

## SYMPOSIUM 'MICROBIOLOGISCHE ASPECTEN VAN DE TANDPLAQUE'

## INLEIDING

Trefwoorden: Microbiologie - Tandplaque - Symposium

Op de 19e Federatieve Vergadering van medisch wetenschappelijke verenigingen, die werd gehouden van 29 tot en met 31 maart 1978 in Rotterdam, organiseerde de Nederlandse Vereniging voor Biologie van de Mond een microsymposium met als thema: 'Microbiologische aspecten van de tandplaque.'

De lezingen in dit microsymposium geven in de eerste plaats basiskennis over de tandplaque en daarnaast wordt aandacht

geschonken aan enkele vraagstellingen waarmee het onderzoek zich thans bezig houdt.

Gelet op de rol van de tandplaque bij cariës en ziektes van het tandvlees bestaat er voldoende aanleiding de tandplaque intensief te bestuderen.

Immunisatie tegen *Streptococcus mutans*, het gebruik van antibacteriële middelen, zoals chloorhexidine en van polysaccharide splitsende enzymen, zoals dex-

tranase en mutanase zijn voorbeelden van ontwikkelingen die rechtstreeks het gevolg zijn van onderzoek aan de tandplaque. Toegegeven moet worden dat geen van deze ontwikkelingen tot nu toe heeft geleid tot praktische toepassing op grote schaal.

Een geïntegreerde aanpak waarbij naast verstandige voeding en gebruik van fluoride ook verschillende methodes van plaquebestrijding zijn betrokken lijkt de beste strategie om mondziektes te voorkomen.

J. S. van der Hoeven,  
Instituut Preventieve en Sociale Tandheelkunde,  
Katholieke Universiteit te Nijmegen.

## DE TANDPLAQUE ALS MICROBIEEL ECOSYSTEEM

J. S. VAN DER HOEVEN

Uit het Instituut voor Preventieve en Sociale Tandheelkunde van de Katholieke Universiteit te Nijmegen.

De eerste beschrijving van de mondflora komen we tegen bij van Van Leeuwenhoek (1683), die 'levende diertjes' had waargenomen in het moeilijk te verwijderen witte materiaal wat hij aantrof tussen zijn tanden en kiezen. Van Leeuwenhoek's waarnemingen hebben in die dagen weinig bijgedragen tot een beter inzicht in het ontstaan van tandbederf. Tot diep in de 19e eeuw heeft men hierover de meest uiteenlopende voorstellingen gehad, waaronder heel primitieve, zoals die van de 'tandworm', maar ontwikkelde men ook gecompliceerde theorieën zoals de 'elektrische' theorie.

Eerst aan het eind van de 19e eeuw wordt de chemo-parasitaire theorie voor tandbederf geformuleerd. Het is vooral te danken aan het werk van Miller (1889) dat deze van Milles en Underwood (1881) afkomstige theorie algemeen ingang vond. Miller toonde aan dat de meeste mondbacteriën in staat waren om *zuur* te vormen uit koolhydraten. Millers experimenten stonden op hoog niveau, wat onder meer te danken was aan de goede contacten die hij onderhield met vooraanstaande bacteriologen uit die tijd, zoals Robert Koch. De chemo-parasitaire theorie legt het verband tussen het optreden van tandbederf en de aanwezigheid van bacteriën, die door de productie van zuren het tandglazuur aantasten. Het is opmerkelijk dat iemand als Miller onvoldoende heeft onderkend dat het niet om

de mondflora in het algemeen, maar specifiek om de bacteriën in de tandplaque gaat. Dit inzicht komen we het eerst tegen bij Black (1898) en Williams (1897). Black beschrijft de vorming van 'gelatinous microbic plaque' en Williams stelt dat het in de plaque geproduceerde zuur niet wordt weggespoeld door het speeksel en kan inwerken op het glazuur. Het uiteindelijke experimentele bewijs dat tandbederf wordt veroorzaakt door bacteriën wordt veel later door Orland en medewerkers, in 1955, geleverd. Orland toonde aan dat kiemvrije ratten van een cariësgevoelige soort, alleen na beënting met bacteriën cariës kregen.

