

MAGDALENA ŚWIĄTKOWSKA¹, *PAULA PIEKOSZEWSKA-ZIĘTEK¹, DARIUSZ GOZDOWSKI²,
DOROTA OLCZAK-KOWALCZYK¹

Ocena przydatności analizatora Spotchem® (Arkray) w diagnostyce ryzyka chorób jamy ustnej u dzieci. Badanie pilotażowe

¹Zakład Stomatologii Dziecięcej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Dorota Olczak-Kowalczyk

²Katedra Doświadczalnictwa i Bioinformatyki, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Kierownik Katedry: dr hab. Krzysztof Pawłowski

SŁOWA KLUCZOWE

testy ślinowe, analizator Spotchem®,
próchnica zębów, zapalenie dziąseł,
higiena jamy ustnej

STRESZCZENIE

Wstęp. Od dawna stosowanym testem oceny parametrów fizykochemicznych śliny jest test Saliva Check Buffer®, a poziomu bakterii kariogennych – CRT Bacteria®. Nowym urządzeniem oceny parametrów śliny jest analizator Spotchem®.

Cel pracy. Określenie zgodności wyników badań uzyskiwanych analizatorem Spotchem® i testami Saliva Check Buffer® i CRT Bacteria® oraz ocena korelacji uzyskanych wyników ze stanem higieny jamy ustnej, dziąseł i uzębienia w diagnostyce ryzyka chorób jamy ustnej u dzieci.

Materiał i metody. U pacjentów w wieku 12-17 lat oceniono: stan higieny jamy ustnej (%API; OHI), dziąseł (GI) i uzębienia (ICDAS II) oraz wykonano badania testami Saliva Check Buffer® (GC) i CRT Bacteria® (Ivoclar Vivadent) oraz analizatorem Spotchem® (Arkray). Uzyskano zgodę komisji bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz pisemne zgody rodziców lub opiekunów prawnych pacjentów.

Wyniki. Zbadano 25 pacjentów (średnia wieku 13,7 ± 2,2 roku). Średnie wartości wskaźników wynosiły: OHI-S – 0,93 ± 0,43; API% – 72 ± 0,26; GI – 0,83 ± 0,61; PUWZ – 6,44 ± 4,12. Aktywne plamy próchnicowe występowały u 13 pacjentów (średnio 2,2 ± 2,92 plamy). Analiza Spearmana wykazała istotne związki pH w teście Saliva Check Buffer® i zdolności buforowej śliny ($r = 0,608$), jej kwasowości ($r = -0,713$) w badaniu Spotchem® oraz ujemną korelację buforowości i pH śliny w teście Spotchem® ($r = -0,845$). Wysoka liczebność bakterii *Streptococcus mutans* ($> 10^5$ CFU/ml) oceniana testem CRT Bacteria® istotnie korelowała z wysokim poziomem aktywności metabolicznej bakterii w badaniu analizatorem Spotchem® ($r = 0,54$). Potwierdzono istotne korelacje następujących parametrów: OHI i wysoka ($r = 0,46$) oraz średnia ($r = -0,54$) aktywność metaboliczna *S. mutans*; GI i poziom białka w ślinie ($r = 0,42$); obecność ubytków próchnicowych i poziom białek ($r = 0,40$), erytrocytów w ślinie ($r = 0,47$) (Spotchem®) oraz liczebność *S. mutans* i *Lactobacillus* spp. (CRT Bacteria®) (r odpowiednio 0,47 i 0,42).

Wnioski. Wyniki badania śliny analizatorem Spotchem® są skorelowane z uzyskiwanymi w znanych testach ślinowych oraz z parametrami zdrowia jamy ustnej. Jego przydatność kliniczna powinna być potwierdzona dalszymi badaniami.

WSTĘP

Współczesne postępowanie stomatologiczne zakłada ocenę i monitorowanie ryzyka chorób jamy ustnej, zwłaszcza choroby próchnicowej i chorób tkanek przyzębia (1, 2). Ocena ryzyka tych chorób wymaga określenia stanu równowagi między czynnikami chorobotwórczymi a obronnymi organizmu, w tym właściwości

fizykochemicznych śliny i obciążenia mikrobiologicznego jamy ustnej (3-6).

Od dawna stosowane są testy komercyjne o udowodnionej przydatności klinicznej, np. zestaw Saliva Check Buffer® (GC), CRT Bacteria® (Ivoclar Vivadent), Dentocult SM czy Dentobuff (Orion Diagnostica). Zestaw Saliva Buffer Check® umożliwia ocenę pH śliny oraz jej zdolności buforowe.

Test CRT Bacteria® określa miano bakterii z grupy *Streptococcus mutans* oraz *Lactobacillus* spp. po uprzedniej aplikacji śliny stymulowanej na podłożu SM oraz LAB-AGAR oraz inkubacji w temperaturze 37°C przez okres 48 godz. Do wysokiego ryzyka choroby próchnicowej zalicza się pacjentów z mianem bakterii > 10⁵ CFU/ml (5, 7, 8).

Nowym testem wprowadzonym na rynek jest analizator Spotchem® firmy Arkray, który umożliwia ocenę miana bakterii *S. mutans*, kwasowości, zdolności buforowych śliny, zawartości białek, krwi, leukocytów i amoniaku w ślinie. Skala dla każdego testu waha się w granicach 0-100 jednostek. Analizator mierzy wartości w następujących zakresach: poziom bakterii *S. mutans* 10⁶-10⁸ CFU/mL; kwasowość pH 6,0-8,0; pojemność buforowa śliny pH 2,8-6,0; stężenie krwi w ślinie 0-0,50 mg/dL; stężenie leukocytów w ślinie 0-200 U/L; stężenie białka w ślinie 0-6 mg/dL; stężenie amoniaku w ślinie 0-10 000 N-μg/dL. Średnie wartości przedstawiają się następująco: poziom bakterii *S. mutans* 28-47 jednostek; kwasowość 35-52 jednostek; pojemność buforowa śliny 28-47 jednostek; stężenie krwi w ślinie 14-29 jednostek; stężenie leukocytów w ślinie 37-60 jednostek; stężenie białka w ślinie 36-53 jednostek; stężenie amoniaku w ślinie 43-83 jednostek.

