulturně sociálních a behaviorálních vlivů, které mohly v dosud publikovaných studiích zjištěné nálezy značně ovlivnit.

V současné době se rozšiřuje počet pracovišť na jednotlivých kontinentech, které se problémem orálního infektu dětí kariogenními mikroorganismy zabývají, a zároveň se rozšiřují počty metod molekulárně genetické identifikace *S. mutans*. Je na snadě, že bude nutné provést řady dalších studií a na početnějších souborech, než se obraz přenosu kariogenního infektu zpřesní a bude prakticky použitelný jako prediktor kariézního rizika, nebo objektivní měřítko efektu preventivní nebo profylaktické intervence.

Tab. 1. Přehled výsledků molekulárně epidemiologických studií výskytu klonů *S. mutans* (SM) v rodinách
Tab. 1. Survey of results of molecular epidemiology studies *S. mutans* occurrence in families

Referent	Typ studie	Země	Vyšetřované metody	Mikrobiologické metody	Nález
Emanuelsson, I. M., Swed. Dent. J. Suppl., 2001, 148, 1–66	srovnávací (Švédsko-Čína), 2x vyš., v intervalu 4–7 měsíců	S Čína	25 švédských rodin, věk dětí 3 roky, 11 čínských rodin, věk dětí 2–5 let	DNA fingerprinting, REA RAPD	shoda genotypu SM ve švédských párech převážně matka+dítě, v čínských rodinách častěji i shoda v páru otec+dítě, u < 10 % rodin shoda v páru otec+matka různé genotypy v různých lokalitách dutiny ústní
Emanuelsson, I., Thornquist, E. Caries Res. 2000, 34, 133–139	longitudinální, 5 let po studii v roce 1998, následně vyš.	S	12 rodin, páry rodiče-děti, věk 8 let	STRIP Mutans, DNA fingerprinting	z 6 původních párů matka-dítě se stejným genotypem SM zůstalo 5 párů; vysoký stupeň persistence
Li, Y., Wang, W., Caulfield, P. W., Caries res. 2000, 34, 123–132	longitudinální 1 rok, 2x vyš.	Čína	48 rodin, matka+2–3 děti, věk 2–3 roky	MSB agar, DNA fingerprinting	66 % dětí mělo SM, z nich 70 % mělo identický genotyp s matkou, 88 % dětí kojonych déle než 9 měs.
Kozai, K. a spol., Oral Microbiol., Immunol. 1999, 43, 99–106	průřezová studie, 1x vyš.	JAP	20 rodin, (20 párů +36 dětí), věk 2–5 let	MSA agar, DNA fingerprinting	70 genotypů SM, 51,4 % shodných u matky a dětí, 31,4 % shodných u otce a dětí, 18,6 % dětí mělo jiný genotyp SM než rodiče; homologní klony SM pouze u 2 rodičovských párů
de Soet, J. J. a spol. Cleft Palate Craniofac. J. 1998, 35, 460–464	průřezová studie, 1x vyš.	NL	21 párů matka+dítě, věk 2–3 roky	MSA agar, R PCR	38 % párů mělo stejný genotyp SM
Emanuelsson, I. R., Li, Y., Bratthall, D. Oral Microbiol. Immunol., 1998, 13, 271–277	průřezová studie, 1x vyš.	S	25 rodin (25 matek, 18 otců, 25 dětí, věk 3 roky)	MSB agar, DNA fingerprinting	5 dětí mělo jiný genotyp SM než rodiče, 6 párů matka+dítě mělo stejný genotyp, žádná shoda genotypu SM v páru otec+dítě, 11 rodičovských párů mělo shodný genotyp SM
Gronroos, L., Saarela, M. a spol., Infect. Immunology 1998, 66, 2595–2600	longitudinální studie, 2x vyš., v intervalu 18 měs.	FIN	19 párů, matka+dítě, věk 18–36 měs.	bakteriocinová typizace a ribotyping	6 dětí bez SM, 37 odlišných ribotypů u matek, 12 u dětí, identické ribotypy u 17 párů matka+dítě v obou vyšetřeních, převděpodobný přenos SM mezi matkou a dítětem u 9 z 19 párů
Redmo-Emanuelsson, I. M., Wang, X. W., Eur. J. Oral Sci., 1998, 106, 788–794	průřezová studie	Čína	18 rodin (otec+matka+dítě, věk 3 roky)	MSB agar, restr. endonukl. HaeI III	stejný genotyp SM ve 4 rodinách u párů matka+dítě, ve 3 rodinách u párů otec+dítě, ve 2 rodinách identický genotyp SM u všech členů
Alaluusua, S. a spol. Arch. Oral Biol. 1996, 41, 167–173	průřezová studie	FIN	12 párů matka+dítě, věk 1,5–3 roky, 6 dětí s vysokou kazivostí, 6 dětí bez kazu	MSB agar, DNA fingerprinting restr. endonukl. Hind III	4 z kazivých dětí měly >1 genotyp SM, 1 z intaktních dětí mělo >1 genotyp SM, počet ribotypů a genotypu SM u matek kazivých a intaktních dětí byl stejný
Nie, M., Tan, M., Bian, Z. Caries Res., 2002, 36, 161–166	průřezová studie, 2x vyš., v intervalu 3 měs.	Čína	11 manželských párů	MSB agar, biochem., serol., restr. endonukl. HaeI III DNA fingerprinting	neshodné genotypy SM u 8 párů, shodné genotypy v obou vyš. u 1 páru, u 2 párů změny ve 2. vyš. proti 1. vyš. (př. 1. vyš. M+Ž+, 2. vyš. M-Ž+ a pod.)
van Loveren, C., Buijs, J. F., ten Cate, J. M. Caries Res. 2000, 34, 481–485	průřezová studie, 1x vyš.	NL	12 rodin (12 matek, 8 otců, 12 dětí), věk dětí 11 let	bakteriocinová typizace	7 párů matka+dítě mělo stejný bakteriocinový profil SM, ale jen 2 z 8 párů otec+dítě, u 2 rodin stejný profil u všech členů, stejný profil u 4 z 8 párů otec+matka
Saarela, M., et al. Oral Microbiol. Immunol., 1993, 8, 349–354	průřezová studie	FIN	20 manželských párů	DNA fingerprinting restr. endonukl. HindI III, SmaI	2 z 20 párů mělo stejný genotyp SM

