

- initiation of dental caries in Negro children. Arch Oral Biol 18: 555-556.
8. Keyes, P. H. (1960): The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Arch Oral Biol 1: 304-320.
9. Krasse, B. (1966): Human streptococci and experimental caries in hamsters. Arch Oral Biol 11: 429-436.
10. Krasse, B., Jordan, H. V., Edwardsson, S., Svensson, I., Trelle, L. (1968): The occurrence of certain 'caries-inducing' streptococci in human dental plaque material. Arch Oral Biol 13: 911-918.
11. Littleton, N. W., Kakehashi, S., Fitzgerald, R. J. (1970): Recovery of specific 'caries-inducing' streptococci from lesions in the teeth of children. Arch Oral Biol 15: 461-464.
12. Miller, W. D. (1889): Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Georg Thieme Verlag, Leipzig.
13. Schamschula, R. G., Charlton, G. (1971): A study of caries etiology in New South Wales school children. I. The streptococcal flora of plaque and caries prevalence. Aust Dent J 16: 77-82.
14. Shklair, I. L., Keene, H. J., Cullen, P. (1974): The distribution of *Streptococcus mutans* on the teeth of two groups of naval recruits. Arch Oral Biol 19: 199-202.

15. Stoppelaar, J. D. de (1971): In: Tooth Enamel II Symposium. Ed. R. W. Fearnhead and M. V. Stack. John Wright and Sons Ltd., Bristol. Pp. 222-228.
16. Stoppelaar, J. D. de, van Houte, J., Backer Dirks, O. (1969): The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. Caries Res 3: 190-199.
17. Woods, R. (1971): A dental caries susceptibility test based on the occurrence of *Streptococcus mutans* in plaque material. Aust Dent J 16: 116-121.

DE ROL VAN STREPTOCOCCUS MUTANS BIJ TANDPLAQUEVORMING EN CARIËS

J. H. J. HUIS IN 'T VELD
J. D. DE STOPPELAAR

Wanneer men gemakkelijk vergistbare oplosbare suikers zoals glucose, saccharose, fructose etc. consumeert, vindt er in de tandplaque een snelle pH-daling plaats. Zuren gevormd na anaërobie vergisting (o.a. glycolyse) door tandplaquebacteriën zijn voor de pH-daling verantwoordelijk. Wanneer de pH vaak beneden de waarde 5,5 daalt, kan glazuur in oplossing gaan (ontkalking) en kan er een caviteit ontstaan. Het eerste ontstaan van cariës wordt daarmee een voornamelijk fysisch-chemisch proces dat afhankelijk is van verschillende factoren. Allereerst blijkt de tijd dat suiker in de mond achterblijft belangrijk te zijn. Hoe vaker we suikers eten, des te vaker kan de pH in de tandplaque beneden de kritische waarde van 5,5 dalen des te groter is de kans dat glazuur ontkalkt.

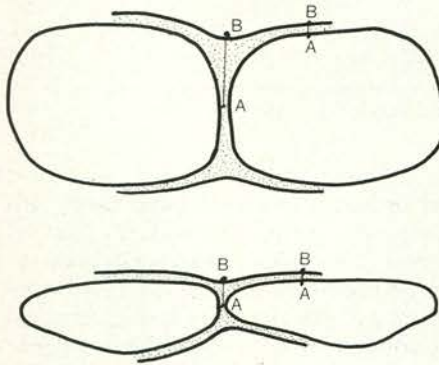
De dikte van de plaque speelt ook een voorname rol. Zuren die in de tandplaque gevormd zijn kunnen door speekselbuffers geneutraliseerd worden. De speekselbuffers (vooral HCO_3^- en HPO_4^{2-}) moeten de plaque binnen diffunderen. Diffusie nu, is een langzaam verloopend proces dat sterk afhankelijk is van het concentratieverval en dus van de diffusieweg. Wanneer de plaque tweemaal zo dik is, duurt het 4x zo lang voordat neutralisatie van zuur optreedt. Ook de diffusie van H^+ -ionen naar buiten duurt tweemaal zo lang. Vooral approximaal is dit van belang, omdat daar de 'effectieve plaquedikte' veel groter is dan op buccale of linguale vlakken (afb. 1).