Dotychczas nie opublikowano żadnych badań z wykorzystaniem tego urządzenia.

CEL PRACY

Celem pracy było określenie zgodności wyników badań śliny uzyskiwanych analizatorem Spotchem® oraz testami Saliva Check Buffer® i CRT Bacteria®, a także ocena korelacji uzyskanych wyników ze stanem higieny jamy ustnej, dziąseł i uzębienia w diagnostyce ryzyka chorób jamy ustnej u dzieci.

MATERIAŁ I METODY

Do badań kwalifikowano ogólnie zdrowych pacjentów z uzębieniem stałym, w wieku 12-17 lat, zgłaszających się na wizyty w Zakładzie Stomatologii Dziecięcej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Kryteriami kwalifikującymi była pisemna zgoda na udział w badaniu i współpraca pacjenta. Z badań wykluczano osoby użytkujące aparaty ortodontyczne, z chorobami przewlekłymi w wywiadzie oraz stosujące leki wpływające na właściwości śliny. Badania zaplanowano jako pilotażowe, na które otrzymano zgodę Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, nr KB/6/2017 oraz uzyskano pisemne zgody rodziców lub opiekunów prawnych pacjentów. Obejmowały badania kliniczne oraz ocenę właściwości śliny z zastosowaniem testów komercyjnych. W badaniu klinicznym, w warunkach gabinetu stomatologicznego oceniano stan higieny jamy ustnej (aproksymalny wskaźnik płytki %API wg Lange i wsp., uproszczony wskaźnik higieny jamy ustnej OHI-S) (9, 10), dziąseł (wskaźnik GI wg Silness i Löe) (11, 12) uzębienia – obecność zmian próchnicowych (International Caries Detection and Assessment System II – ICDAS II) (13).

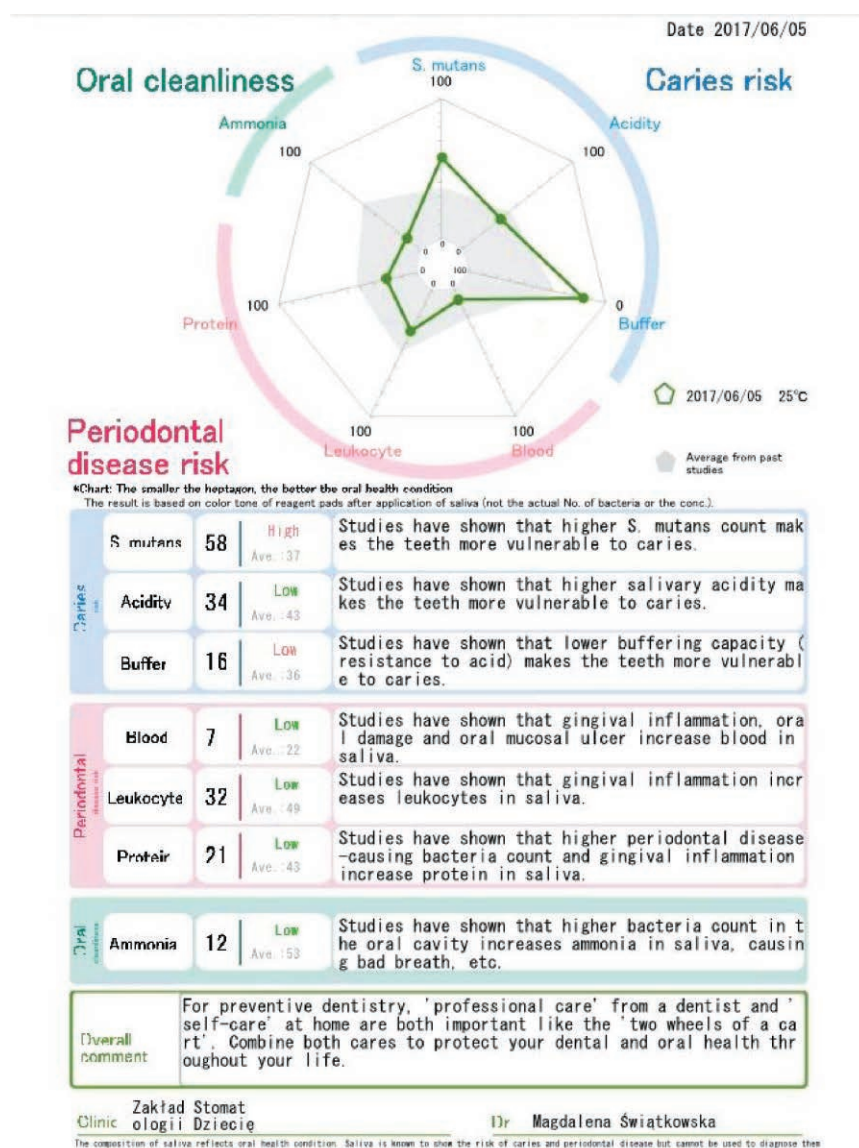
Dokonano analizy właściwości śliny z wykorzystaniem komercyjnych testów ślinowych Saliva Check Buffer® (GC) i CRT Bacteria® (Ivoclar Vivadent) zgodnie z zaleceniami producentów testów oraz analizatora Spotchem® (Arkray). W testach Saliva Check Buffer® (GC) i CRT Bacteria® (Ivoclar Vivadent) oceniano parametry uwzględnione w badaniu analizatora Spotchem®. Testy wykonywano około 30 minut przed badaniem analizatorem. Badania śliny – stymulowanej i niestymulowanej (wg zaleceń producenta dla danego testu) – przeprowadzono w godzinach przedpołudniowych, co najmniej 2 godziny od ostatniego posiłku i zabiegu oczyszczania zębów. Podczas testu z użyciem analizatora Spotchem® pacjent otrzymywał płukankę do 10-sekundowego płukania jamy ustnej, po czym całość płynu była odpływana do jednorazowego kubka. Popłuczyny nanoszono za pomocą pipety na pasek testowy, który umieszczany był w analizatorze podłączonym do komputera. Po upływie 260 sekund w programie komputerowym otrzymywano wynik dotyczący aktywności metabolicznej *S. mutans*, kwasowości, buforowości śliny, zawartości białek, krwi, leukocytów i amoniaku w ślinie (ryc. 1).