Práce vznikla za finanční podpory IGA MZ ČR, reg. č. grantu NJ 8331-3.

LITERATURA

- Alaluusua, S.:** Transmission of mutans streptococci. *Proc. Finn. Dent. Soc.*, 87, 1991, 4, s. 443–447.
- Alaluusua, S., Matto, J., Gronroos, L., Innila, S., Torkko, H., Asikainen, S., Jousimies-Somer, H., Saarela, M.:** Oral colonization by more than one clonal type of mutans streptococcus in children with nursing-bottle dental caries. *Arch. Oral Biol.*, 41, 1996, 2, s. 167–173.
- Antony, U., Munshi, A. K.:** Sibling versus maternal *S. mutans* levels as related to dental caries. *J. Clin. Pediatr. Dent.*, 21, 1997, 2, s. 145–150.
- Caufield, P. W., Walker, T. M.:** Genetic diversity within *Streptococcus mutans* evident from chromosomal DNA restriction fragment polymorphisms. *J. Clin. Microbiol.*, 27, 1989, 2, s. 274–278.
- Caufield, P. W., Cutter, G. R., Dasanayake, A. P.:** Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J. Dent. Res.*, 72, 1993, 1, s. 37–45.
- Dušková, J., Broukal, Z., Krátký, M.:** Inhibice přenosu *S. mutans* v péči o matku a dítě, výsledky po 4 letech. *Sborník Orální zdraví*, 21, 2001.
- Emanuelsson, I. R., Li, Y., Bratthall, D.:** Genotyping shows different strains of mutans streptococci between father and child and within parental pairs in Swedish families. *Oral. Microbiol. Immunol.*, 13, 1998, 5, s. 271–277.
- Emanuelsson, I. R., Thornqvist, E.:** Genotypes of mutans streptococci tend to persist in their host for several years. *Caries Res.*, 34, 2000, 2, s. 133–139.
- Emanuelsson, I. M.:** Mutans streptococci – in families and on tooth sites. Studies on the distribution, acquisition and persistence using DNA fingerprinting. *Swed. Dent. J. Suppl.*, 148, 2001, s. 1–66.
- Emilson, C. G.:** Prevalence of *Streptococcus mutans* with different colonial morphologies in human plaque and saliva. *Scand. J. Dent. Res.*, 91, 1983, 1, s. 26–32.
- Fejerskov, O., Baelum, V.:** Changes in prevalence and incidence of the major oral diseases. In: *Oral biology at the turn of the century*, 1998, s. 1–12.
- Gronroos, L., Saarela, M., Matto, J., Tanner-Salo, U., Vuorela, A., Alaluusua, S.:** Mutacin production by *Streptococcus mutans* may promote transmission of bacteria from mother to child. *Infect. Immun.*, 66, 1998, 6, s. 2595–2600.
- Gronroos, L., Alaluusua, S.:** Site-specific oral colonization of mutans streptococci detected by arbitrarily primed PCR fingerprinting. *Caries Res.*, 34, 2000, 6, s. 474–480.
- van der Hoeven, J. S., van Palenstein Helderman, W. H.:** Microbial specificity and dental caries. In: *Oral biology at the turn of the century*, 1998, s. 43–56.
- Kilian, M.:** Clonal basis of bacterial virulence. In: *Oral biology at the turn of the century*, 1998, s. 131–143.
- Kozai, K., Nakayama, R., Tedjosongko, U., Kuwahara, S., Suzuki, J., Okada, M., Nagasaka, N.:** Intra-familial distribution of mutans streptococci in Japanese families and possibility of father-to-child transmission. *Microbiol. Immunol.*, 43, 1999, 2, s. 99–106.
- Krátký, M., Dušková, J.:** Metody genotypizace orálních streptokoků. *Čs. Stomat.*, 101, 2001, 4, s. 115–119.