Uit het bovenstaande zal het duidelijk zijn dat de speekselsamenstelling ook een belangrijke factor is bij het ontstaan van

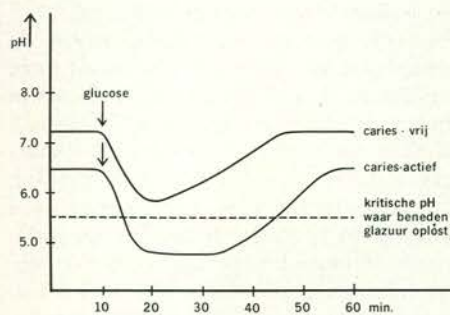
Uit de afdeling Preventieve Tandheelkunde en de afdeling Microbiologie van de Mond van de rijksuniversiteit te Utrecht.

cariës. Dr. H. Hoogendoorn zal daar nog op terugkomen.

Als laatste factor is de bacteriële samenstelling van de tandplaque van belang omdat de bacteriën die voor het cariësproces benodigde organische zuren (melkzuur, ajijszuur etc.) produceren.



Afb. 1. Effectieve plaquedikte (A-B) bij molaren en incisieven, approximaal en buccaal



Afb. 2. pH-verandering in plaque afkomstig van cariës-vrije resp. cariës-actieve mensen.

Het navolgende *in vitro* experiment laat dat duidelijk zien. Wanneer tandplaque verzameld wordt van cariësvrije en cariësactieve mensen, blijkt na toediening van een suikerooplossing, dat de pH in de tandplaque afkomstig van cariësactieve mensen veel langer en sterker daalt (afb. 2). Het verschil moet in deze opstelling, speekselsamenstelling, plaquedikte etc. worden immers buiten beschouwing gelaten, volledig worden toegeschreven aan de verschillen in bacteriesamenstelling van de plaque. Plaque van cariësactieve mensen bevat blijkbaar meer sterk zuurvormende en zuurtolerante bacteriën. Over één van deze bacteriën die een belangrijke rol speelt bij de pathofysiologie van tandplaque, *Streptococcus mutans*, gaat dit hoofdstuk. Vooraf echter een waarschuwing. Het is niet onze bedoeling de indruk te wekken dat *S. mutans* het enige micro-organisme is dat verantwoordelijk gesteld kan worden voor het ontstaan van tandcariës (iedere bacterie die zuur produceert doet mee!). Het feit echter dat er de laatste 10 jaar veel bewijsvoering is aangedragen voor een speciale relatie tussen *S. mutans* en tandcariës, rechtvaardigt dat wij hier speciale aandacht schenken aan dit micro-organisme.

In het vorige artikel hebben we reeds laten zien dat uit epidemiologische studies een positieve correlatie blijkt tussen *S. mutans* en cariës. Wij moeten hier echter voorzichtig zijn, omdat het niet de eerste keer zou zijn dat oorzaak en causaal verband met elkaar verward worden (Lactobacillen-periode \pm 1935). Er zijn echter nog weinig longitudinale onderzoeken uitgevoerd die aantonen dat cariës hoofdzakelijk ontstaat op die gave vlakken die geïnfecteerd zijn met *S. mutans*. Duidelijker bewijzen komen voort uit dierexperimenteel onderzoek: *S. mutans* geeft in combinatie met saccharosediet bij dieren meer cariës dan enige andere plaquebacterie. Deze bevindingen

hebben er toe geleid dat sommigen cariës beschouwen als een specifieke infectieziekte, veroorzaakt door *S. mutans*. Alhoewel vaccinatie met *S. mutans* bij ratten en apen inderdaad bescherming tegen cariës te zien geeft, vinden wij dat cariës niet als een specifieke infectieziekte beschouwd moet worden. Cariës is een multifactorieel proces, waarbij *S. mutans* een voorname rol kan spelen. Welke zijn nu die eigenschappen die *S. mutans* onderscheiden van andere plaque-bacteriën en die maken dat *S. mutans* zo cariogeen is?