W teście Saliva Check Buffer® oceniano odczyn (pH) śliny spoczynkowej oraz zdolności buforowe śliny stymulowanej. Odczyn śliny spoczynkowej uznawano za prawidłowy przy wartościach pH w zakresie 6,8-7,8; umiarkowanie kwaśny w zakresie 6,0-6,6 oraz kwaśny w zakresie 5,0-5,8. Zdolność buforową śliny oceniano po uprzednim zebraniu śliny stymulowanej przez pacjenta, podczas pięciominutowego żucia parafiny. Buforowość oceniano, posługując się skalą punktową wskaźnika barwnego (kolor zielony – 4 punkty, zielononiebieski – 3 punkty, niebieski – 2 punkty, niebieskoczerwony – 1 punkt i czerwony – 0 punktów), jako wysoką (10-12 pkt), średnią (6-9 pkt) lub niską (0-5 pkt). W teście CRT Bacteria® oceniano miano *S. mutans* (wynik odczytywany po 48 godz. inkubacji w temp. 37°C). Oceny dokonywano na podstawie liczby kolonii bakteryjnych obecnych na agarze. Do wysokiego ryzyka choroby próchnicowej zalicza się pacjentów z mianem bakterii > 10⁵ CFU/ml.

Związki między badanymi zmiennymi oceniono na podstawie współczynnika korelacji rang Spearmana. Ponadto do oceny wybranych zależności wykorzystano analizę regresji prostej liniowej lub regresję logistyczną. Analizy wykonano w programie Statistica 8, do oceny istotności przyjęto poziom $p \leq 0,05$.

WYNIKI

Badaniami objęto 25 pacjentów pomiędzy 12. a 17. rokiem życia (średni wiek 13,7 ± 2,2 roku). Wyniki oceny stanu higieny jamy ustnej, dziąseł i uzębienia zestawiono w tabeli 1. Tabela 2 zawiera wyniki oceny śliny uzyskane z zastosowaniem testu Saliva Check Buffer® (GC) oraz analizatora Spotchem® (Arkray). Wysoką liczebność bakterii *S. mutans* w teście CRT Bacteria® (Ivoclar Vivadent) stwierdzono u 8 (32,0%) osób, *Lactobacillus* spp. u 17 (68,0%).



Ryc. 1. Przykładowy formularz wyników uzyskanych w analizatorze Spotchem®

Tab. 1. Wyniki badania klinicznego pacjentów biorących udział w badaniu

Parametry oceny klinicznej			Wartość
Stan higieny	OHI-S		0,93 ± 0,43
	API%	średnia ± SD	72 ± 0,26
Stan dziąseł	GI		0,83 ± 0,61
	GI > 0,1	n/%	21/84,0
	aktywne plamy próchnicowe	n/%	13/52,0
Stan uzębienia		średnia liczba ± SD	2,2 ± 2,92
	PUWZ > 0		23/92,0
	PZ > 0	n/%	14/56,0
	PUWZ	średnia ± SD	6,44 ± 4,12
	PUWP		9,0 ± 6,84

Tab. 2. Wyniki badań śliny uzyskane z zastosowaniem testu Saliva Check Buffer® i analizatorem Spotchem®

Cecha śliny	n/% pacjentów	Saliva Check Buffer®	Spotchem®
Odczyn śliny	kwaśny	1/4,0	6/24,0
	umiarkowanie kwaśny	10/40,0	5/20,0
	prawidłowy	14/56,0	14/56,0
	średnia wartość w skali testu ± SD	6,87 ± 0,59	51,08 ± 20,29
Zdolności buforowe	niskie	4/16,0	16/64,0
	średnie	18/72,0	5/20,0
	wysokie	3/12,0	4/16,0
	średnia wartość w skali testu ± SD	7,12 ± 1,96	25,36 ± 22,34
Aktywność metaboliczna <i>S. mutans</i>	niska	parametry nie są oceniane w teście	10/40,0
	średnia	parametry nie są oceniane w teście	12/48,0
	wysoka	parametry nie są oceniane w teście	3/12,0
	średnia wartość w skali testu ± SD	parametry nie są oceniane w teście	24,88 ± 20,79
Poziom amoniaku	niski	parametry nie są oceniane w teście	19/76,9
	średni	parametry nie są oceniane w teście	3/12,0
	normalny	parametry nie są oceniane w teście	3/12,0
	średnia wartość w skali testu ± SD	parametry nie są oceniane w teście	25,84 ± 28,42
Poziom erytrocytów	niski	parametry nie są oceniane w teście	7/28,0
	średni	parametry nie są oceniane w teście	4/16,0
	normalny	parametry nie są oceniane w teście	14/56,0
	średnia wartość w skali testu ± SD	parametry nie są oceniane w teście	37,56 ± 29,46
Poziom leukocytów	niski	parametry nie są oceniane w teście	14/56,0
	średni	parametry nie są oceniane w teście	6/24,0
	normalny	parametry nie są oceniane w teście	5/20,0
	średnia wartość w skali testu ± SD	parametry nie są oceniane w teście	35,08 ± 24,20
Poziom białka	niski	parametry nie są oceniane w teście	19/76,0
	średni	parametry nie są oceniane w teście	5/20,0
	normalny	parametry nie są oceniane w teście	1/4,0
	średnia wartość w skali testu ± SD	parametry nie są oceniane w teście	27,28 ± 12,89