*De mondflora*

Alle oppervlakken van het lichaam worden bevolkt door bacteriën: huid en haren, de mond, keel en neus, de epithelia van het spijsverteringskanaal en de urinewegen. Elke van deze plaatsen herbergt een min of meer specifieke microflora (Rosebury, 1962). In de mond zijn een aantal verschillende gebieden zoals de tong, de slijmvliezen van de wang en het tandvlees en de gebitselementen, die elk weer hun karakteristieke bacteriën hebben. De voortdurende vernieuwing van het slijmvliesepitheel verhindert een ophoping van grote bacteriemassa's zoals die op de tanden wel plaatsvindt. Tot de belangrijkste bacteriën in de mond (tabel I) behoren de *streptokokken* waarvan ver-

scheidene soorten aanwezig zijn en daarnaast de grampositieve staafvormige bacteriën met als voornaamste vertegenwoordigers de *actinomyceten* en verder *rothia*, *bacteriocema*, *leptotrichia*, *corynebacteriën* en *lactobacillen*. Daarnaast komen voor *gramnegatieve kokken* waaronder verschillende soorten *neisseria* en *veillonella*. Gramnegatieve staaf- en draadvormige bacteriën zijn vooral vertegenwoordigd door obligaat anaëroben: *bacteroides*, *fusobacteriën*, *vibrios* en *spirillen*.

Tabel I. De belangrijkste bacteriesoorten in menselijke tandplaque. Hier zijn de resultaten van verschillende onderzoekers samengevat. De percentages hebben betrekking op het totaal aan kweekbare bacteriën.

	% van totale flora
Streptokokken	17-38
Gram + staven en filamenten (vnl. Actinomyceten)	22-52
Gram - staven (vnl. Bacteroides)	8-17
Neisseria	0.4- 2
Veillonella	0.1-28
Fusobacteriën	0.4- 7

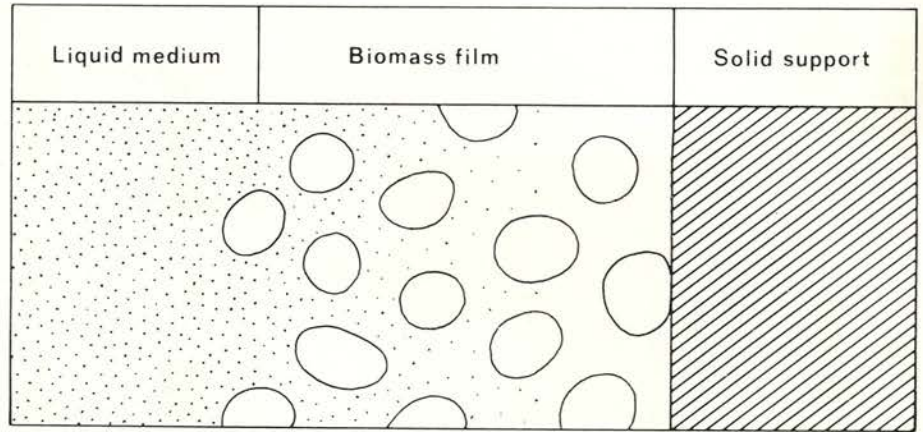
Het is gebleken dat de bacteriële samenstelling van de tandplaque op een bepaalde plaats van een gebitselement in de loop van de tijd weinig verandert. Dat wijst erop, dat de tandplaque, ondanks de grote toegankelijkheid van de mond, een stabiel microbieel ecosysteem is, waarin elke bacterie een eigen plaats heeft. Nieuwkomers kunnen hier niet gemakkelijk binnendringen en bacteriën, afkomstig uit het voedsel of van de huid, verblijven weliswaar tijdelijk in de mond,



maar kunnen zich daar niet vestigen. Welke factoren beheersen het ecosysteem van de tandplaque? Zulke factoren noemen we ecologische determinanten. Vanwege de ingewikkeldheid van het ecosysteem zijn hierover tot nu toe nog maar weinig exacte gegevens bekend.