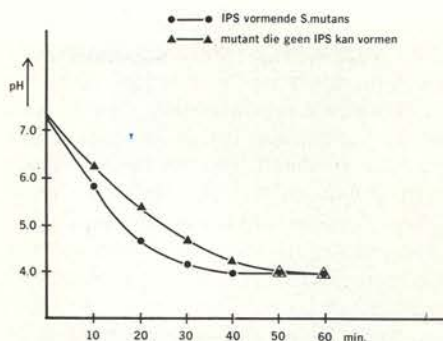
Als eerste eigenschap zouden we de sterke zuurvorming willen noemen. Bij een pH waar andere bacteriën ophouden met zuurvormen, gaat *S. mutans* door. *S. mutans* is dus erg zuurtolerant. Vergeleken met andere orale streptokokken is de eind-pH van *S. mutans* in glucosemedium 0,2 tot 0,4 pH-eenheid lager (tabel I). Dat wil zeggen 2 à 4 maal zoveel H⁺!

Tabel I. Eind-pH in 1% glucosemedium van verschillende bacteriën.

	Eind-pH	Spreading
Actinomyces	4.3	(4.1 - 4.6)
<i>S. milleri</i>	4.2	(4.0 - 4.4)
<i>S. mitior</i>	4.3	(4.0 - 5.0)
<i>S. sanguis</i>	4.4	(3.9 - 4.7)
<i>S. mutans</i>	4.0	(3.6 - 4.4)

Te zamen met vele andere plaquebacteriën zoals *Streptococcus sanguis* en *Streptococcus mitis*, bezit *S. mutans* het vermogen om intracellulair glycogeenachtig reservemateriaal te maken. De synthese van dit intracellulaire polysaccharide (IPS) vindt alleen plaats wanneer er een overmaat aan suiker aanwezig is (tijdens en direct na gebruik van snoep en frisdranken). De energie die voor de stapeling van IPS nodig is, wordt aan de 'energie pool' van de bacteriecel onttrokken. Om toch over de benodigde energie te beschikken voor de aanmaak van essentiële bestanddelen zoals enzymen, DNA etc., vergisten deze bacteriën per tijdseenheid meer suiker, hetgeen resulteert in een verhoogde zuurproductie. IPS-vormende bacteriën doen de pH in een reageerbuis dan ook sneller dalen dan bacteriën die geen IPS kunnen maken (afb. 3).

Wanneer de exogeen aangeboden suikers verbruikt zijn, kunnen die bacteriën die IPS gestapeld hebben dit weer afbreken. Dit levert extra energie en extra zuur op. Extra energie biedt de bacterie grotere overlevingskansen, terwijl door de extra zuurvorming de pH in de tandplaque langer op een laag niveau gehouden kan worden. Plaque van cariësactieve mensen bevat over het algemeen wel veel meer IPS-vormende bacteriën (afb. 4). Golden bovengenoemde eigenschappen,