Analiza Spearmana wykazała istotne statystycznie korelacje między pH ocenianym w teście Saliva Check Buffer® (GC) a zdolnością buforową śliny ($r = 0,608$) i jej kwasowością ($r = -0,713$) w badaniu analizatorem Spotchem® (Arkray). W badaniu Spotchem® buforowość śliny korelowała ujemnie z jej pH ($r = -0,845$). Współczynnik korelacji między wynikami oceny zdolności buforowania kwasów dla obu testów przyjął wartość dodatnią, jednak nie był istotny

statystycznie. Wysoka liczebność kolonii bakterii *S. mutans* ($> 10^5$ CFU/ml) oceniana testem CRT Bacteria® była istotnie statystycznie skorelowana z wysokim poziomem aktywności metabolicznej bakterii w badaniu analizatorem Spotchem® (Arkray) ($r = 0,54$). Oba wyniki wskazują na duże obciążenie jamy ustnej bakteriami *S. mutans* i korelowały dodatkowo ze stężeniem amoniaku w ślinie (odpowiednio $r = 0,41$ dla testu CRT Bacteria®, $r = 0,45$ dla badania

analizatorem). Odnotowano także istotne statystyczne korelacje między liczbą erytrocytów w ślinie a liczbą leukocytów ($r = 0,57$) oraz stężeniem białka w ślinie ($r = 0,43$).

Korelacje wyników badań śliny z parametrami klinicznymi stanu jamy ustnej przedstawia tabela 3. Średnia wartość GI u osób z wysokim lub średnim poziomem białka w ślinie wyniosła $1,08 \pm 0,44$, z niskim – $0,75 \pm 0,64$. PUWZ osób z wysokim poziomem bakterii *S. mutans* w teście CRT Bacteria® przyjęło średnią wartość $8,89 \pm 3,98$, z niskim – $5,06 \pm 3,62$. Wyniki oceny pH i zdolności buforowania kwasów nie były istotnie statystycznie skorelowane z ocenianymi parametrami klinicznymi. Nie odnotowano żadnych istotnych korelacji między wynikami badań śliny a obecnością i liczbą aktywnych plam próchnicowych. W porównaniu do osób z obecnością i bez aktywnych plam próchnicowych w teście Saliva Check Buffer® częściej jednak odnotowywano niższe pH śliny spoczynkowej i mniejsze zdolności buforowe śliny stymulowanej (ryc. 2). Różnice te nie były jednak istotne statystycznie. Zauważono także wyższe wartości GI u osób z odczynem kwaśnym śliny w porównaniu z odczynem prawidłowym i/lub umiarkowanie kwaśnym ($0,74 \pm 0,51$ vs. $0,95 \pm 0,73$). Różnica ta nie jest jednak istotna statystycznie.

W teście Spotchem® u osób z aktywnymi plamami próchnicowymi wyższe były kwasowość śliny, poziom leukocytów, białek i amoniaku, aktywność metaboliczna bakterii *S. mutans*, a niższe zdolności buforowe (ryc. 3). W teście CRT Bacteria® częściej odnotowywano wysoką liczebność bakterii *S. mutans* i *Lactobacillus* spp. (ryc. 4). Zaobserwowane różnice nie były jednak istotne statystycznie.

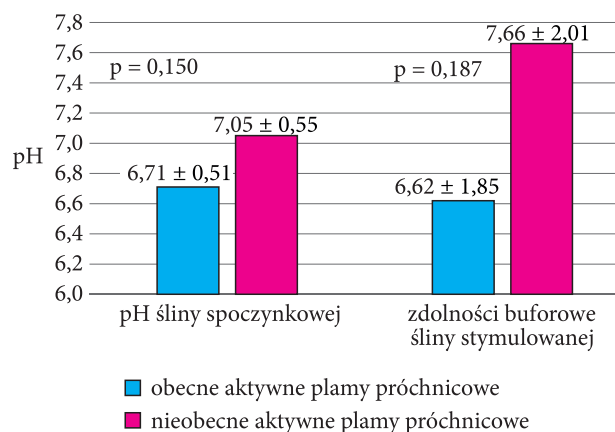
Zauważono także istotne statystycznie korelacje między obecnością zapalenia dziąseł a OHI-S ($r = 0,61$) i API% ($r = 0,52$) oraz między wartością wskaźnika GI

a wskaźnikami opisującymi stan higieny (r odpowiednio 0,57 i 0,48). Nie odnotowano korelacji statystycznie istotnych między stanem dziąseł i higieny jamy ustnej a obecnością próchnicy ubytkowej oraz wartościami PUWZ i PUWP.

DYSKUSJA

Zależność między właściwościami śliny ocenianymi testami komercyjnymi a chorobą próchnicową jest dobrze udokumentowana w literaturze (5, 14-16). Niewystarczająca jest jednak wiedza o przydatności wykorzystania analizatora Spotchem®.

