

Próchnica wczesnego dzieciństwa w odniesieniu do liczebności bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* spp. w ślinie

Early childhood caries vs. the number of colonies of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. in saliva

Department of Paedodontics, Medical University of Lublin
Head of Department: Professor Maria Mielnik-Błaszczak, MD, PhD

SŁOWA KLUCZOWE

ECC, *Streptococcus mutans*,
Lactobacillus spp.

STRESZCZENIE

Wstęp. Próchnica wczesnego dzieciństwa (ECC) jest obecnym na całym świecie, szeroko rozpowszechnionym problemem zdrowotnym.

Cel pracy. To badanie stawia hipotezę, że rozwój ECC jest ściśle związany z rozwojem bakterii próchnicotwórczych *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* spp.

Materiał i metody. W badaniu uczestniczyło 346 dzieci w wieku od 7. do 48. miesiąca życia. Na podstawie danych zebranych w badaniu klinicznym oceniano frekwencję próchnicy oraz intensywność próchnicy zębów mlecznych. Uzyskane dane zostały poddane analizie statystycznej w odniesieniu do liczebności kolonii bakteryjnych *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* spp.

Wyniki. Badanie potwierdziło istotny statystycznie wzrost czynnych ognisk próchnicowych zębów mlecznych (liczba p) przy wzroście liczby kolonii bakteryjnych *Streptococcus mutans* oraz *Lactobacillus* spp. w ślinie badanych dzieci. Analiza statystyczna wykazała, że liczebność bakterii *Lactobacillus* spp. w ślinie zwiększa ryzyko nasilenia ECC średnio o 57,017 raza, natomiast obecność *Streptococcus mutans* – 209-krotnie.

Wnioski. Zwiększona intensywność próchnicy wczesnego dzieciństwa była istotnie powiązana ze zwiększoną liczebnością bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* spp. w ślinie dzieci w wieku żłobkowym. Należy zintensyfikować działania edukacyjne skierowane do rodziców małych dzieci dotyczące profilaktyki i leczenia choroby próchnicowej, aby zwiększyć szanse na zachowanie zdrowego uzębienia mlecznego do okresu fizjologicznej wymiany.

KEYWORDS

ECC, *Streptococcus mutans*,
Lactobacillus spp.

SUMMARY

Introduction. Early childhood caries (ECC) is a widespread health problem all over the world.

Aim. The present study proposes a hypothesis that ECC is closely related to cariogenic bacteria *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp.

Material and methods. The investigation was carried out in a group of 346 children, aged 7-48 months. Based on the data collected in clinical examination, the prevalence of caries in deciduous teeth and its intensity were evaluated. Statistical analysis was carried out to assess the number of bacterial colonies of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp.

Results. The investigation confirmed a statistically significant increase in the number of active foci of decay in deciduous teeth (d) at an increased number of bacterial colonies of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. detected in the saliva of the examined

children. The statistical analysis revealed that the salivary content of *Lactobacillus* spp. increased the risk of ECC intensity 57.017 times, and *Streptococcus mutans* increased the risk 209 times.

Conclusions. Higher intensity of caries in early childhood is significantly associated with an increased count of cariogenic bacteria in the saliva of infants and children attending nursery schools. Therefore, more intensive education of parents and carers of young children is needed in terms of the prophylaxis and treatment of caries to facilitate preservation of healthy deciduous teeth until their physiological replacement by permanent dentition.

WSTĘP

Rozwój uzębienia jest procesem długotrwałym, złożonym, powstającym w ścisłej korelacji z rozwojem i funkcją innych elementów narządu żucia. Uzależniony jest od czynników genetycznych, paragenetycznych i środowiskowych (1, 2). Choroba próchnicowa jest obecnym na całym świecie, szeroko rozpowszechnionym problemem zdrowotnym. Niektórzy badacze przedstawiają próchnicę jako najszerszej rozpowszechnioną przewlekłą chorobę u dzieci (3). Definicja próchnicy wczesnego okresu dzieciństwa (ang. *early childhood caries* – ECC) została podana przez Towarzystwo Stomatologów Amerykańskich i Amerykańską Akademię Stomatologii Dziecięcej jako obecność jednego lub więcej zębów mlecznych dotkniętych procesem próchnicowym lub wypełnionych z jego powodu, a także wyekstrahowanie zęba z powodu obecności zmian próchnicowych u dzieci w wieku 71 miesięcy lub młodszych (2-8).

Za rozwój próchnicy odpowiedzialna jest duża liczba patogennych bakterii. Częste spożycie cukrów oraz ich zaleganie z powodu nieprawidłowych nawyków higienicznych przy osłabionej strukturze zęba warunkują najsilniejszy rozwój próchnicy (7). Wśród cech wyróżniających bakterie próchnicogenne wymienia się: zdolność szybkiego metabolizowania cukrów do kwasów (kwasotwórczość), umiejętność przeżycia w warunkach niskiego pH (kwasolubność) oraz produkcję zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych wielocukrów (9). Za bakterie inicjujące chorobę próchnicową uznaje się *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sobrinus*. „Okno infekcyjności”, czyli czas zwiększonej podatności na kolonizację jamy ustnej przez kariogenne gatunki paciorkowca, obserwuje się od 19. do 31. miesiąca życia dziecka, średnio w 26. miesiącu życia (jest to tzw. pierwsze „okno infekcyjności”). Drugie „okno infekcyjności” ma miejsce między 6. a 12. rokiem życia, gdy wyrzynają się pierwsze zęby stałe (10, 11). Jednak w późniejszych badaniach Milgrom i wsp. wykazali, że kolonizacja *S. mutans* miała miejsce u 25% dzieci jeszcze przed wyrżnięciem zębów (12).