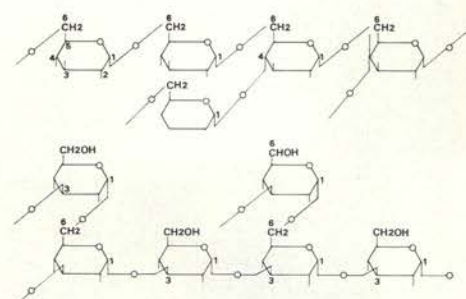


Afb. 3. pH-daling door celsuspensie van *S. mutans*



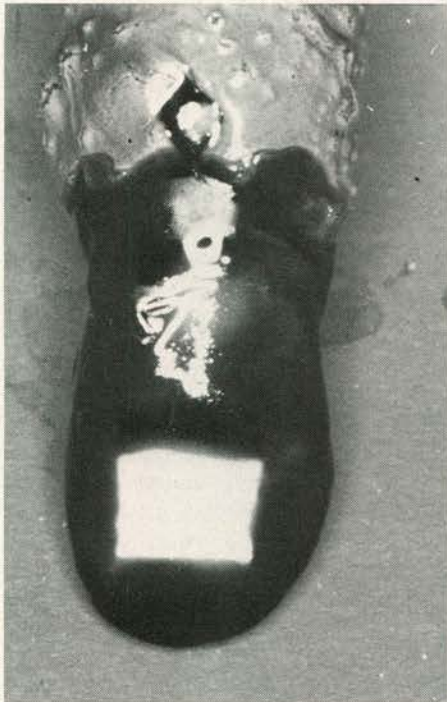
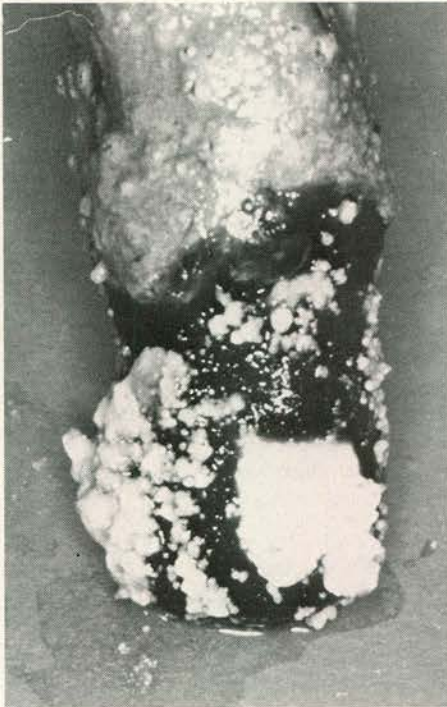
Afb. 4. Elektronmicroscopische opname van tandplaque met veel IPS-vormende bacteriën.

zuurtolerantie en IPS-vorming, niet alleen voor *S. mutans*, de navolgende fysiologische eigenschappen kunnen alleen aan *S. mutans* worden toegeschreven. Bij de initiële plaquevorming hebben we gezien dat specifieke interacties tussen tandoppervlak en bacterie-oppervlak een bepalende rol spelen. In tegenstelling tot *S. sanguis* en *S. mutans* wordt b.v. *S. salivarius* doorgaans niet in de tandplaque aangetroffen. Deze bacterie komt juist op het epitheel van tong en wang voor. In vitro experimenten toonden aan dat *S. salivarius* het vermogen mist om zich aan glazuurpoeder te hechten. Aan tongepitheelcellen bleek *S. salivarius* daarentegen goed te hechten. Ondanks het feit dat de initiële adsorptie van *S. mutans* aan glazuurpoeder veel lager is dan van *S. sanguis*, wordt dit organisme regelmatig in relatief hoge percentages in de tandplaque aangetroffen. Blijkbaar bezit dit organisme eigenschappen waardoor het in staat wordt gesteld zich, ondanks de handicap van zwakkere adsorptie, toch op het tandoppervlak op te houden. Dieetstudies hebben aangetoond dat deze eigenschappen sterk afhankelijk zijn van de aanwezigheid van saccharose. Wanneer een saccharosevrij dieet verstrekt wordt aan personen waarbij *S. mutans* in de tandplaque aanwezig is, ziet men na enige dagen het percentage *S. mutans* afnemen. *S. sanguis* daarentegen neemt procentueel gezien toe. Zo gauw saccharose weer aan het dieet wordt toegevoegd, ziet men het percentage *S. mu-*



Afb. 5. Chemische structuur van de hoofdketens van een α (1-6) gebonden glucosepolymeer (dextraan) en een α (1-3) gebonden glucaan (mutaan). Bij dextranen kunnen vertakkingen op C-atoom 3 en 4 voorkomen. Mutaan bezit in het algemeen vertakkingen uitgaande van C-atoom 6.