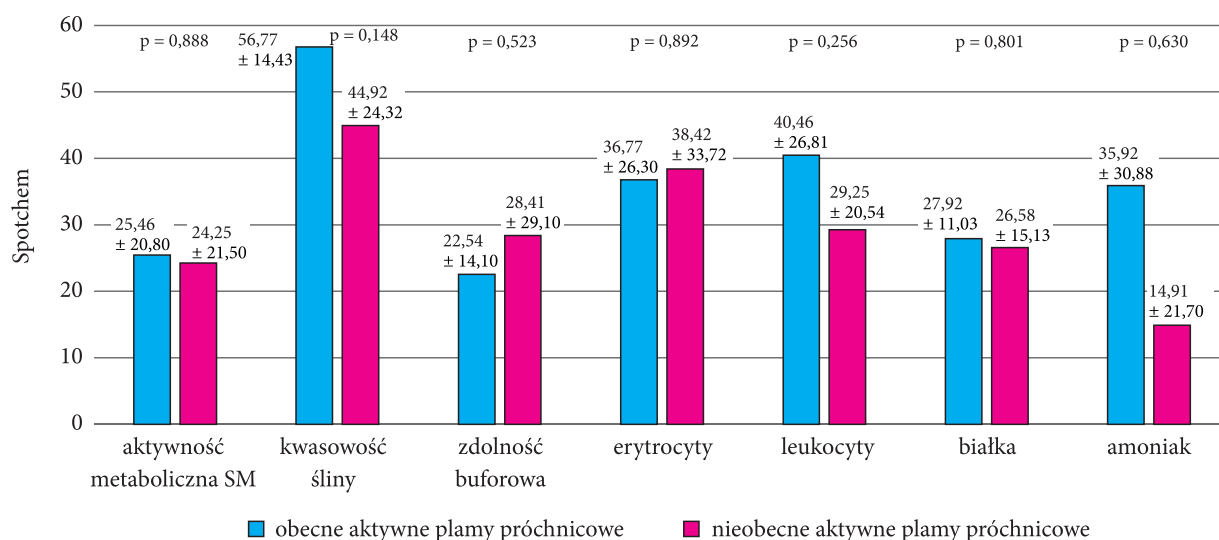
Prezentowane przez autorów badanie potwierdziło istnienie umiarkowanie silnej korelacji między wynikami oceny parametrów fizykochemicznych śliny przeprowadzonej testem Saliva Check Buffer® i analizatorem Spotchem® oraz



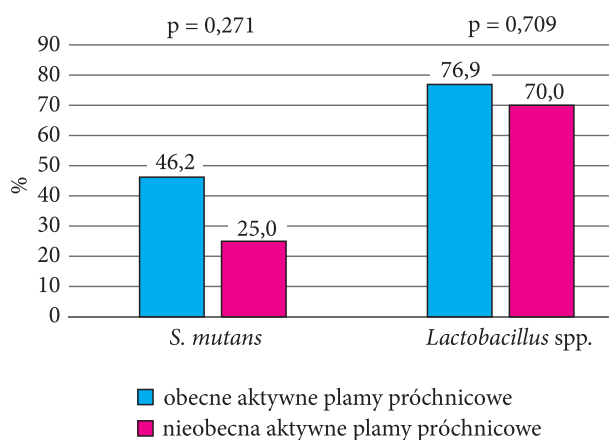
Ryc. 2. Właściwości śliny w ocenie testem Saliva Check Buffer® u osób z obecnością i bez aktywnych plam próchnicowych

Tab. 3. Istotne statystycznie zależności między parametrami zdrowia jamy ustnej a wynikami badań śliny na podstawie analizy korelacji rang Spearmana

Wskaźnik stanu zdrowia jamy ustnej	Parametr śliny	Rodzaj testu	Współczynnik korelacji Spearmana
OHI-S	wysoka aktywność metaboliczna bakterii	analizator Spotchem®	0,46
OHI-S	średnia aktywność metaboliczna bakterii	analizator Spotchem®	-0,54
API%	średnia aktywność metaboliczna bakterii	analizator Spotchem®	-0,43
GI > 0	średnia aktywność metaboliczna bakterii	analizator Spotchem®	-0,45
GI	poziom białka	analizator Spotchem®	0,42
Obecność ubytków próchnicowych (PZ > 0)	liczebność kolonii bakterii <i>S. mutans</i> > 10 ⁵ CFU/ml	CRT Bacteria®	0,47
	liczebność kolonii bakterii <i>Lactobacillus</i> spp. > 10 ⁵ CFU/ml	CRT Bacteria®	0,42
	poziom białka	analizator Spotchem®	0,40
	poziom erytrocytów	analizator Spotchem®	0,47
PUWZ	liczebność kolonii bakterii <i>S. mutans</i> > 10 ⁵ CFU/ml	CRT Bacteria®	0,44



Ryc. 3. Właściwości śliny w ocenie analizatorem Spotchem® u osób z obecnością i bez aktywnych plam próchnicowych



Ryc. 4. Częstość występowania liczebności kolonii bakterii *S. mutans* i *Lactobacillus spp.* > 10⁵ CFU/ml w teście CRT Bacteria® u osób z obecnością i bez aktywnych plam próchnicowych

niedużą korelację wyników oceny obciążenia mikrobiologicznego jamy ustnej wykonaną testem CRT Bacteria® i analizatorem. Badaniami objęto niewielką grupę pacjentów, co utrudnia dokonanie statystycznej oceny zgodności wyników oceny śliny uzyskiwanych różnymi metodami. Dodatkowym utrudnieniem są różnice skali i kategorii oceny zastosowanych w poszczególnych testach. Podobnie trudne jest porównanie wyników dotyczących obciążenia mikrobiologicznego jamy ustnej. Analizator Spotchem® ocenia aktywność metaboliczną SM, wyodrębniając aktywność niską, średnią i wysoką, natomiast test CRT Bacteria® ocenia w sposób ilościowy liczebność kolonii bakterii *S. mutans* i *Lactobacillus spp.* Liczebność ta jest następnie subiektywnie oceniana przez badacza w dwóch kategoriach – powyżej oraz poniżej 10⁵ CFU/ml.

