

치태형성 억제세균의 분리

양규호, 박진경*, 정진**, 오종석***

전남대학교 치과대학 소아치과학교실, 전남과학대학 치위생과*,
부산대학교 치과대학 미생물학교실**, 전남대학교 의과대학 미생물학교실***

국문초록

치태의 주요성분인 비수용성 글루캔의 형성을 억제시키는 세균을 분리하기 위하여 유치원 원아 만여 명으로부터 타액을 채취하였다. 일회용 큐벳을 사용하여 비수용성 글루캔의 형성을 억제시킨 세균을 분리하였다. 분리된 세균을 그람 염색과 API 20S kit와 API 50 CHL kit를 사용하여 당발효 및 생화학적 특성을 검사한 결과, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mitior*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis*로 동정되었다. 비수용성 글루캔 형성 억제 정도를 판정하기 위하여 일회용 큐벳에서 *S. mutans* 단독 배양시에는 550nm에서의 흡광도가 1.503이었으나, *S. mutans* 와 *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mitior*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* 혼합 배양시에는 각각의 흡광도가 0.823, 0.912, 0.894, 0.878, 0.753, 0.845, 1.021로 감소되었다.

주요어 : 불용성 글루캔, *Streptococcus mutans*

I. 서 론

구강에는 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) 등에 의해 치아 표면에 치태 (dental plaque)가 쌓인다. 치태의 주성분인 글루캔 (glucan)은 그람 양성균인 *S. mutans* 가 분비하는 glucosyltransferase (GTF)에 의해 자당 (sucrose)이 포도당 (glucose) 복합체로 합성된 것으로, 수용성인 글루캔과 비수용성인 글루캔 즉 뮤坦 (mutan)으로 구성되어 있다^{1,2)}. 수용성인 글루캔은 주로 α -1,6 결합을 갖고 있으나, 비수용성인 글루캔, 즉 뮤坦은 주로 α -1,3 결합을 갖고 있다.

*S. mutans*는 사람에서 치아우식증을 일으키는 중

요한 원인균으로 알려져 있다. *S. mutans* 균주는 8개의 혈청형 (a-h)으로 나뉘고 이중에서 혈청형 c가 전 세계적으로 가장 많이 분리되고 있다³⁾. 자당이 함유된 음식을 먹인 실험동물의 구강에 *S. mutans*을 접종 하였을 때 치아우식증이 심하게 발생하였는데, 이것은 치아에 *S. mutans*가 증가하여 산이 많이 생성되기 때문이다. *S. mutans*는 이 과정 중에 자당으로부터 세포외 다당류인 글루캔과 프럭тан (fructan)을 합성한다⁴⁾. 비수용성 글루캔인 뮤坦은 치아표면에 *S. mutans* 외에 다른 세균들의 증식을 촉진시키며, 수용성 글루캔이나 프럭тан은 세균의 세포외 에너지 공급원이 되고 있다. 세포외 글루캔은 *S. mutans* 외에도 다른

본 연구는 1997년도 교육부 학술연구조성비 (기초의학 BM 97-L14)에 의하여 연구되었음

Streptococcus species, *Lactobacillus* species와 같은 세균에 의해 형성되는데, 이들 세균이 치아 표면에 부착하여 치태를 형성하는데 기여하고 있다^{5,7)}.

구강에 이러한 치태를 형성하는 세균들만 있다면 모든 사람의 치아에는 치태가 계속 쌓여서 치아우식증이나 치주질환 등으로 인하여 치아가 손상되어 건강한 생활을 하는데 많은 장애가 될 것으로 생각된다. 그러나 세상이 계속적으로 유지되기 위해서는 세상에 존재하는 물질들이 서로 균형을 유지해야 하듯이 구강에서도 치태를 형성하는 세균들이 있으면 반대로 그러한 치태의 형성을 억제하는 세균들이 존재해야만 할 것이다.

본 연구에서는 구강내에 정상적으로 존재하는 세균중에서 *S. mutans*에 의한 치태 형성을 억제하는 세균을 소아의 타액으로부터 분리 동정하였다.

II. 재료 및 방법

1. 세균의 분리 및 배양

구강내 세균을 얻기 위하여 유치원 원아 만여명으로부터 타액을 채취하였다. 타액은 식염수로 10^4 배 회석하여 brain heart infusion agar (BHI agar, Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하였다. 2일 후 배지상에 자란 세균 접락을 brain heart infusion broth (BHI broth, Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하였다. 여기서 자란 세균 배양액 50 μ l와 *S. mutans* (Ingbritt strain) 배양액 50 μ l를 0.5% 효모추출물과 5% 자당이 첨가된 BHI broth (BHIYS broth) 3ml에 접종하였다. 이것을 일회용 큐벳에 넣고 TES (Sigma, St. Louis, MO, USA) buffer 농도가 0.1M이 되도록 조정하였다. 대조군은 *S. mutans* 배양액만 접종하였다. 이것을 탄산가스 배양기안에 수평면에 대하여 30° 각도로 설치하고 37°C에서 2일간 배양하였다. 내용물을 제거하고 4ml의 증류수로 세척하고 3ml의 증류수를 가하여 분광광도계 550nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 대조군에 비교하여 흡광도가 낮은 세균 즉 비수용성 글루캔의 형성을 억제시킨 세균을 분리하였다.

