

学龄前儿童龋病活跃性研究进展

方慧, 缪羽

内蒙古医科大学第四附属医院口腔科, 内蒙古 包头 014030

关键词: 龋病; 活跃性; 儿童, 学龄前; 乳牙; 致龋菌; 产酸

中图分类号: R 788⁺.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2017)01-0129-04

龋病是一种危害人类健康最普遍的口腔疾病,任何年龄、性别、种族的个体都可能患龋病。学龄前儿童龋是一种破坏性疾病,不仅严重影响儿童口腔乳牙牙列健康,还会影响对营养物质的吸收,导致生长发育不良。很多家长认为乳牙终将被替换,从而忽视乳牙龋病,继而给儿童局部(食物嵌塞、牙齿美观、发音、咀嚼效能)和全身(营养不良、心理健康)带来不良影响。美国公共卫生调查显示,25%的学龄前儿童龋齿数约占口腔中牙齿数目的75%,而且儿童早期乳牙患龋率高者未来替换的恒牙也将容易遭受龋病的困扰。因此必要的早期预防措施,即早期发现儿童龋病易感人群,从而实施因人而异的有针对性措施,是国内外口腔医师共同的目标和研究课题。龋病活跃性的检测结果能反映机体龋坏程度的现状,预测龋病进展的状况,其研究使得儿童口腔科医师可以因地制宜、因人制宜的选取合适的检测方法来预防和指导儿童口腔保健工作,同时对探讨龋病病因也有重要的意义。本文对近年来国内外学龄前儿童龋病活跃性研究(包括研究的目的、方法、内容和意义)作一综述。

1 龋活跃性试验概述

龋活跃性试验(caries activity test)是一种用来检测和研究一定时间内牙齿新龋的发生和现有龋进行性发展速度的总和的、具有预防意义的手段^[1]。龋活跃性试验能够在充足科学依据支撑下对龋病高发人群进行早期预防和干预,尤其在幼儿期乳牙龋病防治中具有重要的临床意义。龋活跃性试验的历史悠久,早在上世纪三十年代(1933年)国外就有报道, Hadley 曾用“龋敏感性试验”来描述他的试验。1962年, Rapp 将这一说法改变,称之为“龋活跃性试验”,1976年, Ostrom、Koulourides 又改变称法为“致龋性试验”。从以上叫法中不难看出,在此之前学者们都只是将龋病定义为个人的敏感程度,到1979年,当人们意识到龋病不再是个体发病时才真正将视角转移到公众角度,从此,这种检测又改变称呼为“龋活跃性预测”或“龋病危险预测”,直至今日,学界又将其改变为“龋活跃性试验”。一次又一次的改变显示龋病的预防越来越被人们所关注。为此学者们不断探索以求能找到一种行之有效

的方法来检测出高风险患龋人群,

2 龋活跃性预测的方法

近年学者们经常用到的龋活跃性预测的方法主要有3种。

2.1 Dentocult SM 法 Dentocult SM 法主要通过对菌斑中变形链球菌(streptococcus mutans, MS)的产酸能力进行检测,经过恒温培养,使 MS 快速繁殖并分解代谢蔗糖产生乳酸,乳酸使试剂变色,从而反映样本中 MS 的量及该受检者的龋病活跃性^[2]。MS 是在口腔微生物环境中所能检测到菌群中含量最高的一种革兰阳性链球菌,也被认为是龋病的主要致龋菌。其致龋性主要是与其产酸和耐酸性有关。当底物—碳水化合物进入口腔后,MS 开始分解底物,产生大量酸性物质,使局部 pH 值下降,但 MS 因具有良好的耐酸性,即使是在 pH 值为 4.5 时依然可以抵抗口腔唾液中的缓冲体系,继续产酸发酵,MS 利用蔗糖分解产生的胞外葡聚糖、果糖、胞内多糖还可以继续成为代谢底物,产生强大的致龋能力,同时,胞外葡聚糖具有诱导细菌再次粘附,加速菌斑形成的能力,成为 MS 的主要毒力因子。大量流行病学研究表明,MS 最早可在年龄为 2 个月的婴儿口腔中检出,且随着该菌定植时间越早,患龋风险也随之提高,并随着年龄的增长其定植比例也增加^[3-5]。因此,以 MS 菌群数量作为检测指标可以较好的反映龋病进展情况^[6-9]。