tans weer toenemen tot het oorspronkelijke niveau. Een verklaring voor dit verschijnsel moet gezocht worden in het feit dat *S. mutans* uit saccharose extracellulair, kleverige polysacchariden kan vormen, die de bacteriën de mogelijkheid bieden zich ondanks de reinigende werking van tong en speeksel, aan oppervlakken op te houden. De extracellulaire polysacchariden kunnen opgebouwd zijn uit glucose (glucanen) of fructose (fructanen) en worden gevormd door enzymen (glucosyltransferasen en fructosyltransferasen), die extracellulair aanwezig zijn. Vooral één type glucaan blijkt verantwoordelijk te zijn voor de kleverige eigenschappen. Dit glucaan blijkt in chemische structuur af te wijken van de tot dusver bekende glucanen (dextranen), omdat het een hoog percentage α 1-3 bindingen bezit (afb. 5). Dextranen bevatten daarentegen bijna uitsluitend α 1-6 bindingen. Omdat deze α 1-3 gebonden glucanen zo specifiek voor *S. mutans* zijn, heeft men ze de naam 'mutaan' gegeven. Naast dit mutaan vormt *S. mutans* ook nog het voornoemde dextraan. Het verschil in chemische structuur tussen mutaan en dextraan resulteert in duidelijk fysisch-chemische verschillen tussen deze twee glucose-polymeren. Mutaan is b.v. in tegenstelling tot dextraan niet oplosbaar in water. Mutanten van *S. mutans* die het vermogen verloren hebben mutaan te synthetiseren, blijken bij dieren minder plaque te vormen en dientengevolge minder cariogeen te zijn. Afbeelding 6 toont de in vitro plaque vorming van *S. mutans* en van een streptokok die geen mutaan kan maken. De plaque heeft zich gevormd op premolaren die afgelakt zijn en waarbij een klein glazuurvenster is opengelaten. De premolaren werden op 5 achtereenvolgende dagen overgeënt in evenzo vele verse saccharose cultures van beide type streptokokken. Op de premlaar die 5 dagen in de *S. mutans* cultuur gehangen heeft, heeft zich duidelijk typische '*S. mutans*-plaque' gevormd. De



Afb. 6. In vitro plaquevorming door *S. mutans* (a) en een streptokok (b) die geen mutaan kan maken.

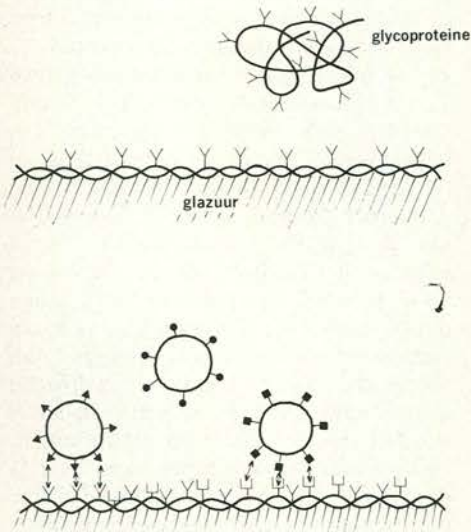
plaquevorming beperkte zich overigens niet tot het glazuurvenster. Op de andere premolaar was nauwelijks plaque waarneembaar. Mutaan vorming is dus belangrijk voor de ophoping van streptokokken aan oppervlakken, zoals b.v. de tand, en draagt naast zuurvorming extra bij tot de cariogeniteit van het organisme. Als laatste cariogene eigenschap van *S. mutans* moet de aanwezigheid van specifieke celreceptoren voor glucanen genoemd worden. Wanneer gewassen, in glucosemedium gegroeide *S. mutans*-

cellen samengebracht worden met microgram hoeveelheden glucaan (dextraan of mutaan), gaan de *S. mutans*-cellen samenklonteren (agglutinatie). Dit is een unieke eigenschap van *S. mutans*. Hierdoor onderscheidt het zich van alle andere mondbacteriën. Ook aan deze eigenschap wordt een bevordering van de initiële kolonisatie toegekend. We moeten ons hierbij voorstellen dat er in de aanwezigheid van deze polymeren een netwerk van bacteriën en glucaan gevormd wordt, waardoor *S. mutans* beter aan het tandoppervlak gefixeerd wordt en waardoor het een betere kans krijgt tot microkolonies uit te groeien. De glucanen hoeven niet persé door *S. mutans* gevormd te zijn, ook glucanen gevormd door andere mondbacteriën doen *S. mutans* agglutineren. Laboratoriumexperimenten hebben aangetoond dat de adsorptie van *S. mutans* aan tandoppervlakken veel sterker is wanneer dat tandoppervlak van tevoren met kleine hoeveelheden dextraan behandeld is. Agglutinatie van *S. mutans* moet voor deze verhoogde adsorptie verantwoordelijk worden geacht.