Badania przekrojowe wykazują złożony wpływ na rozwój próchnicy zębów różnych czynników, takich jak: status społeczno-ekonomiczny, pochodzenie etniczne, status imigrantów, karmienie niemowląt, ekspozycja na fluorek, zła lub niedostateczna higiena jamy ustnej oraz obecność ECC u dzieci w wieku przedszkolnym (12-14).

INTRODUCTION

The development of dentition is long, complex, and closely related to the development and function of other organs involved in mastication. It depends upon various genetic, paragenetic and environmental factors (1, 2). Dental caries is a widespread health problem on a global scale. Some researchers believe dental caries to be the most widespread chronic disease among children (3). Early childhood caries (ECC) was first defined by the American Dental Association (ADA) and American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD) as the presence of one or more deciduous teeth affected by caries or resultant fillings, or a tooth that was extracted because of carious lesions in children aged 71 months or younger (2-8).

The fastest development of caries is favored by a combination of factors, including the presence of a great number of pathogenic bacteria, frequent exposition to sugar consumption and stagnation in the oral cavity due to improper oral hygiene habits, and weaker structure of dental tissues (7). Cariogenic bacteria are extremely potent, as they quickly transform sugars into acids (cariogenicity), are able to survive at a lower pH level (acidophilia), produce extracellular polysaccharides (EPS) and intracellular polysaccharides (IPS) (9). *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* are thought to be responsible for the initiation of dental decay. The infectivity window, i.e. the time of increased susceptibility of the oral cavity to colonization by cariogenic streptococcal species occurs between 7 months and 2 years of age (it is called the first window of infectivity). Another period of increased development of streptococcal colonies is observed between 6 and 12 years of age, when the first permanent teeth begin to erupt (the second window of infectivity) (10, 11). Nonetheless, in later studies, Milgrom et al. showed the colonization with *S. mutans* to occur in 25% of children even before the eruption of teeth (12).

Cross-sectional studies have shown a combination of factors to have a very complex effect on the development of caries, including the socioeconomic status, ethnic background, immigrant status, infant feeding patterns, exposure to fluoride, poor or inadequate oral hygiene, and the presence of ECC in children of preschool age (12-14).

Do oceny ryzyka wystąpienia procesu próchnicowego stosuje się różnorodne testy, m.in.: badanie mikrobiologiczne, określanie szybkości wydzielania śliny, ocenę pH śliny, ocenę stanu uzębienia oraz stanu higieny jamy ustnej. Testy mikrobiologiczne mają na celu wykrycie przede wszystkim szczepów bakterii *Streptococcus mutans* oraz *Lactobacillus* spp. Testy ilościowe tych patogenów pomagają w ocenie stopnia zagrożenia próchnicą i wykryciu osób szczególnie narażonych na rozwój tej choroby. Test określający liczebność kolonii *Lactobacillus* spp. może być dodatkowo wykorzystany do oceny diety badanej osoby, gdyż liczebność tych bakterii wzrasta w przypadku zwiększonego spożycia węglowodanów i utrzymuje się nawet do 2 tygodni (4).

CEL PRACY

Celem pracy była ocena częstości występowania próchnicy wczesnego dzieciństwa oraz analiza zależności pomiędzy chorobą próchnicową zębów mlecznych a liczebnością kolonii bakteryjnych *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* spp. u dzieci w wieku żłobkowym.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto grupę 346 dzieci w wieku żłobkowym, od 7. do 48. miesiąca życia (średnia wieku $26,28 \pm 8,49$ miesiąca). W badanej grupie było 54,34% chłopców ($n = 188$) i 45,66% dziewczynek ($n = 158$) uczęszczających do żłobków. W badanej grupie dzieci przeprowadzono badanie kliniczne stanu uzębienia mlecznego oraz badanie mikrobiologiczne śliny.

Kliniczne badanie stomatologiczne przeprowadzono przy pomocy jednorazowego zestawu diagnostycznego w sztucznym oświetleniu. Badanie obejmowało obecny stan uzębienia dziecka. Wyniki wprowadzono do karty badań, zaznaczono obecność lub brak poszczególnych zębów mlecznych oraz liczbę czynnych ognisk próchnicowych, wypełnień i zębów usuniętych z powodu próchnicy. Badaniem klinicznym oceniono frekwencję i intensywność próchnicy zębów mlecznych na podstawie liczby puwz oraz jej składowych: pz, uz oraz wz.