Dentocult SM 法具体操作步骤如下:检测人员进行统一培训,所有操作均由同一检测人员完成;检测可于 AM 8:00~9:00 或 PM 2:00~3:00 进行,均需禁水禁食 2 h;用压舌板在患儿舌被反正压试 10 次,嘱其用上、下唇轻轻抿去多余唾液,将压舌板放于事先配制好的对 MS 具有筛选性的培养液内,37℃ 定温观察 48 h 后察看 MS 所形成菌落的密集度(分为 4 度:0 度 < 10⁴ 菌落形成单位(cfu)/ml,1 度 10⁴~10⁵ cfu/ml,2 度 10⁵~10⁶ cfu/ml,3 度 > 10⁶ cfu/ml^[10])。该法与 MS 数量息息相关,能够对龋病的发生发展做出很好的预测性诊断。有研究指出,Dentocult SM 法与受检者的龋补牙面数及龋补牙数均有明显相关性,能更加客观地反映受检者龋病情况^[11]。Dentocult SM 法在龋病预测中可信度较高。临床实际工作中,可以通过 Dentocult SM 的等级来评定龋病的发病风险,如 Dentocult SM 等级越高,龋活跃性强度越强,表明该儿童新发龋病的风险明显高于等级相对较低的儿童。通过该法可对等级高者进

行危险因素分析,找到对应措施,以减少龋齿发生率。Dentocult SM 法操作简易,无特殊实验室要求,MS 选择性培养液配制简单,仅用简易便携恒温箱便可进行检测。

2.2 Dentocult LB 法 该法通过对受检者唾液中的乳酸杆菌菌落有无进行检测,从而判断机体的龋病易感性。乳酸杆菌——饱受争议的口腔常见菌^[12],因其能有效抑制龋病病原菌生长从而达到防龋作用^[13-14],且亲和力和产酸力均相对较低,使得其对牙齿表面的破坏力降低而成为学者们争论不休的引发龋病的主要致病菌^[15]。在对 20 名 3~5 岁西班牙裔无龋(caries free,CF)和重度低龄儿童龋(severe early childhood caries,S-ECC)儿童牙菌斑和唾液进行乳酸杆菌检测,仅 1 名 CF 儿童检测出乳酸杆菌,而 S-ECC 儿童在其牙菌斑及唾液中竟全部检出该菌的存活,其中牙菌斑和唾液乳酸杆菌检出率均为 80%,龋损牙本质乳酸杆菌检出率为 90%^[16]。据此,很多学者认为,在早期龋的发生发展进程中,乳酸杆菌并不是主要的致龋菌,其准确性在早期龋预测检测方面也并不如 MS 高^[17]。然而另一派学者通过研究发现,唾液中的乳酸杆菌计数与同一样本中菌斑中的致龋菌计数呈高度正相关^[18],并且在一项长达 2 年的跟踪实验中,研究人员发现患龋严重者在最初的筛查中就被认定为乳酸菌计数为相对较高者,换言之,乳酸菌计数与患龋严重程度有着一定的相关性^[19]。所以,他们认为通过检测口腔中无论是菌斑中还是唾液中乳酸杆菌的数量可以成为判断龋病活跃程度的一项指标。

Dentocult LB 法具体操作步骤如下:检测人员进行统一培训,所有操作均由同一检测人员完成;嘱被检测儿童咀嚼预制特定蜡块 30 s,用相同材质口杯收集唾液;将选择性乳酸杆菌培养基薄片置于唾液收集液中,操作要点为该培养基薄片需两面均匀的浸润于收集到的唾液内,使其润湿后将培养基薄片移置特定试管内,平铺(勿使培养基薄片两面触碰试管内壁),封口膜封口,37℃ 恒温培养箱中培养 4 d,观察培养基薄片上粘附的乳酸杆菌菌群集落数及密集度,经对比标准板后明确等级。该法相较 Dentocult SM 法效果并不十分理想,但也可在一定程度上反映个体的龋活跃性。研究表明,乳酸杆菌粘附于牙齿表面的能力低下,牙菌斑中检测到该菌的机会不大。因此,乳杆菌被认为是龋发生发展的主要细菌因素,进而对早期龋检测的准确性相比 MS 略显不足^[20]。然而该法却对受检者开放性龋齿的多少和摄取碳水化合物情况有着一定的预测性,对指导患者重视口腔卫生和控制在高糖食物摄取有着重要的意义^[21]。