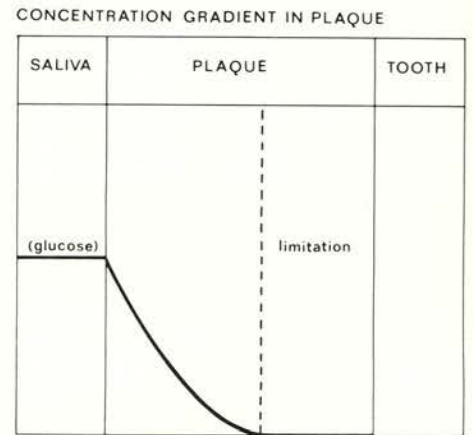
**Hechting van bacteriën**

De meeste vaste oppervlakken in de natuur die door water worden omspoeld zijn bedekt met een laag van bacteriën. De stenen in een beek en de bladeren van zeewier net zo goed als de gebitselementen. De groei aan een oppervlak biedt de bacterie zekere voordelen, omdat ook substraat (voedsel) aan het oppervlak wordt geconcentreerd door adsorptie van substraatmoleculen. Allerlei stoffen, waaronder substraten, zullen zich bovendien ophopen in kleine ruimtes tussen de aangehechte bacterie en het oppervlak. De stroomsnelheid van de vloeistof is daar gering terwijl de verwijdering van die stoffen door diffusie wordt vertraagd, omdat ontsnapping van moleculen wordt bemoeilijkt door de nauwe begrenzingen van die ruimtes. De hechting van bacteriën aan een oppervlak vindt meestal plaats door middel van polysaccharide vezels, die vanaf het bacterieoppervlak naar alle kanten kunnen uitwaaien en voor de noodzakelijke verbinding kunnen zorgen. Bacteriën die in het laboratorium worden gekweekt missen veelal deze polysaccharide vezels. Vandaar dat de algemeenheid van hechting via polysaccharide-vezels pas in de afgelopen jaren werd onderkend. Tal van plaquebacteriën zijn in staat om deze extracellulaire polysaccharides te produceren en zich door middel daarvan te hechten aan het tandoppervlak en aan andere bacteriën. In afbeelding 2 zijn de polysaccharidevezels tussen de bacteriën in tandplaque duidelijk te zien. De bacteriën hechten zich in eerste instantie aan de glazuurpellicle ('s-Gravenmade: De vorming en ontwikkeling van tandplaque; dit microsysteem). De pellicle bestaat uit speeksel-eiwitten, waaronder glycoproteïnes die affiniteit vertonen voor bepaalde bacteriën. Ook de membranen van de epithelia in de mond hebben een grotere affiniteit voor de ene bacteriesoort dan voor de andere. (De hechting van bacteriën aan oppervlakken berust waarschijnlijk in veel gevallen op een polysaccharide-eiwit-interactie en is vergelijkbaar met de interacties tussen antigeen en antilichaam en van enzym en substraat.) Als gevolg hiervan bestaat er een selectiviteit in de aanhechting van bacteriën aan de verschillende oppervlakken in de mond (tabel II). Nu blijkt er een overeenkomst te bestaan tussen de mate waarin een bacterie zich hecht en het voorkomen van die bacterie in de microflora op een opper-



Afb. 1a. Schematische voorstelling van de groei van bacteriën in een laag op een vast oppervlak. Moleculen van een voedingsstof in de omringende vloeistof diffunderen de laag binnen en worden opgenomen door de bacteriën.