W badaniu mikrobiologicznym oceniono liczebność kolonii bakterii w ślinie: *Streptococcus mutans* z wykorzystaniem testów mikrobiologicznych Dentocult SM Strip mutans firmy Orion Diagnostica oraz bakterii z rodzaju *Lactobacillus* z wykorzystaniem testów Dentocult LB firmy Orion Diagnostica. Hodowlę bakterii i odczyt wyników dokonano zgodnie z zaleceniem producenta testów mikrobiologicznych. Ze względu na wiek dzieci zmodyfikowano sposób pobierania śliny do badań opisany w instrukcji testu. Nie stosowano parafinowych kostek do żucia. Wykonywano masaż okolicy podbródkowej i przyusznej, w celu uzyskania śliny mieszanej. Zbierano ją z dna jamy ustnej, za pomocą jednorazowych strzykawek. Następnie materiał badawczy posiewano na odpowiednie podłoże do hodowli bakterii *S. mutans* i *Lactobacillus* spp. i umieszczano w cieplarni o temperaturze 37°C. Następnie test SM wyjmowano po

The risk of dental caries is evaluated with various tools, e.g. microbiological examination, the rate of saliva secretion, pH of saliva, the condition of teeth and oral hygiene. Microbiological tests are performed to detect primarily bacterial species of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. Quantitative scores help to evaluate the degree of risk, and select those at the highest risk for dental caries. Moreover, a quantitative test measuring the number of *Lactobacillus* spp. colonies can be used to evaluate the diet, since the count of bacteria increases with higher consumption of carbohydrates, and persists for up to two weeks (4).

AIM

The study was aimed at the evaluation of early childhood caries prevalence and analysis of correlations between decayed deciduous teeth and the number of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. colonies in nursery school children.

MATERIAL AND METHODS

The study was carried out in a group of 346 nursery school children, aged 7-48 months, mean age 26.28 ± 8.49 months. The examined group consisted of infants and children attending nurseries, 54.34% boys ($n = 188$), and 45.66% girls ($n = 158$). The deciduous teeth were clinically examined, with saliva samples collected and microbiologically examined.

The clinical examination of the current condition of the teeth was carried out by means of disposable diagnostic sets in artificial light. The findings were charted on examination sheets, and the following parameters were marked: deciduous teeth present or missing, active foci of caries, the number of teeth filled, and the number of teeth extracted due to caries. The prevalence of caries and intensity of decayed deciduous teeth was evaluated on the basis of the dmft index and its components: dt, mt, and ft.

Microbiological tests were carried out to evaluate the number of bacterial colonies of *Streptococcus mutans* in the saliva by means of Dentocult SM Strip mutans microbiological kit (Orion Diagnostica), and of *Lactobacillus* – with Dentocult LB (Orion Diagnostica). The samples were cultured, and the results read according to the instructions provided by the manufacturer. Considering the age of the subjects, the recommended method of saliva collection was modified. Paraffin chewing cubes were not used. Instead, the submandibular area and the area around the ears were massaged to obtain mixed saliva. The saliva was collected from the floor of the mouth into disposable syringes. The samples were cultured on a medium specific for *S. mutans* and *Lactobacillus* spp., and grown in an incubator at 37°C. SM tests were retrieved after 48 h, and LB tests after 4 days, and the density of colony forming units (CFU) per 1 ml

48 godzinach, a test LB po 4 dniach i porównywano gęstości wyhodowanych kolonii (CFU) na ml śliny z modelowym wzorcem dołączonym do tekstów.

Analiza statystyczna

Dane uzyskane z badania klinicznego i mikrobiologicznego zostały zakodowane i poddane analizie statystycznej. Do oceny różnic między analizowanymi grupami zastosowano test niezależności χ^2 oraz test t-Studenta ze zmienną grupującą. Do oceny różnic między kilkoma grupami zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Do określenia zależności między badanymi cechami zastosowano nieparametryczny test dla współczynnika korelacji rang Spearmana (R). Do przedstawienia wieloczynnikowych zależności i wykazania związku uzyskanych danych wykorzystano analizę logistyczną i obliczono iloraz szans (OR). Przyjęto 5% błąd wnioskowania i związany z nim poziom istotności $p < 0,05$. Bazę analizowanych danych i analizy statystyczne przeprowadzono w oparciu o oprogramowanie komputerowe Statistica 10.0 (StatSoft, Polska).

Wszyscy pacjenci i ich rodzice wyrazili zgodę na badania kliniczne i zebranie śliny zgodnie z Deklaracją Helsińską. Na badanie uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Lublinie nr KE-0254/51/2011. Badanie było finansowane z działalności statutowej DS. 291 Uniwersytetu Medycznego w Lublinie.

WYNIKI BADAŃ

Badania kliniczne

Frekwencja próchnicy w badanej grupie dzieci wyniosła 44,51%. W badanej populacji frekwencja próchnicy zwiększała się wraz z wiekiem dziecka (χ^2 Pearson = 26,10; $p = 0,0001$) – od 0,00% w grupie dzieci najmłodszych (do 12. miesiąca życia) do 65,91% w najstarszej grupie, czyli dzieci powyżej 48. miesiąca życia. Analiza statystyczna wykazała, że frekwencja próchnicy w badanej populacji nie zależy od płci (χ^2 Pearson = 0,08; $p = 0,95$). Frekwencja próchnicy u dziewczynek wyniosła 44,30%, natomiast u chłopców 44,68%. Stwierdzono również, że miejsce zamieszkania nie miało istotnego statystycznie wpływu na frekwencję próchnicy (χ^2 Pearson = 4,59; $p = 0,19$). Frekwencja próchnicy w mieście powyżej 100 tys. mieszkańców była nieistotnie statystycznie niższa i liczyła 36,59%, podczas gdy wśród dzieci mieszkających na wsi i w małych miasteczkach wyniosła odpowiednio 42,41 i 47,68%.