De bovenbeschreven eigenschappen maken dat *S. mutans* een vooraanstaande rol kan spelen bij de tandplaquevorming en dus bij het cariësproces.

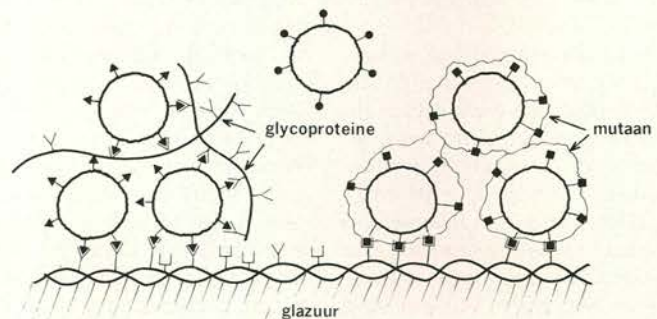
Wanneer de plaque vorming op gang ge-

bracht is, kunnen natuurlijk ook andere bacteriën door de kleverige extracellulaire glucanen op niet specifieke wijze 'ingevangen' worden. Hierdoor krijgen ook deze bacteriën de kans uit te groeien en plaque de uiteindelijke complete samenstelling te geven, met alle nadelige gevolgen van dien. De combinatie *S. mutans* en saccharose speelt dus een belangrijke rol bij de ontwikkeling en groei van tandplaque. In afbeelding 7 wordt het geheel nog eens schematisch in beeld gebracht. Bacteriologische tandplaque studies brachten aan het licht dat *S. mutans* niet gelijkmatig verdeeld in de tandplaque voorkomt. *S. mutans* heeft een voorkeur voor bepaalde tandvlakken. Uit longitudinale studies blijkt bovendien dat plaatsen, eenmaal met *S. mutans* geïnfecteerd, na maanden nog *S. mutans* herbergen, terwijl plaatsen in dezelfde mond die vrij van *S. mutans* zijn, dat meestal blijven. Infectie van één tandoppervlak naar een ander gaat blijkbaar niet zo gemakkelijk. De gelokaliseerde en persisterende wijze van kolonisatie van *S. mutans* kan mede een verklaring opleveren voor de hoge cariogeniteit van dit microorganisme, omdat men hieruit aan mag nemen dat kolonies van *S. mutans* direct op het tandoppervlak voorkomen en niet aan de buitenkant van de tandplaque. De



Afb. 7. Schematische voorstelling van de kolonisatie van het glazuur:

- Specifieke aanhechting van glycoproteïnen met heterogene koolhydraatzijketens (y) uit het speeksel aan het glazuur (vorming acquired pellicle)
- Primaire adsorbtie van bacteriën aan hun specifieke glycoproteïne-receptor. Primaire adsorbtie *S. sanguis* > *S. mutans*
- Accumulatie van de bacteriën door (1) productie van kleverige polysacchariden (mutaan) gevolgd door agglutinatie of (2) directe agglutinatie door specifieke glycoproteïnen (*S. sanguis*, *S. mitis*).



buitenste lagen worden nl. steeds door abrasieve werkingen (tong, kauwen, speeksel) en tandenpoetsen verwijderd. Microkolonies van *S. mutans*, ingebed in glucaan, produceren aan het tandoppervlak relatief hoge concentraties zuur, waardoor zeer lokaal het glazuur ontkalkt kan worden. Uit klinische waarnemingen weten we dat cariës begint als opake witte vlek ('white spot'), hetgeen niets anders is dan een plaatselijke lichte ontkalking, juist onder het tandoppervlak. Bacteriologische studies tonen inderdaad aan

dat er op zo'n 'white spot' relatief veel *S. mutans* microkolonies voorkomen.

Samenvattend kan men stellen dat de cariogeniteit van *S. mutans* gerelateerd is aan een hoge zuurproductie, het vermogen om zich op tandoppervlakken te vestigen en zich aldaar op te hopen. Saccharose, substraat voor de synthese van mütan, is voor de laatste twee processen noodzakelijk. De ongelijkmatige wijze van kolonisatie van *S. mutans* lijkt bovendien van belang te zijn.