Afb. 1b. Het verloop van de concentratie van (bijvoorbeeld) glucose in de tandplaque. In diepere lagen van de tandplaque is de concentratie zeer laag omdat alle glucose die door diffusie wordt aangevoerd direct wordt geconsumeerd. De bacteriën in deze laag zijn 'beperkt' wat betreft glucose.



Tabel II. Het verband tussen selectieve hechting van bacteriën en de aanwezigheid van die bacterie in de microflora. (Voorbeeld: Veillonella hecht zich vooral aan het epitheel van de tong en is belangrijke component van de tongflora.)

	Aanwezigheid			Hechting		
	Tanden	Tong	Wang	Tanden	Tong	Wang
<i>S. mutans</i>	weinig-veel	weinig	weinig	weinig-veel	weinig	weinig
<i>S. sanguis</i>	veel	matig	matig	veel	matig	matig
<i>S. salivarius</i>	weinig	veel	matig	weinig	veel	matig
<i>Neisseria</i>	weinig	weinig	weinig	weinig	weinig	weinig
<i>Veillonella</i>	matig	veel	weinig	weinig	veel	weinig

vlak (tabel II). Hieruit kan worden geconcludeerd dat selectieve aanhechting een van de mechanismen is, waardoor de samenstelling van de plaqueflora wordt bepaald. De gegevens in tabel II zijn ontleend aan het werk van Gibbons en van Houte (1973).

De betekenis van selectieve aanhechting is heel duidelijk in het geval van *S. mutans*. Deze bacterie kan zich alleen in de mond handhaven wanneer er harde oppervlakken, gebitselementen of een kunstgebit, aanwezig zijn. (Wanneer het kunstgebit uit de mond wordt gehaald, dan verdwijnt ook *S. mutans*.) *S. mutans* verschijnt dan ook pas in de mond na doorbraak van de tanden.

**De groei van bacteriën in een laag**

We moeten ons de tandplaque voorstellen als een laag die vele bacteriën dik is. Dit houdt in, dat de omstandigheden in de tandplaque niet overal gelijk zijn. Wanneer er tijdelijk een hoge concentratie aan b.v. glucose in de mond aanwezig is, dan zullen de bacteriën in de buitenste laag van de tandplaque hiervan direct profiteren. In de diepere lagen van de plaque dringt glucose weliswaar gemakkelijk binnen door diffusie, maar de gelijktijdige consumptie ervan door bacteriën leidt tot een snelle afname van de concentratie (afbeelding 1). Het kan voorkomen dat er voor de bacteriën bij het glazuuroppervlak nauwelijks iets van de glucose beschikbaar komt. Dit soort



Afb. 2. Elektronenmicroscopische opname van tandplaque afkomstig van gnotobiotische ratten waarin maar één bacteriesoort (gram-positieve kok). De bacteriecellen zijn onderling verbonden door polysaccharide vezels.