Wartości średniej liczby puwz i jej składowych pz, uz, wz w badanej grupie dzieci przedstawia tabela 1. Obecność czynnych ubytków próchnicowych odzwierciedla średnia wartość liczby p, która w badanej populacji wyniosła 2,32 i wahała się w granicach od 0 do 20.

Intensywność próchnicy zębów mlecznych u dzieci z liczbą puwz > 0 wyniosła 5,56. Nie stwierdzono istotnego statystycznie wpływu wieku dziecka na intensywność próchnicy ($p = 0,061$). Zaobserwowano, że średnia liczba puwz u dzieci

of saliva was compared with the guide included in the testing kit.

Statistical analysis

The results of the clinical examination and microbiological scores were coded and analyzed statistically. To evaluate the differences between the analyzed groups for nominal features χ^2 test was applied, and to establish the differences between two analyzed groups for quantitative features t-Student test was used. To determine the difference between several groups, one-way analysis of variance ANOVA was used. To establish the correlations between the parameters, Spearman's test (R) was used.

To present dependences between multiple properties and demonstrate correlations between data, the odds ratio (OR) was calculated, with 5% conclusion error and $p < 0.05$ assumed as the level of significance. The database and statistical analyses were performed with Statistica 10.0 software (StatSoft, Poland).

All patients and their parents consented to the clinical examination and to the collection of saliva, in accordance with the Declaration of Helsinki. The study was approved by the local Bioethics Committee KE-0254/7/2014 at the Medical University of Lublin. The study was financed by Statutory Activities No. DS 291, Medical University of Lublin, Poland.

RESULTS

Clinical examination

The prevalence of caries in the examined group was 44.51%, and it increased with the children's age (χ^2 Pearson = 26.10; $p = 0.0001$), from 0.00% in the group of the youngest children (under 12 months) to 65.91% in the oldest group (over 48 months). The statistical analysis revealed that the frequency of caries was not gender-dependant (χ^2 Pearson = 0.08; $p = 0.95$). In the group of girls, the prevalence of caries was 44.3%, whilst among boys it was 44.68%. Moreover, it was found that the place of living was not statistically significantly correlated with caries prevalence ($\chi^2 = 4.59$; $p = 0.19$). The prevalence of caries among children living in a big town with a population over 100,000 was statistically non-significantly lower at 36.59%, whereas in the group of children living in the country and small towns it equaled 42.41% and 47.68% respectively.

Table 1 shows the mean dmft and its dt, mt, and ft components in the group of examined children. The mean values of d show the presence of active decay, which in the examined population was 2.32 (range 0-20).

The intensity of caries in children with dmft > 0 was 5.56. No statistically significant impact of age on caries intensity was found (ANOVA $F = 2.83$; $p = 0.061$). In the group of children aged over 12 months, the mean dmft

Tab. 1. Wartości liczby puwz i jej składowych: pz, uz oraz wz w badanej grupie dzieci

Badany parametr	Średnia	Odch. std.	Mediana	Minimum	Maksimum
pz	2,32	3,65	0,00	0,00	20,00
uz	0,01	0,17	0,00	0,00	3,00
wz	0,14	0,75	0,00	0,00	8,00
puwz	2,48	3,72	0,00	0,00	20,00

Tab. 1. Dmft and its components: dt, mt and ft in the group of the examined children

Parameter examined	Mean	SD	Median	Minimum	Maximum
dt	2.32	3.65	0.00	0.00	20.00
mt	0.01	0.17	0.00	0.00	3.00
ft	0.14	0.75	0.00	0.00	8.00
dmf	2.48	3.72	0.00	0.00	20.00

powyżej 12. miesiąca życia wynosi 4,87, podczas gdy u dzieci starszych (48 miesięcy i więcej) intensywność próchnicy wynosi 6,93. Nie stwierdzono wpływu płci na intensywność próchnicy ($p = 0,94$). Średnia wartość liczby puwz u dziewczynek wyniosła 5,56, natomiast u chłopców 5,57. Również miejsce zamieszkania nie miało istotnego statystycznie wpływu na intensywność próchnicy ($p = 0,33$). Średnia wartość liczby puwz u dzieci zamieszkałych w dużych miastach była nieistotnie statystycznie niższa i wyniosła 5,48, natomiast u badanych zamieszkałych w małych miastach i na wsi intensywność próchnicy wyniosła odpowiednio 5,55 i 7,33. Średnia wartość liczby puwz w grupie dzieci spożywających słodczyce wyniosła 7,60, natomiast w grupie dzieci niespożywających słodczyce – 5,50. Zaobserwowane różnice nie były istotne statystycznie ($p = 0,45$).

Badania mikrobiologiczne śliny

Wyniki badania mikrobiologicznego dotyczące liczebności i odsetka dzieci z poszczególnym mianem kolonii bakteryjnych *Streptococcus mutans* (SM) oraz z rodzaju *Lactobacillus* w ślinie przedstawiono na rycinach 1 i 2.