2.3 Cariostat 法 龋病是以细菌为主导因素的多因素疾病,龋病的发生依赖于细菌的产酸能力,唾液中的缓冲体系,同时,包括宿主因素、时间因素等都是龋病检测中需要考虑的问题,但细菌仍然被作为主要指标来制定方案。但致龋菌中很多细菌都存在着协同的关系,不是单一菌种就可以决定龋病的发病,因此很多学者开始致力于不仅仅单一检测一个菌种。国内学者通过 SYBR GreenI 模式的实时 PCR 定量检测技术有效反映了口腔微生物群的真实生态数据,在该实验中选取 45 例病例,分为 3 组,分别检测牙菌斑中主要的 4 种致龋菌。包括:MS、远缘链球菌、嗜酸乳杆菌和内氏放线菌,和唾液中主要

的免疫球蛋白[分泌性免疫球蛋白 A(SIgA)],结果表明存在于牙菌斑中的 MS 和嗜酸乳杆菌以及牙菌斑和唾液中同时存在的远缘链球菌的多少与患儿龋失补牙面(decayed-missing-filled surface,dmfs)在 $\alpha = 0.01$ 检验水平呈显著正相关;唾液中的 MS 和牙菌斑中的内氏放线菌的多少与患儿 dmfs 在 $\alpha = 0.05$ 检验水平呈显著正相关;SIgA 与 dmfs 在 $\alpha = 0.01$ 检验水平呈显著负相关。有研究表明,MS 及远缘链球菌是低龄儿童龋病活跃性的良好指标,嗜酸乳杆菌及内氏放线菌特异性则不显著,SIgA 在低龄儿童龋早期防龋效果较明显^[22]。有研究佐证这一实验结果,国内学者发现在龋病严重儿童口腔中可检测到相对较高量的内氏放线菌,提示该菌与儿童龋病的发生紧密相关,其在儿童龋病的发生发展进程中起着至关重要的角色^[23-24]。同时,当 MS 与远缘链球菌共存时,在儿童口腔中龋齿的发生率比单一链球菌定植的发病率约高 5 倍^[25-27]。

龋病的发生是多方面因素导致的,以上检测方法均只检测一种致龋菌的影响,而口腔生态系统是一个极其复杂的环境,单一的菌种并不能完全说明问题。Cariostat 法通过取材个体的牙菌斑,可以较完整的模拟口腔环境,从而更准确的描述个体的患龋风险。国内学者通过龋活跃性试验发现,龋活跃性指数与患龋率和龋均呈正相关,即随着龋活跃性指数的升高,描述龋病情况的各项指标都随之升高,该试验说明该方法中龋活跃性试验值能较好地反映个体龋病患病情况,能够充分体现两者之间的一致性^[28]。Cariostat 法通过比色以显示受检者牙菌斑中这些细菌的产酸能力,从而反映该受检者龋病活跃性程度。