concentratie-gradiënten treden in de plaque op voor tal van (voedings)stoffen waardoor er een reeks van verschillende milieu's ontstaat, die elk geschikt zijn voor hierbij aangepaste bacteriën. Ook de zuurstofconcentratie zal bij toenemende diepte in de tandplaque geleidelijk afnemen, zodat de groei van anaërobe bacteriën tenslotte mogelijk is. De betekenis van zuurstof voor de microbiële samenstelling van de tandplaque werd fraai gedemonstreerd door Ritz (1967) die de bacteriesoorten in tandplaque van toenemende leeftijd heeft onderzocht. In tandplaque van enkele dagen oud werden voornamelijk facultatieve en aërobe bacteriesoorten gevonden (facultatieve bacteriën zijn voor hun groei niet afhankelijk van zuurstof). Na verloop van een aantal dagen, wanneer ook de plaque dikker werd, namen de anaërobe bacteriën, waaronder *veillonella* en fusobacteriën en ook soorten die hoewel niet anaëroob, beter groeien bij lage zuurstofspanning, zoals actinomyceten, sterk in aantal toe. De selectie naar anaërobe en facultatieve bacteriën heeft belangrijke consequenties voor het metabolisme van de tandplaque. Terwijl de aërobe afbraak van koolhydraten leidt tot de vorming van CO<sub>2</sub> en water, levert de anaërobe-afbraak of fermentatie door bacteriën, organische zuren op als belangrijkste eindproducten. Zuurstof beïnvloedt de microflora ook via waterstofperoxyde. Verschillende bacteriën in de tandplaque vormen waterstofperoxyde in aanwezigheid van zuurstof. Waterstofperoxyde is bij voldoende concentratie toxisch voor bacteriën, terwijl lagere concentraties van waterstofperoxyde een voorwaarde zijn voor de werkzaamheid van het lactoperoxidase-thiocyanaatsysteem. Het lactoperoxidase-thiocyanaatsysteem komt voor in het speeksel en heeft een antibacteriële werking. (Hoogendoorn: Bacterieremmende systemen in het speeksel; microsymposium).

#### De voeding

Het voedsel van de gastheer is maar voor een betrekkelijk korte tijd beschikbaar voor de bacteriën in de mond. Het is daarom moeilijk voor te stellen dat de mondflora afhankelijk zou zijn van dit voedsel. Experimenten met apen en honden die via een maagsonde werden gevoed, laten zien dat de ontwikkeling van tandplaque in deze dieren niet achterblijft bij die in normaal etende dieren.



Niettemin zijn er aanwijzingen dat de samenstelling van het dieet de plaqueflora wel degelijk beïnvloedt. De Stoppelaar heeft gevonden, dat de aanwezigheid van *S. mutans* in de tandplaque afhankelijk is van het voorkomen van koolhydraat in het dieet; *S. mutans* verdwijnt nagenoeg bij een koolhydraatvrij dieet (De Stoppelaar et al., 1970). Dierexperimenten in ons laboratorium laten zien dat het dieet een selecterend effect heeft op de plaqueflora. Twee groepen ratten werden gevoerd met een suiker (saccharose) of een glucosedieet. In beide groepen is er een sterke plaquevorming. In de suikergroep bevat de plaque een hoog percentage aan extracellulair polysaccharide producerende streptokokken (*S. mutans* en *S. sanguis*) terwijl in de glucosegroep de bacterie *Actinomyces viscosus* domineert (Van der Hoeven, 1973).

#### Interacties tussen bacteriën

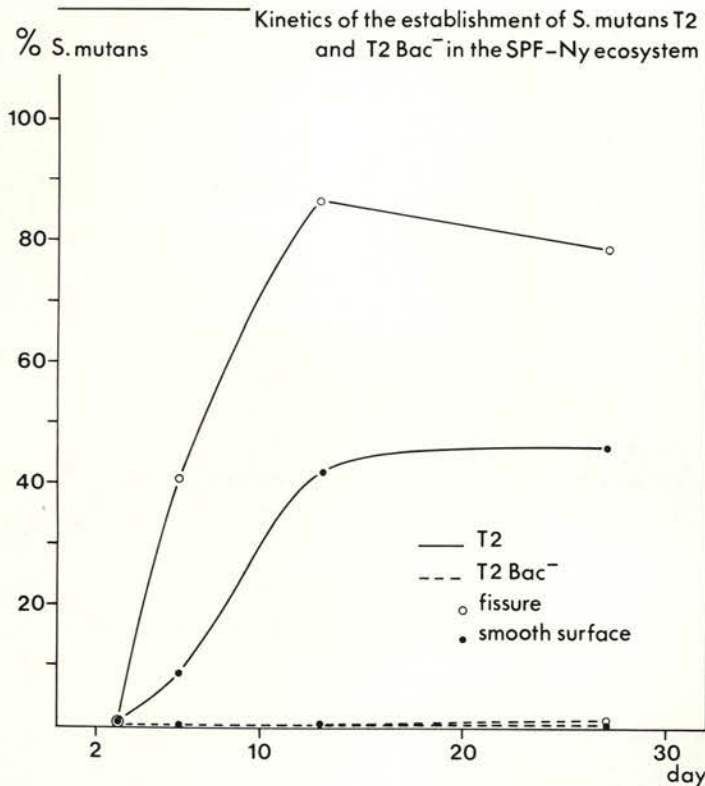
Zoals in elke gemeenschap beïnvloeden ook de individuen in een bacterieflora elkaar. De betekenis van interacties tussen bacteriën voor de samenstelling van de plaqueflora is ongetwijfeld groot. Het onderzoek hiernaar is echter niet vervolgd, omdat de experimentele moeilijkheden voor bestudering ervan aanzienlijk zijn. Immers, in een complexe microflora spelen zich talrijke interacties gelijktijdig af en het effect van één bepaalde is moeilijk te meten.