Analiza statystyczna wykazała, że na rozwój próchnicy zębów wpływ miały następujące parametry mikrobiologiczne w ślinie:

- wartość składowej pz – stwierdzono silną, dodatnią korelację pomiędzy wartością składowej pz a liczebnością kolonii bakteryjnych SM w ślinie. Wzrostowi wartości składowej pz towarzyszył wzrost liczby kolonii SM ($R = 0,90$; $p = 0,0001$). Dla SM = 0 próchnica wystąpiła u 0,29% badanych ($n = 1$), dla SM = 1 – u 9,54% ($n = 33$), dla SM = 2 u 21,10% ($n = 73$), dla SM = 3 – u 10,98% dzieci ($n = 38$),
- wartość puwz – stwierdzono silną, dodatnią korelację pomiędzy wartościami puwz a liczbą SM ($R = 0,92$;

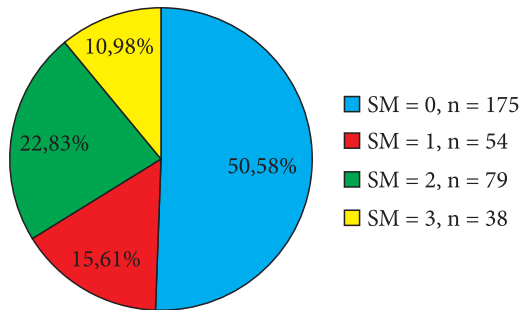
and in the group of older children ≥ 48 months it was 6.93. No impact of gender on caries intensity was found ($p = 0.94$). The mean dmft in girls was 5.56, and in boys – 5.57. The place of living had no influence either ($p = 0.33$). In the group living in a big town, the mean dmft was 5.48, and was statistically insignificantly lower, whilst in the groups of children from small towns and living in the country it was 5.55 and 7.33 respectively. In the group of children eating sweets, the mean dmft was 7.60, and in the group of children who did not eat sweets it was 5.50. The differences were statistically non-significant ($p = 0.45$).

Microbiological tests of saliva

The results of the microbiological scores of the number and percentage of children with a particular titre of bacterial colonies of *Streptococcus mutans* (SM) and *Lactobacillus* (LB) in the saliva are presented in figures 1 and 2.

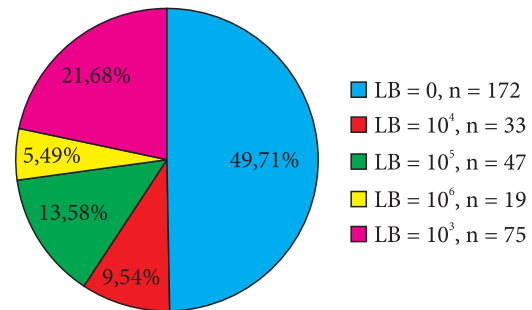
The statistical analysis revealed the impact of the following saliva microbiological parameters on the development of caries:

- dt – a strong positive correlation between d and the number of bacterial colonies of SM in the saliva. Increased d values were observed at an increased number of bacterial colonies of SM in the saliva ($R = 0.90$; $p = 0.0001$). For SM = 0 caries occurred in 0.29% of the patients ($n = 1$), for SM = 1 caries occurred in 9.54% ($n = 33$), SM = 2 in 21.10% ($n = 73$), SM = 3 in 10.98% ($n = 38$),
- dmft – a strong positive correlation between dmf and SM count was found ($R = 0.92$; $t = 43.62$, $p = 0.0001$). Increased dmft values were observed at a higher number of SM colonies. For SM = 0



Ryc. 1. Liczebność kolonii bakteryjnych *Streptococcus mutans* w ślinie badanych dzieci

Fig. 1. The number of colonies of *Streptococcus mutans* in the saliva of the examined children



Ryc. 2. Liczebność kolonii bakteryjnych *Lactobacillus* spp. w ślinie badanych dzieci

Fig. 2. The number of colonies of *Lactobacillus* spp. in the saliva of the examined children

$t = 43,62$, $p = 0,0001$) – wyższym wartościom puwz towarzyszy większa liczebność SM. Dla SM = 0 nasilenie próchnicy (puwz > 0) stwierdzono u 0,58% badanych (n = 2), dla SM = 1 – u 10,98% (n = 38), dla SM = 2 – u 21,97% (n = 76), a dla SM = 3 wystąpiło u 10,80% badanych (n = 38),

- wartość składowej pz – stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy wartością składowej pz a liczbą kolonii bakterii *Lactobacillus* spp. Analiza wykazała silną korelację dodatnią – wraz ze wzrostem wartości składowej z pz rośnie liczba kolonii bakterii LB ($R = 0,89$; $p = 0,0002$). Dla LB = 0 próchnica wystąpiła u 0,58% badanych (n = 2), dla LB = 10³ CFU/ml próchnicę zaobserwowano u 9,25% (n = 32), dla LB = 10⁴ CFU/ml – u 13,29% (n = 46), dla LB = 10⁵ CFU/ml – u 13,58% (n = 47), a w ostatniej klasie LB = 10⁶ CFU/ml próchnica wystąpiła u 5,20% dzieci (n = 18),
- wartość liczby puwz – stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy liczbą kolonii bakterii LB a wartością liczby puwz. Stwierdzono silną korelację dodatnią – wraz ze wzrostem liczby puwz rośnie liczba kolonii bakterii ($R = 0,90$; $p = 0,0001$). Dla LB = 0 puwz > 0 stwierdzono u 1,15% badanych (n = 4), dla LB = 10³ CFU/ml – u 9,54% (n = 33), dla LB = 10⁴ CFU/ml – u 13,58% (n = 47), dla LB = 10⁵ CFU/ml – u 15,03% (n = 52), a w ostatniej klasie LB = 10⁶ CFU/ml znalazło się 5,20% dzieci (n = 18).