Cariostat 法检测龋病活跃性,主要是通过龋活跃性试验试剂,使取样中的细菌在恒温下培养,让细菌产酸,从而采用显色剂的不同显色得出该样本中细菌产酸的能力及活性,据此推断该样本所有者患龋的风险。其中龋活跃性试验试剂中的主要成分包括胰蛋白胨、迭氮化钠、氯化钠、溴甲酚紫、溴甲酚绿及蔗糖等试剂,待溶液配成后用乳酸调整 pH 值至 6.1,最终试剂呈现蓝色,以备用。细菌的生长离不开碳源、氮源等必须的基本物质,该混合试剂中蔗糖为细菌提供物质能源,使细菌能够模拟体内环境进行继续产酸;胰蛋白胨的使用是为细菌提供一定的氮源;迭氮化钠是一种微生物的呼吸抑制剂,能够有效抑制革兰阴性菌的生长,在菌斑微生物群中,主要利用革兰阳性菌来判定指标,因此该化合物的使用可以提高试验特异性,使检测效果得以增强;溴甲酚绿及溴甲酚紫是一种能够显色明显且均匀的显色剂,使用其可更直观方便地观察到实验结果。该法中的标准试剂盒使得龋活跃性试验操作起来更加简便,成本更加低廉,对于我国目前低龄儿童患龋情况严重,儿童口腔医师大量匮乏的现状有着里程碑似的重要意义^[29]。该法的推广应用可以避免盲目无针对性地对辖区所有幼儿应用同一种防龋措施,从而对龋活跃性试验检测为 2、3 度的患儿采用更为严密的监管,促进家长更加重视患儿的口腔卫生保健。

Cariostat 法具体操作步骤如下:对检测人员进行统一培训,所有操作均由同一检测人员完成;检测可于上午 8:00~9:00 或下午 2:00~3:00 进行,均需禁水禁食 2 h 以上,用消毒棉

棒在受检者固定牙位的唇颊面颈 1/3 处来回擦拭 3 次;将带有附着物的棉棒迅速置于提前准备好的专用 Cariostat 检测液中,于振荡器震荡 1 min(目的是为了棉棒上附着物脱落与溶液接触),放置在 37℃ 恒温箱培养 48 h 后取出并与试剂公司所提供的标准比色板进行比色,最终确认龋活跃度数(10 度深蓝色,pH 为 7.2;1 度绿色,pH 为 5.4;2 度黄绿色,pH 为 4.7;3 度黄色,pH 为 4.2。若标本在比色时,介于 2 种度数之间,以下限为准^[30])。Cariostat 法操作方法简单,结果检出快速,开展方便,人员培训简易,对龋活跃度测试的敏感度高达 98%^[31],且与龋病发生发展相关度高,能够有效稳定地反映个体龋病现状,因此被而被推荐用于幼儿园、学校及特殊人群的患龋情况检测,以有效指导口腔卫生习惯的建立,及时准确的控制龋病的发生。

3 结 语

2005 年进行的第三次全国口腔健康流行病学调查结果显示,当时我国 5 岁儿童乳牙患龋率为 66.0%,龋均为 3.5,未治率经统计高达 97.1%。由于所进食食物含糖量较高且黏性较大,加之儿童还未养成良好的口腔卫生习惯,使得乳牙在萌出后不久即发生龋坏,龋蚀进展速度快,龋齿多发,范围广泛。因此,一种简单有效能够快速筛检龋病高发人群的检测手段就显得尤为重要。龋活跃度试验由此在我国应用,使我国儿童口腔预防工作进入一个新的阶段,使得低龄儿童口腔防治有了针对性和选择性,可对低龄儿童抗龋药物的作用做出评定,并使得医师可以对儿童进行有针对性的口腔卫生指导,加强患儿和患儿家属的口腔疾病防范意识,同时也有助于了解某地区整体儿童龋病的发病情况,为地区口腔龋病的预防提供依据。

龋活性检测结果能较好地反映机体的患龋程度,预测机体的患龋风险。根据检测结果,得知儿童口腔龋活跃性的风险,从而制定复查时间间隔。龋病活跃度检测可以在儿童口腔门诊及幼儿园等群体中发挥积极有效的作用。龋活跃度检测法的开展和应用使得儿童龋病的防治工作无论是在人力还是物力上都能得到有效的节省,将促进临床儿童口腔医务工作者更好地开展龋病预防、促进我国龋病防治工作的进步。

参 考 文 献

- [1] 胡志强,刘梅玲. 3 种龋病活跃度检测方法的初步探讨[J]. 临床合理用药杂志,2012,5(2):94-95.
- [2] 华咏梅,王祝玲,石四箴. 儿童固定矫治中龋病活跃度变化的观察[J]. 中华口腔医学杂志,2001,36(6):411-413.
- [3] Tankkunnasombut S, Youcharoen K, Wisuttisak W, et al. Early colonization of mutans streptococci in 2- to 32-month-old Thai children [J]. *Pediatr Dent*, 2009, 31(1):47-51.
- [4] Wan AK, Seow WK, Walsh LJ, et al. Association of streptococcus mutans infection and oral developmental nodules in pre-dentate infants [J]. *J Dent Res*, 2001, 80(10):1945-1948.
- [5] Law V, Seow WK. A longitudinal controlled study of factors associated with mutans streptococci infection and caries lesion initiation in