Literatuur:

1. Gibbons, R. J., Van Houte, J. (1973): On the formation of dental plaques. *J Periodont* 44: 346-360.
2. Stiles, Loesche, O'Brien (Eds.) (1976): *Microbial aspects of dental caries*. Vol. 1, 2, 3. Information Reheival Inc. Washington DC and London.

Adres: Dr. J. H. J. Huis in 't Veld, Sorbonnelaan 16, Utrecht.

MICRO-ORGANISMEN EN PARODONTAAL VERVAL

F. H. M. MIKX
W. H. VAN PALENSTEIN HELDERMAN

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

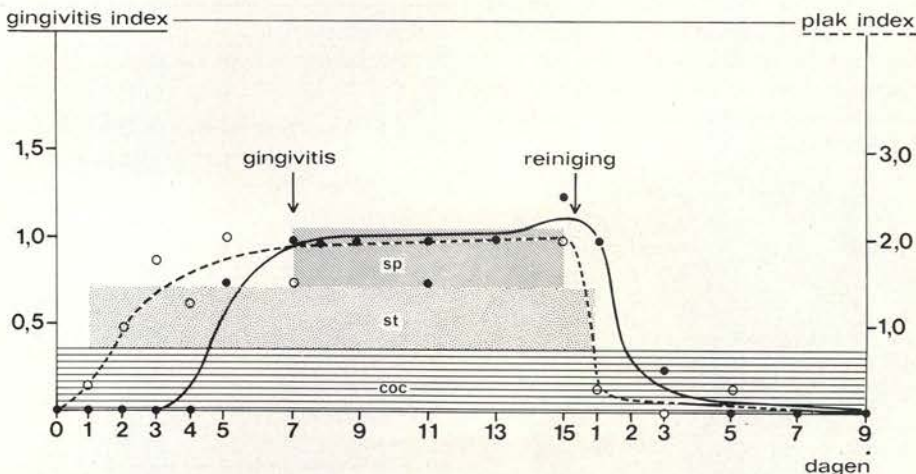
Afb. 1. Experimentele gingivitis bij de mens. Gedurende een periode zonder mondreiniging neemt de bacteriemassa op de tanden toe in volume en complexiteit, eerst gram+coccen (coc) dan ook gram+staven (st) en coccen en tenslotte spirocheteten (sp). Na 7 dagen treedt gingivitis op dat verdwijnt na verwijdering van de tandplaque (Theilade e.a., 1966).

Inleiding

Micro-organismen zijn de belangrijkste etiologische factor bij parodontale aandoeningen. Hetgeen kan worden geconcludeerd uit klinisch en dierexperimenteel onderzoek. Theilade e.a. (1966) hebben geconstateerd dat gedurende een periode zonder mondreiniging de bacteriemassa op de tanden, de tandplaque, dikker wordt en er binnen 7 dagen gingivitis ontstaat. Verwijdering van de tandplaque leidde tot herstel van de gingiva (afb. 1). In dierexperimenten werd een relatie tussen verschillende tandplaquevormende micro-organismen en infiltratie van de gingiva door ontstekingscellen waargenomen (Van der Hoeven e.a., 1975). Andere onderzoekers hebben aangetoond, dat door besmetting met bepaalde micro-organismen, b.v. Actinomyceten, tandvleesontsteking en botverlies worden geïnduceerd (tabel I). Tenslotte is aangetoond, dat parodontale aandoeningen met antibacteriële middelen, b.v. penicilline, vancomycine en chloorhexidine Parsons, 1974) kunnen worden bestreden.

Tandplaque, een ecosysteem

De micro-organismen die in relatie gebracht worden met parodontale afwijkingen maken deel uit van de microflora van de tandplaque. De tandplaque bestaat uit bacteriën, bacteriële produkten en speekselcomponenten en kan worden beschouwd als een microbiel ecosysteem (Mikx e.a., 1977). Factoren in dit systeem zijn tanden, gingiva, exudaat, dieet en tandverzorging, speeksel en microflora. Zij vormen in onderlinge interactie het ecosysteem van de tandplaque (afb. 2).



Afb. 2. Factoren in het ecosysteem van de tandplaque.