Stosując w analizie statystycznej iloraz szans, wskazano, że oznaczalna liczebność bakterii LB w ślinie zwiększa ryzyko nasilenia próchnicy średnio o 57,017 raza (od 34 do 68,1 z prawdopodobieństwem 95%), natomiast obecność SM – 209-krotnie (od 36,1 do 486 z prawdopodobieństwem 95%).

DYSKUSJA

Liczebność bakterii próchnicotwórczych, tj. *Streptococcus mutans* (SM) i *Lactobacillus* spp. (LB), i ich związek

increased caries intensity (dmf > 0) was found in 0.58% of the patients (n = 2), SM = 1 caries intensity was observed in 10.98% (n = 38), for SM = 2 dmf > 0 in 21.97% (n = 76), and for SM = 3 it was determined in 10.80% (n = 38),

- dt – correlated statistically significantly with the number of bacterial colonies of LB. The analysis found a strong positive correlation; increased d was observed at an increased number of LB bacterial colonies ($R = 0,89$; $p = 0,0002$). For LB = 0 caries occurred in 0.58% (n = 2) of the patients, for LB = 10³ CFU/ml caries was observed in 9.25% (n = 32), for LB = 10⁴ CFU/ml in 13.29% (n = 46), LB = 10⁵ CFU/ml caries occurred in 13.58% (n = 47), and for LB = 10⁶ CFU/ml caries was detected in 5.20% (n = 18),
- dmft – statistically significantly correlated with the number of LB colonies. There was a strong positive correlation; increased dmft was observed at an increased number of bacterial colonies ($R = 0,90$ $t = 35,40$; $p = 0,0001$). For LB = 0 dmf > 0 it was found in 1.15% of the participants (n = 4), for LB = 10³ CFU/ml dmf > 0 in 9.54% (n = 33), for LB = 10⁴ CFU/ml dmf > 0 in 13.58% (n = 47), for LB = 10⁵ CFU/ml dmf > 0 in 15.03% (n = 52), whilst the last class included 5.20% of the children (n = 18).

The odds ratio (OR) found that the measurable number of bacterial LB colonies in the saliva increased the risk of caries intensity 57.017 times the mean value (range 34-68.1 at 95% likelihood), and SM salivary content increased the risk of caries intensity 209 times (range 36.1-486 at 95% likelihood).

DISCUSSION

The number of cariogenic bacterial colonies of *Streptococcus mutans* (SM) and *Lactobacillus* spp. (LB) and their causative relationship with the intensity of caries have been the subject of numerous studies.

przyczynowy z intensywnością próchnicy jest przedmiotem badań wielu autorów.

Szczepańska i wsp. (4) ocenili liczebności kolonii bakterii *S. mutans* i *Lactobacillus* spp. w ślinie 3-letnich dzieci urodzonych przez cesarskie cięcie lub drogami natury. Wykazali, że średnie liczebności klas bakterii SM i LB były wyższe dla dziewczynek niż chłopców. Po zbadaniu zależności istotna statystycznie korelacja wystąpiła między puw a liczebnościami bakterii *S. mutans* w ślinie (OR = 62,08). Proc i wsp. dokonali oceny liczebności bakterii próchnicotwórczych w powiązaniu z puw u dzieci w wieku 2-5 lat, z zastosowaniem testu CRT bacteria. Autorzy wykazali zależność między występowaniem bakterii a wiekiem badanych oraz intensywnością próchnicy. Najwyższą intensywnością próchnicy charakteryzowały się dzieci z wysokim poziomem obydwu patogenów (15).