- children 21 to 72 months old [J]. *Pediatr Dent*, 2006, 28(1):58-65.
- [6] Thenisch NL, Bachmann LM, Imfeld T, et al. Are mutans streptococci detected in preschool children a reliable predictive factor for dental caries risk? A systematic review [J]. *Caries Res*, 2006, 40(5):366-374.
- [7] Petersson GH, Isberg PE, Twetman S. Caries risk profiles in school-children over 2 years assessed by Cariogram [J]. *Int J Paediatr Dent*, 2010, 20(5):341-346.
- [8] Parisotto TM, Steiner-Oliveira C, Silva CM, et al. Early childhood caries and mutans streptococci: a systematic review [J]. *Oral Health Prev Dent*, 2010, 8(1):59-70.
- [9] Ramamurthy PH, Swamy HS, Bennete F, et al. Relationship between severe-early childhood caries, salivary mutans streptococci, and lactobacilli in preschool children of low Bengaluru city [J]. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 2014, 32(1):44-47.
- [10] 石四箴,梁勤,林芳裕,等. 龋病活跃度与患龋现状关系之研究 Dentocult SM 法的应用 [J]. 上海铁道大学学报, 2000, 21(1):1-4.
- [11] 董艳梅,高学军. 牙菌斑液成分在判断个体龋易感性中的作用 [J]. 中华口腔医学杂志, 2001, 36(4):277-280.
- [12] 邹静,周学东,李少敏. 婴儿口腔早期定植菌群的一年动态观察 [J]. 华西口腔医学杂志, 2004, 22(2):126-128.
- [13] Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Suomalainen T, et al. Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors [J]. *Arch Oral Biol*, 2002, 47(11):799-804.
- [14] Sookkhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W. Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: Inhibition of oral pathogens [J]. *J Appl Microbiol*, 2001, 90(2):172-179.
- [15] 郭军. 龋活跃度检测方法的临床应用进展 [J]. 中国美容医学, 2014, 23(6):512-514.
- [16] Yang R, Argimon S, Li Y, et al. Determining the genetic diversity of lactobacilli from oral cavity [J]. *J Microbiol Methods*, 2010, 82(2):163-169.
- [17] 徐学良,张梅. CRT(R) bacteria 检测龋病活跃性的研究 [J]. 临床口腔医学杂志, 2010, 26(4):200-202.
- [18] Badet C, Thebaud NB. Ecology of lactobacilli in the oral cavity: a review of literature [J]. *Open Microbiol J*, 2008, 2:38-48.
- [19] 徐学良,张梅. CRT bacteria 检测龋病活跃性的研究 [C]//中华口腔医学会牙体牙髓病学专业委员会. 全国第三次牙体牙髓病学临床技术研讨会论文集汇编, 重庆, 2009:200-202.
- [20] Almas K, Alzeid Z. The immediate antimicrobial effect of a toothbrush and miswak on cariogenic bacteria: a clinical study [J]. *J Contemp Dent Pract*, 2004, 5(1):105-114.
- [21] Botha FS, Botha SJ, Kroon J, et al. Carils prediction factors in children with primary dentition [J]. *SADJ*, 2001, 56(8):348-352.
- [22] 张颖. 基于龋病相关因素定量分析的低龄儿童龋直线回归预测模型的研究 [D]. 济南:山东大学, 2013.
- [23] 李明博,仪虹,尹丽雪,等. 唾液中放线菌与儿童龋病相关性的定量检测研究 [J]. 现代口腔医学杂志, 2012, 26(2):76-79.