- Krátký, M., Dušková, J., Janata, J., Broukal, Z.:** Molekulární epidemiologie streptokoků skupiny mutans-distribuce identických genotypů u rodinných příslušníků. *Sborník PDD*, 2001, s. 122.
- Kulkarni, G. V., Chan, K. H., Sandham, H. J.:** An investigation into the use of restriction endonuclease analysis for the study of transmission of mutans streptococci. *J. Dent. Res.*, 68, 1989, 7, s. 1155–1161.
- Li, Y., Caufield, P. W.:** Arbitrarily primed polymerase chain reaction fingerprinting for the genotypic identification of mutans streptococci from humans. *Oral Microbiol. Immunol.*, 13, 1998, 1, s. 17–22.
- Li, Y., Wang, W., Caufield, P. W.:** The fidelity of mutans streptococci transmission and caries status correlate with breast-feeding experience among Chinese families. *Caries Res.*, 34, 2000, 2, s. 123–132.
- Li, Y., Caufield, P. W., Emanuelsson, I. R., Thornqvist, E.:** Differentiation of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* via genotypic and phenotypic profiles from three different populations. *Oral Microbiol. Immunol.*, 16, 2001, 1, s. 16–23.
- van Loveren, C., Buijs, J. F., ten Cate, J. M.:** Similarity of bacteriocin activity profiles of mutans streptococci within the family when the children acquire the strains after the age of 5. *Caries Res.*, 34, 2000, 6, s. 481–485.
- Mattos-Graner, R. O., Li, Y., Caufield, P. W., Duncan, M., Smith, D. J.:** Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. *J. Clin. Microbiol.*, 39, 2001, 6, s. 2313–2316.
- Nie, M., Fan, M., Bian, Z.:** Transmission of mutans streptococci in adults within a Chinese population. *Caries Res.*, 36, 2002, 3, s. 161–166.
- Okada, M., Soda, Y., Hayashi, F., Doi, T., Suzuki, J., Miura, K., Kozai, K.:** PCR detection of *Streptococcus mutans* and *S. sobrinus* in dental plaque samples from Japanese pre-school children. *J. Med. Microbiol.*, 51, 2002, 5, s. 443–447.
- Pan, Y. P., Li, Y., Caufield, P. W.:** Phenotypic and genotypic diversity of *Streptococcus sanguis* in infants. *Oral Microbiol. Immunol.*, 16, 2001, 4, s. 235–242.
- Redmo-Emanuelsson, I. M., Wang, X. M.:** Demonstration of identical strains of mutans streptococci within Chinese families by genotyping. *Eur. J. Oral Sci.*, 106, 1998, 3, s. 788–794.
- Saarela, M., von Troil-Linden, B., Torkko, H., Stucki, A. M., Alaluusua, S., Jousimies-Somer, H., Asikainen, S.:** Transmission of oral bacterial species between spouses. *Oral Microbiol. Immunol.*, 8, 1993, 6, s. 349–354.
- de Soet, J. J., Bokhout, B., Buijs, J. F., van Loveren, C., de Graaff, J., Prahl-Andersen, B.:** Transmission of mutans streptococci between mothers and children with cleft lip and/or palate. *Cleft Palate Craniofac. J.*, 35, 1998, 5, s. 460–464.
- Thorild, I., Lindau-Jonson, B., Twetman, S.:** Prevalence of salivary *Streptococcus mutans* in mothers and in their preschool children. *Int. J. Paediatr. Dent.*, 12, 2002, 1, s. 2–7.

*Prof. MUDr. Jana Dušková, DrSc.
Výzkumný ústav stomatologický
1. LF UK a VFN
Vinohradská 48
120 21 Praha 2
e-mail: duskova@vus.cz*