Yoon i wsp. (5) przeprowadzili badanie u 229 dzieci pochodzenia latynoskiego poniżej 3. roku życia z ECC oraz u 242 dzieci bez ECC przy pomocy narzędzia oceniającego narażenie na próchnicę – Caries-Risk Assessment Tool (CAT) Amerykańskiej Akademii Stomatologii Dziecięcej. Autorzy porównali cztery czynniki (CAT, CAT bez statusu społeczno-ekonomicznego, CAT bez statusu społeczno-ekonomicznego, ale z oceną *S. mutans* oraz wyłącznie *S. mutans*) w celu określenia użyteczności klinicznej. Wyniki CAT wykazały wysoką czułość (100,0%), negatywną wartość prognostyczną (100,0%), ale niską swoistość (2,9%) oraz pozytywną wartość prognostyczną (49,4%). Same *S. mutans* miały największą kombinację dokładności i użyteczności klinicznej (czułość 86,5%; swoistość 93,4%; PPV 92,5%; NPV 87,9%). Parisotto i wsp. przebadali klinicznie 169 dzieci na obecność wczesnych zmian próchnicowych. Uczestników badania podzielono na: dzieci wolne od próchnicy (n = 53), dzieci z wczesnymi zmianami próchnicowymi (n = 56) i dzieci ze zmianami próchnicowymi z utratą szkliwa (n = 60). Stwierdzono, że na wystąpienie próchnicy w wysokim stopniu wpływa *S. mutans* i widoczna płytka nazębna na siekaczach szczęki, podczas gdy dalszy rozwój próchnicy jest silnie powiązany z *Lactobacillus* spp. (16). Law i wsp. w przeprowadzonym badaniu określili czynniki powiązane z infekcją *S. mutans* i rozwojem zmian próchnicowych w grupie dzieci w wieku 21-72 miesięcy. W wyniku przeprowadzonego badania stwierdzili, że brak higieny jamy ustnej, spożywanie przekąsek zawierających cukier oraz niedorozwój szkliwa są znaczącymi czynnikami zarówno dla infekcji SM, jak i zapoczątkowania zmian próchnicowych (17). Ge i wsp. (18) badali zależność pomiędzy kolonizacją bakterii w ślinie i stopniem zaawansowania próchnicy u dzieci w okresie wczesnego dzieciństwa. Stwierdzili, że stopień zaawansowania próchnicy u dzieci nie różnił się u chłopców i dziewczynek, ale pozytywnie korelował z poziomami *S. mutans* (p < 0,001), liczebnością kolonii *Streptococcus* spp. w jamie ustnej (p < 0,01), ogólną kolonizacją bakteriami jamy ustnej (p < 0,05) i wiekiem dzieci (p < 0,05). Analiza regresji logistycznej wykazała, że interakcja *S. sanguinis* z *S. mutans* była istotnie związana z poziomem próchnicy u dzieci. Badania Tanner i wsp. wskazują, że istnieją różnice w charakterze

Szczepańska et al. (4) evaluated the number of bacterial colonies of *S. mutans* and *Lactobacillus* spp. in the saliva of 3-year old children delivered naturally and by Caesarean section. They found the mean number of SM and LB colonies to be higher in girls compared with boys. The analysis of dependences showed a statistically significant correlation between dmf and the count of *S. mutans* in the saliva (OR = 62.08). Proc et al. analysed the relationship between the count of cariogenic bacteria and dmf in children aged 2-5 years with the use of the CRT bacteria test. They found a correlation between the presence of bacteria, the age of children and the intensity of caries. Children with high counts of both pathogens showed the highest intensity of caries (15).

Yoon et al. (5) examined 229 children aged under 3 of Latin-American background with ECC, and 242 children free of ECC. They evaluated the exposure to dental caries using Caries-Risk Assessment Tool (CAT) of AAPD. The authors compared four factors (CAT, CAT without the socioeconomic status, CAT without the socioeconomic status but with *S. mutans* count and *S. mutans* alone) to determine their clinical usefulness. The results showed the high sensitivity (100.0%) and negative prognostic value (NPV = 100.0%), but low specificity (2.9%), and positive prognostic value (PPV = 49.4%) of CAT. Measuring the number of *S. mutans* alone showed the highest combination of accuracy and clinical usefulness (sensitivity of 86.5%, specificity of 93.4%; PPV = 92.5%; NPV = 87.9%). Parisotto et al. clinically examined a group of 169 children for early carious lesions. The patients were divided into the following groups: children free of caries (n = 53), children with early carious lesions (ECL) (n = 56), children with cavitated carious lesions (CCL) (n = 60). They concluded that *S. mutans* and dental plaque visible on the canines had a statistically significant effect on the onset of caries, whereas further development of caries was strongly related to *Lactobacillus* spp. (16). Law et al. examined the factors linked to the infection with *S. mutans* and the development of carious lesions in children aged 21-72-months old. They concluded that a lack of oral hygiene, consumption of sugar-containing snacks and underdeveloped enamel were important factors in both SM infection and the onset of carious lesions (17). Ge et al. (18) examined the relationships between the colonization of saliva by bacteria and the degree of caries advancement in early childhood. They found the degree of caries advancement to be positively correlated with the number of *S. mutans* (p < 0.001), total number of *Streptococcus* spp. in the oral cavity (p < 0.01), total colonization by oral bacteria (p < 0.05), and age (p < 0.05). Regression analysis revealed that the interaction between *S. sanguinis* and *S. mutans* was significantly correlated with the level of caries in children (18). The study by Tanner et al. suggests differences in the character of microbiota prior to and after treatment. The researchers

mikroflory przed leczeniem i po leczeniu oraz różnice w odpowiedzi na leczenie u dzieci z ciężką postacią ECC. Ponadto autorzy ci proponują uznać ciężką postać ECC jako złożone zakażenie, na które może mieć wpływ dieta w różnym stopniu u różnych dzieci (19). Begzati i wsp. zaobserwowali, że występowanie ECC miało 17,36% dzieci z Kosowa ze średnią puwz $11 \pm 3,6$, a występowanie *Streptococcus mutans* odnotowali u 98% dzieci. Wykazali również istotną korelację pomiędzy puwz i liczebnością kolonii *S. mutans* ($\geq 10^5$ CFU/ml) (20).

WNIOSKI

Zwiększona intensywność próchnicy wczesnego dzieciństwa była istotnie powiązana ze zwiększoną liczebnością bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* spp. w ślinie dzieci w wieku żłobkowym.

