

**Polimorfisme Gen Scra Streptokokus Mutan Yang Diisolasi Tidak Berhubungan Dengan
Pembentukan Biofilm Pada *Savere Early Childhood Caries (S-ECC)*
(Suatu Tinjauan Artikel)**



UNMAS DENPASAR

**Eko Sri Yuni Astuti
Bagian Ilmu Kedokteran Gigi Anak**

**Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Mahasaraswati Denpasar
2018**

Polimorfisme Gen Scra Streptokokus Mutan Yang Diisolasi Tidak Berhubungan Dengan Pembentukan Biofilm Pada *Savere Early Childhood Caries (S-ECC)* (Suatu Tinjauan Artikel)

Eko Sri Yuni Astuti
pedo_yuni@yahoo.co.id
Bagian Ilmu Kedokteran Gigi Anak
FKG Universitas Mahasaraswati Denpasar

ABSTRAK

Severe early childhood caries (S-ECC) yaitu karies pada anak masa usia 3 tahun. Metabolisme gula dengan pembentukan asam oleh S mutans secara langsung berhubungan dengan perkembangan karies. Gen *scrA* mengkode enzyme II S mutans, sebagai *scrA* yang memainkan peran sentral dalam katabolisme sukrosa. Heterogenitas biofilm streptokokus mutans yang secara klinis diisolasi tidak berhubungan dengan perbedaan genetic diantara gen *scrA*. Tidak ada hubungan antara biofilm dan polimorfisme gen *scrA* dari S Mutan pada S-ECC anak usis 3 tahun.

LATAR BELAKANG

Severe early childhood caries (S-ECC) yaitu karies pada anak masa usia 3 tahun. Umur 3 sampai 5 tahun, terlihat adanya satu atau lebih kavitas, gigi hilang atau permukaan gigi susu anterior yang ditambal, atau skor dmf (decay, missing, filling) lebih atau sama dengan 4 (usia 3 tahun), lebih atau sama dengan 5 (usia 4 tahun), atau lebih atau sama dengan 6 (usia 5 tahun) Bakteri S mutans sebagai agen yang berperan pada mekanisme pathogen karies gigi. Metabolism gula dengan pembentukan asam oleh S mutans secara langsung berhubungan dengan perkembangan karies.

Pada proses metabolisme, sukrosa diubah oleh phosphoenolpyruvat pada system sugar phophotransferase (PTS). Masing-masing PTS terdiri dari 3 unsur pokok, yaitu enzyme I (EI), a heat-stable protein (HPr) dan enzyme II (EII). Gen *scrA* mengkode enzyme II S mutans. Regulasi dari ekspresi dan aktifitas EIIscr memainkan peran penting pada kemampuan S mutans mendemineralisasi gigi. Suatu untaian regulasi baru telah dilaporkan bahwa *scrA* sebagai peran sentral untuk kontrol katabolisme sukrosa.

Sebagai *scrA* yang memainkan peran sentral dalam katabolisme sukrosa, dapat disusun hipotesis bahwa mungkin terjadi polimorfisme genetik pada strain klinis *S* mutans yang berpengaruh pada kemampuan membentuk biofilm.

Untuk menggali dan menganalisa hubungan biofilm dan polimorfisme gen *scrA* dari Enzyme II *scr* yang ditemukan dalam isolasi klinis *S* Mutans dari *severe early childhood caries* (*S-ECC*), karies pada anak masa usia dini, yaitu usia 3 tahun.

METODE

Strain *S* Mutans yang diawetkan dari studi sebelumnya, 30 strain *S* Mutans dari grup *S-ECC* dan 30 strain *S* Mutans dari grup bebas karies diseleksi. *Biomass* dan kelangsungan hidup biofilm yang terbentuk dari strain-strain dievaluasi dengan crystal violet and alamar blue assay. DNA diekstraksi dari isolasi *S* mutans. PCR dilakukan untuk menjelaskan gen *scrA*. Setelah dibersihkan dan sequence produk PCR, BioEdit software digunakan untuk menganalisa sequence hasil. Uji Chi-square digunakan untuk membandingkan hasil-hasil.