In gnotobiotische dieren met een microflora die uit een beperkt aantal bekende soorten bestaat, kan de wisselwerking tussen b.v. een tweetal bacteriën nauwkeuriger worden nagegaan. De interactie tussen *S. mutans* en *Veillonella alcalescens* zal naar verwachting leiden tot minder cariës; *S. mutans* produceert melk-

zuur, terwijl *V. alcalescens* juist dit melkzuur benut als voedselbron. In gnotobiotische ratten beënt met uitsluitend *S. mutans* en *V. alcalescens* wordt inderdaad minder cariës gevonden dan in ratten die alleen met *S. mutans* werden beënt.

De cariësreductie kan echter niet alleen aan verlaging van de melkzuurconcentratie in de plaque worden toegeschreven. Het blijkt dat de aanwezigheid van *V. alcalescens* behalve tot verlaging van de melkzuurconcentratie, ook leidt tot verminderde plaquevorming. Volgens een nog onbekend mechanisme resulteert de gezamenlijke groei van *S. mutans* en *V. alcalescens* in minder tandplaque dan de groei van *S. mutans* alleen (Van der Hoeven, 1978). Veel mondbacteriën produceren stoffen, die schadelijk zijn voor andere bacteriën. Behalve het hiervoor genoemde waterstofperoxyde vallen hieronder organische zuren en bacteriocines. Terwijl de productie van bacteriocines door bacteriën in laboratoriumculturen vrij eenvoudig kan worden aangetoond, is er pas sinds kort enig bewijs dat deze stoffen ook in een natuurlijke omgeving door de bacterie worden geproduceerd en effectief zijn. Dit kan toegelicht worden aan de hand van het volgende experiment dat in ons laboratorium is uitgevoerd. Hierbij werden ratten groepsgewijs beënt met bacteriocine producerende- en niet producerende *S. mutans*-stammen. Het bleek dat als regel de bacteriocine producerende stammen zich veel beter vestigden dan de niet-producerende stammen. Afbeelding 3 toont het verloop van de vestiging van *S. mutans* T2 en een bacteriocine negatieve mutant van die stam, T2 bac<sup>-</sup>, in de plaqueflora van ratten. De betere vestiging van bacteriocine-producerende stammen is waarschijnlijk te





danken aan de productie van bacteriocine. Men kan zich voorstellen dat een bacterie, die zich als nieuwkomer in de tandplaque wil vestigen, zich beter een plaats kan veroveren met behulp van een bacteriocine 'wapen'.

In het bovenstaande heb ik een aantal factoren genoemd en toegelicht die de bacteriesamenstelling van de tandplaque bepalen.

Gastheerfactoren zoals het speeksel en de antibacteriële systemen daarin zoals immunoglobulines, lactoferrine, lacto-

peroxydase-thiocynaat en lysozym heb ik hier buiten beschouwing gelaten. De antibacteriële systemen in het speeksel zullen worden besproken door Hoogen-doorn in dit microsposium.