- from the European Lacidipine Study on Atherosclerosis (ELSA) [J]. *J Hypertens*, 2001, 19(11): 1981 - 1989.
- [29] Segal R, Corrao G, Bombelli M, et al. Blood pressure variability and organ damage in a general population: results from the PAMELA study [J]. *Hypertension*, 2003, 39(2 Pt 2): 710 - 714.
- [30] Rahman M, Griffin V, Heyka R, et al. Diurnal variation of blood pressure; reproducibility and association with left ventricular hypertrophy in hemodialysis patients [J]. *Blood Press Monit*, 2005, 10(1): 25 - 32.
- [31] Sorond FA, Khavari R, Serrador JM, et al. Regional cerebral autoregulation during orthostatic stress: age-related differences [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2005, 60(11): 1484 - 1487.
- [32] Koton S, Tanne D, Bornstein NM, et al. Triggering risk factors for ischemic stroke. A case-crossover study [J]. *Neurology*, 2004, 63(11): 2006 - 2010.
- [33] Jira M, Závodná E, Nováková Z, et al. Reproducibility of blood pressure and inter-beat interval variability in man [J]. *Physiol Res*, 2010, 59 Suppl 1: S113 - S121.
- [34] Gibelin P, Spillner E, Bonnan S, et al. Non-invasive blood pressure variability in chronic heart failure: characteristics and prognostic value [J]. *Arch Mal Coeur Vaiss*, 2003, 96(10): 955 - 960.
- [35] Ingelsson E, Björklund-Bodegård K, Lind L, et al. Diurnal blood pressure pattern and risk of congestive heart failure [J]. *JAMA*, 2006, 295(24): 2859 - 2866.
- [36] Webb AJ, Fischer U, Mehta Z, et al. Effects of antihypertensive-drug class on interindividual variation in blood pressure and risk of stroke: a systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet*, 2010, 375(9718): 906 - 915.
- [37] 王荣, 杨瑞雪, 殷乐, 等. 24 小时动态血压监测高血压患者昼夜血压变异 [J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(2): 353 - 354.
- [38] 李燕. 2014 欧洲高血压学会动态血压监测指南解读 [J]. *中华高血压杂志*, 2015, 23(3): 215 - 216.
- [39] 文佳, 陈轶惰, 李莹, 等. 24h 动态血压在高血压分级和疗效评估中的价值 [J]. *中华高血压杂志*, 2015, 23(10): 926 - 929.
- 收稿日期: 2016 - 08 - 04 修回日期: 2016 - 09 - 06 编辑: 周永彬

(上接第 131 页)

- [24] 梁景平, 姜云涛, 李超伦, 等. 实时 PCR 技术在龋易感儿童牙菌斑致龋菌定量检测中的应用 [J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2007, 27(2): 128 - 132.
- [25] Okada M, Soda Y, Hayashi F, et al. PCR detection of *Streptococcus mutans* and *S. sobrinus* in dental plaque samples from Japanese pre-school children [J]. *J Med Microbiol*, 2002, 51(5): 443 - 447.
- [26] Okada M, Soda Y, Hayashi F, et al. Longitudinal study of dental caries incidence associated with *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in pre-school children [J]. *J Med Microbiol*, 2005, 54(7): 661 - 665.
- [27] De Soet JJ, Toors FA, De Graaff J. Acidogenesis by oral streptococci at different pH values [J]. *Caries Res*, 1989, 23(1): 14 - 17.
- [28] 李姮, 王文梅, 俞少玲, 等. 低龄儿童乳牙龋病流行病学及龋活跃性分析 [J]. *实用口腔医学杂志*, 2011, 27(4): 505 - 507.
- [29] 石四箴. SCAT 检测龋活跃性的研究 [J]. *实用口腔医学杂志*, 2004, 20(5): 594 - 596.
- [30] 石四箴, 陈炼鸳, 下野勉. Cariostat 法采样量与结果关系之研究分析 [J]. *口腔医学*, 1997, 17(4): 169 - 171.
- [31] Koroluk L, Hoover JN, Komiyama K. The sensitivity and specificity of a colorimetric microbiological caries activity test (Cariostat) in pre-school children [J]. *Pediatr Dent*, 1994, 16(4): 276 - 281.
- 收稿日期: 2016 - 08 - 11 修回日期: 2016 - 09 - 18 编辑: 王宇