Table 1 Primer sequence used for detection of of *scrA* gene in *S.* mutans

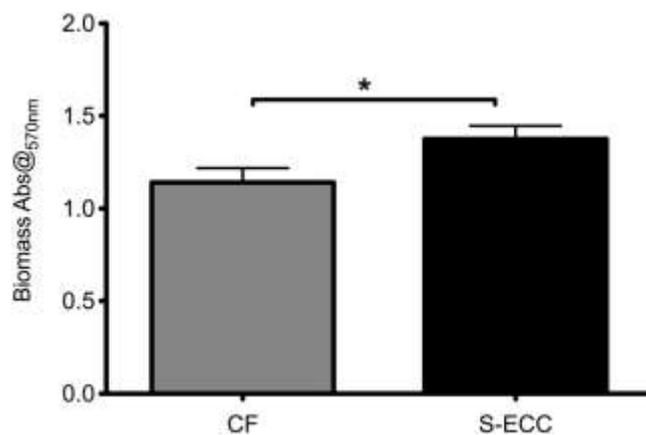
Name	Sequence	Product length
1F	5'-CTTGATAGCGGCGATATCTG-3'	
1R	5'-TTAAGAGACCGCCTGCTACC-3'	616
2F	5'-ATTGCTGCCAGTGGTAAAAAG-3'	
2R	5'-CTGCTGAGGGCAATCTCTTATG-3'	522
3F	5'-AATATTTTTGGGTTGCATGTTAC-3'	
3R	5'-GCACTAGCTGAGCCAATCAGA-3'	589
4F	5'-GCAGCAACCTTTGCAATTTAC-3'	
4R	5'-TCAACCGGTGCATAAACTGT-3'	574
5F	5'-ATGAAGTTCTTGCGGCTCCT-3'	
5R	5'-GCCAAAAGGCTTTAATACTATTGT-3'	532

HASIL

Dibandingkan dengan grup bebas karies, biomass S-ECC lebih tinggi ($p=0,0424$). Namun demikian, kelangsungan hidup kedua grup menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna. Semua 60 strain S Mutans yang diisolasi mempunyai 1995 basepair gen *scrA*. 49 titik mutasi diidentifikasi pada *scrA* dari 60 strain yang diisolasi klinis.

Ada 17 *missense point* mutasi pada posisi pasangan 10, 65, 103, 284, 289, 925, 1444, 1487, 1494, 1508, 1553, 1576, 1786, 1822, 1863, 1886, and 1925.

32 mutasi yang lain merupakan *silent point mutations*. Tidak ada posisi yang ditemukan pada sisi aktif dari *scrA*. Analisa statistic menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan rata-rata mutasi *missense* antar 2 group.



Hasil *biomass* yang diisolasi dari grup S-ECC lebih tinggi daripada grup bebas karies (CF)

PEMBAHASAN

Pada S mutans, sukrosa dapat diinternalisasi oleh berbagai enzim. Enzim-enzim adalah PTS, sistem *multiple-sugar metabolism (Msm)* dan *maltose/maltodextrin ATP-binding cassette transporter*. Zeng dkk memanipulasi beberapa mutans yang kekurangan satu atau dua *sucrolytic pathways* untuk menggali mekanisme katabolisme sukrosa. Hasil menunjukkan gen *scrA* sebagai peran sentral pada regulasi metabolisme eksopolisakarida.

Studi baru-baru ini menunjukkan semua yang diisolasi dapat membentuk biofilm pada 1% sukrosa, dan sukrosa mempunyai peran penting pada pembentukan biofilm.