Analiza związków między ocenianymi parametrami fizykochemicznymi śliny a parametrami oceny klinicznej zdrowia jamy ustnej nie wykazała istotnych statystycznie korelacji. Zauważono jednak wyższe wartości pH śliny u osób bez aktywnych plam próchnicowych w każdym z wykonanych testów oraz wyższe wartości wskaźnika GI u osób z niską kwasowością śliny w teście Saliva Check Buffer®. Do podobnych wniosków doszli inni badacze. Animiredy i wsp. (14) nie zaobserwowali statystycznie istotnych różnic w wartości pH śliny według testu Buffer Saliva Check Kit® w dwóch grupach pacjentów pediatrycznych – z niewielką intensywnością próchnicy oraz próchnicą butelkową. Zauważono jednak istotnie wyższe wartości pH śliny u pacjentów z wartością wskaźnika puwz = 0 niż u pacjentów z obecnymi ubytkami próchnicowymi. Podobne wyniki uzyskali inni badacze (15-19). Oceniając kwasowość śliny pH-metrem, zaobserwowali istotnie wyższe wartości pH u pacjentów wolnych od próchnicy w porównaniu z pacjentami z ECC (ang. *early childhood caries*). Prabhakar i wsp. (20) oraz Preethi i wsp. (21) korzystając z tej samej metody, zaobserwowali jedynie niewielką różnicę w wartości pH śliny pomiędzy grupami. Autorzy tłumaczą różnicę wskaźnika aktywności próchnicy u grup badanych obecnością innych czynników ryzyka choroby próchnicowej, które dominowały inicjację procesu. W badaniach Piróg i wsp. (22) oceniających wpływ parametrów fizykochemicznych śliny na stan uzębienia, dziąseł i błony śluzowej jamy ustnej u dzieci, nie stwierdzono istotnej zależności między pH śliny a próchnicą zębów stałych. Odnotowano natomiast ujemną, statystycznie istotną zależność między pH śliny spoczynkowej a występowaniem zapalenia dziąseł ($r = -0,529$), co potwierdza zaobserwowaną przez autorów zależność oraz wpływ zdolności buforowych śliny na intensywność próchnicy zębów stałych (22). Zwiększenie zdolności buforowej o jedną jednostkę powodowało średnio zmniejszenie PUWz/

puwz o około 1,26 oraz zmniejszenie PUWp/puwp o 1,43. W prezentowanym przez autorów badaniu nie zauważono takich korelacji. Odnotowano jednak niższe zdolności buforowe śliny w obu ocenianych testach (Saliva Check Buffer®, Spotchem®) u pacjentów, u których obecne były aktywne plamy próchnicowe. Zbliżone wyniki, również bez istotności statystycznej, odnotowali Prabhakar i wsp. (20), Preethi i wsp. (21) oraz Malekipour i wsp. (23). Z kolei w badaniu Singh i wsp. (16) uzyskano istotnie statystycznie wyższą średnią zdolność buforową śliny u pacjentów bez aktywnych ognisk próchnicy w porównaniu do pacjentów z ubytkami próchnicowymi (10,92 vs. 7,46). Animireddy i wsp. (14) zauważyli istotnie wyższą pojemność buforową śliny u dzieci z wartością wskaźnika PUWp/puwp = 0 w porównaniu do PUWp/puwp ≤ 0. Także w badaniach Sakeenabi i Hiremath (24) niższej buforowości śliny towarzyszyły wyższe wartości wskaźników puwp, puwz, PUWp oraz PUWz. Badania Piróg i wsp. (22) również wykazały statystycznie istotny wpływ niższych właściwości buforujących śliny na wzrost wskaźnika PUWz/puwp oraz PUWp/puwp (20). W nieco inny sposób oceniana była buforowość śliny w badaniu przeprowadzonym przez Zabokova-Bilibilova i wsp. (6). Wyższe stężenie wodorowęglanów ślinowych uzyskiwano u pacjentów wolnych od próchnicy zębów.

Ważnym elementem oceny ryzyka próchnicy zębów jest określenie poziomu bakterii kariogennych. W badaniu Saakenabi i Hiremath (24) u 98,47% badanych pacjentów wykryto obecność *S. mutans*, z czego 29,59% posiadało miano CFU > 10⁵, podczas gdy u 87,24% występowało *Lactobacillus* spp. (37,75% z CFU > 10⁵). Zaobserwowano statystycznie istotną zależność między mianem tych bakterii oraz wartością wskaźników PUWZ/PUWP i puwz/puwp. Zgodnie z naszymi obserwacjami obecność ubytków próchnicowych była skorelowana z wysokim poziomem *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* spp. w teście CRT Bacteria®. Warto podkreślić także odnotowaną wyższą liczebność kolonii *S. mutans* w CRT Bacteria® i aktywność metaboliczną tych bakterii w analizatorze Spotchem® u pacjentów z obecnymi aktywnymi plamami próchnicowymi (różnice nieistotne statystycznie). Gamboa i wsp. (25) wykazali, że posiew na agarze MSB u jedynie 62% pacjentów wykrył obecność *S. mutans*, jednak nie zaobserwowano zależności z aktywnością próchnicy. Podobną liczebność bakterii z rodzaju *Streptococcus* u pacjentów wolnych od próchnicy oraz z aktywną próchnicą zaobserwowano w badaniach Xu i wsp. (26), Tao i wsp. (27) oraz Jiang i wsp. (28). Autorzy tłumaczą ten fakt obecnością wielu gatunków bakterii z tego rodzaju, które mogą odgrywać różne role w inicjacji procesu próchnicowego. Badanie Gilbert i wsp. (7) na pacjentach z ciężką postacią próchnicy wczesnego dzieciństwa wykazało, że zarówno w ubytkach, jak i plamach próchnicowych występowały jedynie pojedyncze kolonie bakterii z grupy *S. mutans*. Autorzy jednak wskazują na zróżnicowaną wirulentność bakterii, co może powodować szybkie tworzenie się ubytków próchnicowych. Niemniej

jednak Hallet i O'Rourke (29) w swoich badaniach nie zaobserwowali związku pomiędzy przyrostem ubytków próchnicowych a obecnością kolonii *S. mutans*. Autorzy zaznaczają, że istotny związek w tym procesie odgrywały obecne już ubytki próchnicowe, spadek przepływu śliny oraz obecność elementów ortodontycznych.