Należy zintensyfikować działania edukacyjne skierowane do rodziców małych dzieci dotyczące profilaktyki i leczenia choroby próchnicowej, aby zwiększyć szanse na zachowanie zdrowego uzębienia mlecznego do okresu fizjologicznej wymiany.

found a different response to treatment in children with severe ECC. Moreover, the authors propose that severe ECC is a complex infection, and diet may influence different children to a different degree (14). Begzati et al. found ECC in 17.36% of the examined children in Kosovo, with the mean dmf = 11 ± 3.6 . ECC *Streptococcus mutans* was observed in 98% of children from Kosovo. They also found dmf and the number of *S. mutans* colonies to be significantly correlated ($\geq 10^5$ CFU/ml) (20).

CONCLUSIONS

Increased intensity of early childhood caries is significantly related to an increased count of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. in the saliva of nursery school infants and children.

Therefore, more intensive education of parents and carers of young children is needed in terms of the prophylaxis and treatment of caries to facilitate maintaining healthy deciduous teeth until their physiological replacement by permanent dentition.

KONFLIKT INTERESÓW CONFLICT OF INTEREST

Brak konfliktu interesów
None

ADRES DO KORESPONDENCJI CORRESPONDENCE

*Elżbieta Pels
Zakład Stomatologii Wieków Rozwojowego
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Karmelicka 7, 20-081 Lublin
tel. +48 (81) 532-06-19
elzbieta.pels@umlub.pl

PIŚMIENNICTWO/REFERENCES

1. Chaffee BW, Feldens CA, Rodrigues PH, Vítolo MR: Feeding practices in infancy associated with caries incidence in early childhood. *Community Dent Oral Epidemiol* 2015; 43: 338-348.
2. Olczak-Kowalczyk D, Boguszewska-Gutenbaum H, Janicha J, Turska-Szybka A: Selected issues of baby teething. *Nowa Stomatol* 2011; 16: 73-76.
3. American Academy of Pediatric Dentistry: Clinical Affairs Committee – Infant Oral Health Subcommittee. Guideline on infant oral health care. *Pediatr Dent* 2012; 34: e148-152.
4. Szczepańska J, Szydłowska-Walendowska B, Pawłowska E, Lubowiedzka-Gontarek B: Salivary levels of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp. in 3-year-old children born by Caesarian section. *J Stomatol* 2009; 62: 711-721.
5. Yoon RK, Saldone AM, Edelstein BL: Early childhood caries screening tools: A comparison of four approaches. *J Am Dent Assoc* 2012; 143: 756-763.
6. Palmer CA, Kent R Jr, Loo CY et al.: Diet and Caries-associated Bacteria in Severe Early Childhood Caries. *J Dent Res* 2010; 89: 1224-1229.
7. Kaczmarek U, Grzesiak I, Kowalczyk-Zajac M: Early childhood caries – analysis of selected biological factors. *Dent Med Probl* 2008; 45: 260-270.
8. Turska-Szybka A, Grudziąż-Sękowski J, Olczak-Kowalczyk D: Early childhood caries risk factors and individual assessment of risk level according to CAMBRA. *Nowa Stomatol* 2011; 16: 119-127.
9. Smith CA, Higham SM, Smith PW, Verran J: The Effect of Chewing Urea-Containing Gum on Plaque Acidogenic and Alkaligenic and Alkaligenic Parameters. *Caries Res* 2004; 38: 124-129.
10. Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP: Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res* 1993; 72: 37-45.
11. Sołtan EA, Herman K, Kaczmarek U: Salivary levels of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* with regard to caries intensity in children. *Dent Med Probl* 2016; 53: 203-209.
12. Milgrom P, Riedy CA, Weinstein P et al.: Dental caries and its relationship to bacterial infection, hypoplasia, diet, and oral hygiene in 6- to 36-month-old children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2000; 28: 295-306.
13. Hallett KB, O'Rourke PK: Social and behavioural determinants of early childhood caries. *Aust Dent J* 2003; 48: 27-33.

14. Zhou Y, Yang JY, Zhi QH et al.: Factors associated with colonization of *Streptococcus mutans* in 8- to 32-month-old children: a cohort study. *Aust Dent J* 2013; 58: 507-513.
15. Proc P, Filipińska-Skańska R, Wochna-Sobańska M: Is a bacterial factor crucial in caries development of the youngest children? *Nowa Stomatol* 2004; 2: 51-55.
16. Parisotto TM, Steiner-Oliveira C, Duque C et al.: Relation among microbiological composition and presence of dental plaque, sugar exposure, social factors and different stages of early childhood caries. *Arch Oral Biol* 2010; 55: 365-373.
17. Law V, Seow WK, Townsend G: Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children. *Aust Dent J* 2007; 52: 93-100.
18. Ge Y, Caufield PW, Fisch GS, Li Y: *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* Colonization Correlated with Caries Experience in Children. *Caries Res* 2008; 42: 444-448.
19. Tanner ACR, Kent RL Jr, Lif Holgersson P et al.: Microbiota of Severe Early Childhood Caries before and after Therapy. *J Dent Res* 2011; 90: 1298-1305.
20. Begzati A, Berisha M, Meqa K: Early childhood caries in preschool children of Kosovo – a serious public health problem. *BMC Public Health* 2010; 10: 1-8.

nadesłano/submitted:

14.07.2017

zaakceptowano do druku/accepted:

04.08.2017