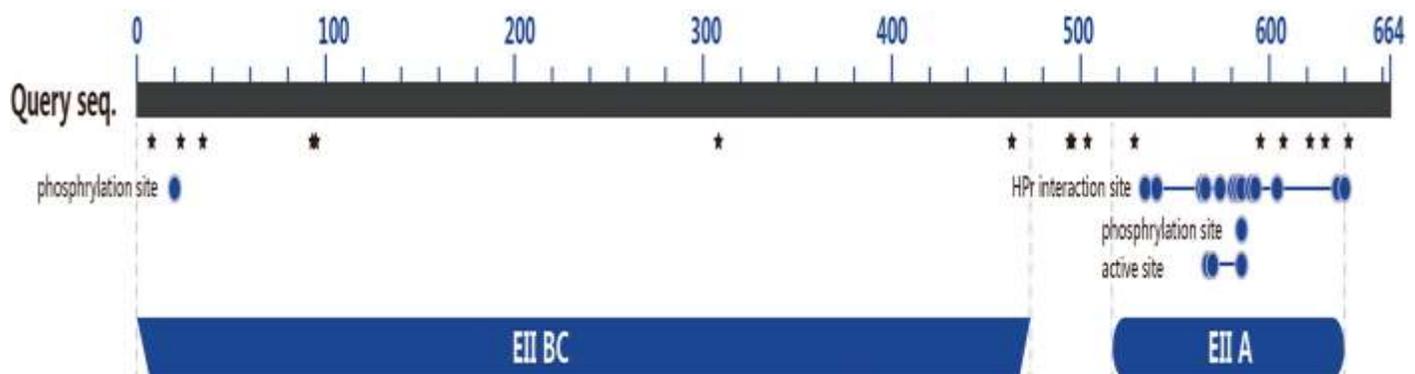
Hasil menunjukkan grup S-ECC mempunyai kemampuan membentuk biofilm yang lebih tinggi, Biofilm yang masak tersusun dari bakteri dan matriks ekstraseluler.

Bakteri pada matriks ekstraseluler merupakan suatu factor yang menentukan virulensi S muatans biofilm. Hasil-hasil sesuai dengan penelitian sebelumnya, mendukung gagasan bahwa perbedaan pembentukan biofilm dari S mutans yang diisolasi dari anak-anak mempunyai implikasi penting dalam pengertian perbedaan kemampuan kariogenik.

Selanjutnya, mekanisme dari perbedaan pembentukan biofilm diantara yang diisolasi dipelajari dengan sequencing gen *scrA*. Gen *scrA* memegang peran yang sangat krusial dalam metabolisme sukrosa. Hasil sequencing menunjukkan seluruh strain S mutans mempunyai gen *scrA*, dan mereka mempunyai titik mutasi. Meskipun demikian kecepatan *missense mutation* diantara dua grup menyatakan tidak ada perbedaan yang signifikan. Diantara 17 posisi *missense point mutation*, tidak ada posisi lokasi sisi aktifitas enzim dari gen *scrA*.

Gen-gen S mutans mengkode sebanyak 15 EII *permeases* dalam beberapa strain. EII *permeases* terdiri dari domain-domain yang berbeda, yaitu domain A,B,C,D. Hampir semua strain S mutans mempunyai *permeases*, tetapi beberapa strain mempunyai sedikit *permeases*.

Dilaporkan suatu penggunaan baru sukrosa yang berhubungan dengan sistem biotransport PTS. Lebih dulu ada fakta karbohidrat ditranspor melalui aktifitas PTS, banyak enzim yang terlibat pada pembentukan biofilm oleh S mutans. Keberhasilan pembentukan biofilm oleh S muatns pada permukaan gigi sangat berhubungan dengan aktifitas glukosiltransferase (GTFs). Sebagai tambahan enzim fruktosiltransferase (FTF) memproduksi fruktan dari sukrosa, yang menyajikan penyimpanan polimer ekstraseluler.