Zgodnie z przeprowadzoną przez autorów analizą, aktywność metaboliczna bakterii *S. mutans* oceniona w analizatorze Spotchem® była skorelowana ze wskaźnikami higieny jamy ustnej oraz występowaniem zapaleń dziąseł. Analizator Spotchem® umożliwia także ocenę stężenia leukocytów, białek, krwi oraz amoniaku w ślinie. Zwiększone stężenie białek oraz obecność leukocytów i erytrocytów w ślinie mają świadczyć o istniejącym stanie zapalnym w jamie ustnej. Uważa się, że obecność zapalenia dziąseł może wskazywać na zwiększone ryzyko choroby próchnicowej (30). Mimo niewielkiej grupy badanej odnotowano korelację między poziomem białka a wartością GI. Zauważono także związek obecności aktywnych ognisk próchnicy ze stężeniem białek i obecnością erytrocytów w ślinie. Potwierdza to, że zapalenie dziąseł jest jednym ze wskaźników ryzyka próchnicy. Warto także zauważyć, że krwawienie dziąseł objętych stanem zapalnym inicjuje proces miejscowego gromadzenia się białek ślinowych (immunoglobulin, albumin, glikoprotein), które działają jako pierwsza linia obrony przeciw patogenom jamy ustnej, co tłumaczy związek z wysokim poziomem białka (31). Badanie przeprowadzone przez Roa i wsp. (32) z wykorzystaniem metody Bradforda nie wykazało jednak zależności stężenia białek ślinowych z wartością PUWZ. Badanie z wykorzystaniem elektroforezy białkowej wykazało natomiast znaczną różnicę stężeń białek pomiędzy grupami pacjentów z aktywną próchnicą oraz bez ubytków próchnicowych (33).

Istnieją także badania oceniające związek stężenia amoniaku w ślinie (na podstawie stężenia ureazy) z aktywnością próchnicy zębów. Shu i wsp. (34) zaobserwowali istotnie wyższe stężenie ureazy – enzymu rozkładającego mocznik do amoniaku – u pacjentów wolnych od próchnicy w porównaniu z pacjentami ze stwierdzoną aktywną próchnicą (< 0,0001). Istnieje 10-17-krotnie większe prawdopodobieństwo występowania próchnicy u pacjentów z poziomem stężenia ureazy poniżej wartości progowej (< 0,9-> 3,6 jednostek/mg białka) w porównaniu do pacjentów z poziomem ureazy powyżej tej wartości. Do podobnych wniosków doszli Nascimento i wsp. (35), którzy zaobserwowali odwrotną korelację aktywności ureazy z aktywnością próchnicy (p < 0,0001). Z kolei badania przeprowadzone przez Morou-Bermudez i wsp. (36) ukazują wyższy stopień aktywności ureazy ślinowej u pacjentów z aktywną próchnicą (średnia PUWP > 2) oraz wysokim poziomem *S. mutans* (średnio ≥ 10⁴ CFU/ml). Praca innych autorów nie wykazała żadnej istotnie statystycznej zależności pomiędzy poziomem ureazy ślinowej z aktywnością próchnicy i poziomem bakterii próchnicotwórczych (37). Przeprowadzone przez autorki badanie podobnie nie wykazało korelacji pomiędzy poziomem

amonianu w ślinie oraz aktywnością próchnicy, niemniej jednak zaobserwowano związek pomiędzy stężeniem amoniaku oraz wysoką liczebnością bakterii *S. mutans*.

Kolejnym parametrem ślinowym ocenianym przez analizator Spotchem® jest obecność erytrocytów w ślinie. Analiza statystyczna wykazała istotny związek ich poziomu ze stężeniem leukocytów i białek ślinowych oraz próchnicą. Nie znaleziono jednak innych aktualnych badań analizujących tę zależność z wykorzystaniem innej metody.

WNIOSKI

Uzyskane wyniki nie upoważniają do wyciągnięcia ostatecznych wniosków. Istniejące korelacje wyników badania śliny analizatorem Spotchem® z uzyskiwanymi w znanych testach ślinowych oraz z parametrami zdrowia jamy ustnej wskazują na przydatność tego urządzenia w ocenie ryzyka próchnicy zębów i zapaleń dziąseł u młodzieży. Wymaga to jednak potwierdzenia dalszymi badaniami.

KONFLIKT INTERESÓW

Brak konfliktu interesów

ADRES DO KORESPONDENCJI

*Paula Piekoszewska-Ziętek
Zakład Stomatologii Dziecięcej
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Miodowa 18, 00-246 Warszawa
tel. +48 (22) 502-20-31
pedodoncja@wum.edu.pl

PIŚMIENNICTWO

1. Turska-Szybka A, Grudziąż-Sękowska J, Olczak-Kowalczyk D: Czynniki ryzyka próchnicy wczesnego dzieciństwa i indywidualna ocena poziomu ryzyka na podstawie CAMBRA. *Nowa Stomatol* 2011; 3: 119-127.
2. American Academy of Pediatric Dentistry: Guideline on caries-risk assessment and management for infants, children, and adolescents. *Pediatr Dent* 2013; 35(5): 157-164.
3. Ferreira-Nóbilo NP, Tabchoury CP, Sousa Mda L, Cury JA: Knowledge of dental caries and salivary factors related to the disease: influence of the teaching-learning process. *Braz Oral Res* 2015; 29(1): 1-7.
4. Leone CW, Oppenheim FG: Physical and chemical aspects of saliva as indicators of risk for dental caries in humans. *J Dent Educ* 2001; 65(10): 1054-1062.
5. Wongkamhaeng K, Poachanukoon O, Koontongkaew S: Dental caries, cariogenic microorganisms and salivary properties of allergic rhinitis children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2014; 78(5): 860-865.
6. Zabokova-Bilbilova E, Sotirovska-Ivkovska A, Georgiev Z, Stefanovska E: Evaluation of buffer capacity of saliva in caries-free and caries-active children. *Pril (Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki)* 2013; 34(2): 151-157.
7. Gilbert K, Joseph R, Vo A et al.: Children with severe early childhood caries: streptococci genetic strains within carious and white spot lesions. *J Oral Microbiol* 2014; 6(1): 1-11.
8. Twetman S, Fritzon B, Jensen B et al.: Pre- and post-treatment levels of salivary mutans streptococci and lactobacilli in pre-school children. *Int J Paediatr Dent* 1999; 9(2): 93-98.
9. Lange DE, Plagmann HC, Eenboom A, Promsberger A: Klinische Bewertungsverfahren zur Objektivierung der Mundhygiene. *Dtsch. Zahnärztl Z* 1977; 32: 44-47.
10. Greene JC, Vermillion JR: The simplified oral hygiene index. *JADA* 1964; 68(1): 7-13.
11. Silness J, Loe H: Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 121-135.
12. Loe H: The gingival index, the plaque index and the retention index systems. *J Periodontol* 1967; 38 (suppl.): 610.
13. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) Coordinating Committee (2005) Criteria Manual: International Caries Detection and Assessment System (ICDAS II). www.icdas.org (data dostępu: 15.11.2008).
14. Animireddy D, Reddy Bekkem VT, Vallala P et al.: Evaluation of pH, buffering capacity, viscosity and flow rate levels of saliva in caries-free, minimal caries and nursing caries children: An *in vivo* study. *Contemp Clin Dent* 2014; 5(3): 324-328.
15. Kaur A, Kwatra KS, Kamboj P: Evaluation of non-microbial salivary caries activity parameters and salivary biochemical indicators in predicting dental caries. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2012; 30(3): 212-217.
16. Singh S, Sharma A, Sood PB et al.: Saliva as a prediction tool for dental caries: an *in vivo* study. *J Oral Biol Craniofac Res* 2015; 5(2): 59-64.
17. Kuriakose S, Sundaresan C, Mathai V et al.: A comparative study of salivary buffering capacity, flow rate, resting pH, and salivary Immunoglobulin A in children with rampant caries and caries-resistant children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2013; 31(2): 69-73.