De plaquemicroflora wordt in grote mate bepaald door de omstandigheden, het milieu, in de mond. De bacteriële samenstelling is van grote betekenis omdat het metabolisme van de tandplaque hiermee direct samenhangt. Het metabolisme van de plaqueflora, op zijn beurt, kan leiden tot onomkeerbare veranderingen van het milieu in de mond zoals dat tot uitdruk-

Afb 3. De vestiging van *Streptococcus mutans* T2 en van de bacteriocine negatieve mutant T2 bac<sup>-</sup> in ratten met een eigen microflora ('SPF-Ny ecosysteem'). De *S. mutans*-stammen werden in de ratten geënt op dag 0 en 3, 5, 13 en 27 dagen na de beënting werden plaquemodellen genomen.

king komt bij tandbederf en afbraak van de tandomringende weefsels.

#### Literatuur

- Gibbons, R. J. (1972): Ecology and cariogenic potential of oral streptococci. In 'Streptococci and Streptococcal Diseases'. Eds. L. W. Wannamaker and J. M. Madsen. New York and London. Academic Press.
- Gibbons, R. J., J. van Houte (1973): On the formation of dental plaques. J Periodontol 44: 347-360.
- Hoeven, J. S. van der (1973): Glucose en cariëspreventie. Ned Tandartsenbl 28: 359-361.
- Hoeven, J. S. van der, A. I. Toorop, F. H. M. Mikx (1978): Symbiotic relationship of *Veillonella alcalescens* and *Streptococcus mutans* in dental plaque in gnotobiotic rats. Caries Res 12: 142-147.
- Ritz, H. L. (1976): Microbial population shifts in developing human dental plaque. Archs Oral Biol 12: 1561.
- Roseburg, Th. (1962): Microorganisms indigenous to man. McGraw Hill, New York.
- Stoppelaar, J. D. de, J. van Houte, O. Backer Dirks (1970): The effect of carbohydrate restriction on the presence of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and iodophilic polysaccharide-producing bacteria in human dental plaque. Caries Res 4: 114-123.

Philips van Leydenlaan 25,  
Nijmegen.

## DE VORMING EN ONTWIKKELING VAN TANDPLAQUE

E. J. 's-GRAVENMADE

Uit het laboratorium voor Materia Technica van de rijksuniversiteit te Groningen.

### Inleiding

Tandcariës en parodontopathieën zijn kwantitatief de belangrijkste afwijkingen waarmee de tandarts te maken heeft. Uit epidemiologisch onderzoek blijkt, dat het optreden van beide afwijkingen verband houdt met de aanwezigheid van tandplaque op de gebitselementen. Het ligt dan ook voor de hand te veronderstellen dat

tandplaque verantwoordelijk is voor het ontstaan van deze afwijkingen (afb. 1), een veronderstelling die wordt ondersteund door nader onderzoek.

Tandplaque kan worden gedefinieerd als een zachte, vast-hechtende, gedeeltelijk gestructureerde laag, bestaande uit aërobe en anaërobe micro-organismen met een intercellulaire matrix. Waar de pla-

que jong is zijn de micro-organismen in de plaque van het glazuuroppervlak gescheiden door een ter plaatse gevormde celvrije organische matrix (glazuurpellicle). Elektronenmicroscopisch onderzoek (Meckel, 1965; Tinanoff, 1976) leert dat deze glazuurpellicle is opgebouwd uit 3 lagen (afb. 2).

Een 'subsurface'-laag, het deel van de pellicle dat de poriën en gedemineralseerde gebieden van het glazuur opvult. Verder een 'surface'-laag, die zich uniform uitstrekt over het gehele glazuuroppervlak. Beide lagen zijn opgebouwd uit glycoproteïnen-materiaal afkomstig uit de mondvlloeistof. Een dikkere 'suprasur-