Gambar 2

Sketsa yang menggambarkan i) sisi aktif ; ii) sisi fosforilasi ; iii) sisi interaksi Hpr ; iv) domain perbedaan (EIIA, EIIB, EIIC) dari UA 159 (titik biru). *Missense mutation* (bintang hitam). Kami menemukan tidak terlokalisir pada domain spesifik di atas.

Tabel 2 Transversi asam amino yang berhubungan dengan *missense mutation* codon –codon (Transversion of amino acid due to missense mutations according to codons)

Base site	UA159		Clinical isolates	
	Codon	Amino acid	Codon	Amino acid
10	AGC	serine	GGC	glycin
65	GCC	alanine	GTC	vlaine
103	GAT	asparagine	AAT	asparagine
284	GCC	alanine	GTC	vlaine
289	GGT	glycin	AGT	serine
925	ACA	threonine	GCA	alanine
1444	GTC	vlaine	ATC	isoleucine
1487	GTG	vlaine	GCG	alanine
1494	GAA	glutamic acid	GAT	asparagine
1508	GCT	alanine	GTT	vlaine
1553	GCG	alanine	GTG	vlaine
1576	GTT	vlaine	ATT	isoleucine
1786	AAA	lysine	GAA	glutamic acid
1822	ATT	isoleucine	GTT	vlaine
1863	AAA	lysine	AAG	lysine
1886	AAT	asparagine	AGT	serine
1925	GCG	alanine	GTG	vlaine

Table 3 Analisa dari *missense mutation* dalam hubungan dengan status karies (Analysis of the missense mutation rates in relation to caries status)

Codon	S-ECC (n)	CF (n)	x2	P- values
10 A → Ga	28	28	—	1.000*
65 C →T	2	0	—	0.492*
103 G →A	1	0	—	1.000*
284 C →T	1	1	—	1.000*
289 G →A	1	0	—	1.000*
925 A → G	5	7	0.417	0.519
1444 G →A	2	0	—	0.492*
1487 T → C	20	21	0.077	0.781
1494 A →T	1	1	—	1.000*
1508 C →T	3	1	—	0.612*
1553 C →T	1	1	—	1.000*
1576 G →A	1	1	—	1.000*
1786 A →G	1	1	—	1.000*
1822 A →G	28	24	—	0.254*
1863 A →G	28	24	—	0.254*
1886 A →G	1	1	—	1.000*
1925 C →T	1	0	—	1.000*

* A tes chi-square (* A chi-square test)

^aA → G, A mewakili 10 *locus base* dalam UA159, G mewakili 10 *locus base* dalam strain klinis.

KESIMPULAN

Heterogenitas biofilm streptokokus mutans yang secara klinis diisolasi tidak berhubungan dengan perbedaan genetic diantara gen *scrA*. Tidak ada hubungan antara biofilm dan polimorfisme gen *scrA* dari S Mutan pada S-ECC anak usis 3 tahun.

REFERENSI

1. Yan Zhou^{1,2†}, Lixia Yu^{1,2†}, Ye Tao^{1,2}, Qinghui Zhi^{1,2} and Huancai Lin^{1,2*}. Genetic polymorphism of scrA gene of Streptococcus mutans isolates is not associated with biofilm formation in severe early childhood caries. *BMC Oral Health* (2017) 17:114
2. Yan Zhou, Lixia Yu, Ye Tao, Qinghui Zhi and Huancai Lin. Relationship between the genetic polymorphisms of vicR and vicK Streptococcus mutans genes and early childhood caries in two-year-old children. *BMC Oral Health* (2018) 18:39
3. Li Xia Yu, Ye Tao, Rong Min Qiu, Yan Zhou, Qing Hui Zhi and Huan Cai Lin. Genetic polymorphisms of the sortase A gene and social-behavioural factors associated with caries in children: a case – control study. *BMC Oral Health* (2015) 15:54