18. Makawi Y, El-Masry E, El-Din HM: Salivary carbonic anhydrase, pH and phosphate buffer concentrations as potential biomarkers of caries risk in children. *J Unexplored Med Data* 2017; 2: 9-15.
19. Bagherian A, Asadikaram G: Comparison of some salivary characteristics between children with and without early childhood caries. *Indian J Dent Res* 2012; 23(5): 628-632.
20. Prabhakar AS, Reshma D, Raju OS: Evaluation of flow rate, pH, buffering capacity, calcium, total protein and total antioxidant levels of saliva in caries free and caries active children – an *in vivo* study. *Int J Clin Pediatr Dent* 2009; 2(1): 9-12.
21. Preethi BP, Reshma D, Anand P: Evaluation of flow rate, pH, buffering capacity, calcium, total proteins and total antioxidant capacity levels of saliva in caries free and caries active children: an *in vivo* study. *IJCB* 2010; 25(4): 425-428.
22. Piróg A, Kalińska A, Gozdrowski D, Olczak-Kowalczyk D: Wpływ parametrów fizykochemicznych śliny na stan uzębienia, dziąseł i błony śluzowej jamy ustnej u dzieci zdrowych. *J Stomatol* 2013; 66(2): 154-169.
23. Malekipour MR, Messripour M, Shirani F: Buffering capacity of saliva in patients with active dental caries. *Asian J Biochem* 2008; 3: 280-283.
24. Sakeenabi B, Hiremath SS: Dental caries experience and salivary *Streptococcus mutans*, lactobacilli scores, salivary flow rate, and salivary buffering capacity among 6-year-old Indian school children. *J Int Soc Prev Community Dent* 2011; 1(2): 45-51.
25. Gamboa F, Estupifian M, Galindo A: Presence of *Streptococcus mutans* in saliva and its relationship with dental caries: Antimicrobial susceptibility of the isolates. *Universitas Scientiarum* 2004; 9: 23-27.
26. Xu H, Hao W, Zhou Q et al.: Plaque bacterial microbiome diversity in children younger than 30 months with or without caries prior to eruption of second primary molars. *PLoS One* 2014; 9(2): e89269.
27. Tao Y, Zhou Y, Ouyang Y, Lin H: Dynamics of oral microbial community profiling during severe early childhood caries development monitored by PCR-DGGE. *Arch Oral Biol* 2013; 58(9): 1129-1138.
28. Jiang S, Jin L, Lo ECM: Salivary microbiome diversity in caries-free and caries-affected children. *Int J Mol Sci* 2016; 17(12): 1978.
29. Hallett K, O'Rourke P: Baseline dental plaque activity, mutans streptococci culture, and future caries experience in children. *Pediatr Dent* 2013; 35(7): 523-528.
30. Bendoraitienė E, Zūbienė J, Vasiliauskienė I et al.: Periodontal status in 18-year-old Lithuanian adolescents: an epidemiological study. *Medicina* 2017; 53(4): 253-258.
31. Fábíán TK, Hermann P, Beck A et al.: Salivary Defense Proteins: Their network and role in innate and acquired oral immunity. *Int J Mol Sci* 2012; 13(4): 4295-4320.
32. Roa NS, Chaves M, Gómez M, Jaramillo LM: Association of salivary proteins with dental caries in a Colombian population. *Acta Odontol Latinoam* 2008; 21(1): 69-75.
33. Bhalla S, Tandon S, Satyamoorthy K: Salivary proteins and early childhood caries: A gel electrophoretic analysis. *Contemp Clin Dent* 2010; 1(1): 17-22.
34. Shu M, Morou-Bermudez E, Suárez-Pérez E et al.: The relationship between dental caries status and dental plaque urease activity. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22(1): 61-66.
35. Nascimento MM, Gordan VV, Garvan CW et al.: Correlations of oral bacterial arginine and urea catabolism with caries experience. *Oral Microbiol Immunol* 2009; 24(2): 89-95.
36. Morou-Bermudez E, Elias-Boneta A, Billings RJ et al.: Urease activity in dental plaque and saliva of children during a three-year study period and its relationship with other caries risk factors. *Arch Oral Biol* 2011; 56(11): 1282-1289.
37. Toro E, Nascimento MM, Suarez-Perez E et al.: The effect of sucrose on plaque and saliva urease levels *in vivo*. *Arch Oral Biol* 2010; 55(3): 249-254.

nadesłano:

8.02.2018

zaakceptowano do druku:

28.02.2018