2. 당발효 검사 및 생화학적 검사에 의한 세균의 동정

분리된 세균을 그람 염색하고 API 20S kit를 사용하여 당발효 및 생화학적 특성을 검사하였다. 방법을 간기하면 단일 접락만을 증류수에 혼탁해서 BHI agar 상에서 37°C, 24시간 배양하였다. 멸균된 면봉으로 증식된 세균을 취해서 증류수에 혼탁하여 Macfarland scale #5로 조정하였는데, 이는 분광광도계 550 nm에서의 흡광도 1.5와 같았다. 세균의 탁도를 조정한 후 API 20S kit와 API 50 CHL kit (BioMerieux, Marcy l'Etoile, France)에 세균액을 접종하고 37°C에서 4시간 배양하였다. 반응액을 점가해서 기질의 색깔 변화와 당의 산성화를 관찰하였다. 정확한 동정을 위해 24시간 후 재판독하였다.

3. 일회용 큐벳에서의 비수용성 글루캔 형성 억제 실험

0.1M TES를 가한 BHIYS broth 3ml를 일회용 큐벳에 넣고 50 μ l의 분리세균 배양액과 50 μ l의 *S. mutans* 배양액을 접종하였다. 유산균의 경우는 배양액을 BHIYS broth와 0.5% 효모추출물과 5% 자당이 첨가된 MRS broth (Difco, Detroit, MI, USA)를 각각 절반씩 섞고 TES buffer 농도가 0.1M이 되도록 하였다. 대조군은 *S. mutans* 배양액만 접종하였다. 이것을 탄산가스 배양기안에 수평면에 대하여 30° 각도로 설치하고 37°C에서 2일간 배양하였다. 내용물을 제거하고 4ml의 증류수로 세척하고 3ml의 증류수를 가하여 분광광도계 550nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이것을 3회 반복하여 평균을 구하였다.

III. 성 적

1. 비수용성 글루캔 형성을 억제하는 세균의 당발효 및 생화학적인 특성

일회용 큐벳에서 비수용성 글루캔 형성을 억제하는 세균을 분리하여 그람 염색하여 그람 양성인 연쇄상 형태의 구균은 API 20S kit를 사용하여 당발효 및 생화학적 특성을 검사한 결과, *Streptococcus oralis*,

Streptococcus mitis, *Streptococcus mitior*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis*로 판정되었다 (Table 1 and 2). 그림 염색하여 그림 양성 간균은 API 50 CHL kit를 사용하여 당발효 검사를 한 결과, *Lactobacillus acidophilus*로 판정되었다 (Table 3).

2. 일회용 큐벳에서의 비수용성 글루캔 형성 억제 시험

일회용 큐벳에서 *S. mutans* 단독 배양시에는 550 nm에서의 흡광도가 1.503이었으나, *S. mutans* 와 *Streptococcus oralis* 혼합 배양시에는 흡광도가 0.823으로 감소되었다 (Fig. 1). *S. mutans* 와 *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mitior*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* 혼합 배양시에는 각각의 흡광도가 0.912, 0.894, 0.878, 0.753, 0.845, 1.021로 감소되었다 (Table 4).

Table 1. Carbohydrate fermentation of isolated *Streptococcus*, *Enterococcus*, and *Lactococcus*

	<i>S. oralis</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. minor</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>E. durans</i>	<i>L. lactis</i>
Ribose	-	-	-	-	+	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-
Lactose	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	-	-	+	+	+
Inulin	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-
Starch	+	+	-	-	+	-
Glycogen	-	-	-	-	-	-

IV. 총괄 및 고찰

치아우식증의 주요 원인균인 *S. mutans*는 치아의 저류 (retentive) 부위에 군락을 잘 형성하나 구강의 접막에서는 별로 볼 수 없다. 즉 이 세균은 증식하여 군락을 형성하려면 치아가 있어야 한다. 따라서 치아가 미맹출된 유아의 구강에서는 *S. mutans*가 발견되지 않고 치아가 전부 벌거된 구강에서도 *S. mutans*

Table 2. Biochemical characteristics of isolated *Streptococcus*, *Enterococcus*, and *Lactococcus*

	<i>S. oralis</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. minor</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>E. durans</i>	<i>L. lactis</i>
VP	-	-	-	-	-	+
HIP	-	-	-	-	-	+
ESC	-	-	-	-	-	+
PYRA	-	-	-	-	-	+
α GAL	-	-	-	-	+	-
β GUR	-	-	-	-	-	-
β GAL	-	-	-	-	-	+
PAL	+	-	+	+	+	-
LAP	+	+	+	+	+	+
ADH	-	-	-	+	+	-

VP : Acetoin production

ESC : β -glucosidase

α GAL : α -galactosidase

β GAL : β -galactosidase

LAP : Leucine arylamidase

HIP : Hippurate hydrolysis

PYRA : Pyrrolidonylarylamidase

β GUR : β -glucuronidase

PAL : Alkaline phosphatase

ADH : Arginin dehydrolase

Table 3. Carbohydrate fermentation of isolated *Lactobacillus acidophilus*

Carbohydrate	Catalytic Reaction
Galactose, Glucose, Fructose, Mannose, N-Acetyl-Glucosamine, Esculin, Cellobiose, Maltose, Lactose, Saccharose, Trehalose, Amidon, Glycogen	Positive
Glycerol, Erythritol, D-Arabinose, L-Arabinose, Ribose, D-Xylose, L-Xylose, Adonitol, β -Methyl-Xyloside, Sorbose, Rhamnose, Dulcitol, Inositol, Mannitol, Sorbitol, α -Methyl-D-Mannoside, α -Methyl-D-Glucoside, Amygdaline, Arbutine, Salicin, Melibiose, Inuline, Melezitose, Raffinose, Xylitol, Gentiobiose, D-Turanose, D-Lyxose, D-Tagatose, D-Fucose, L-Fucose, D-Arabitol, L-Arabitol, Gluconate, 2-Keto-Gluconate, 5-Keto-Gluconate	Negative



Fig. 1. Effect of *Lactococcus lactis* on the production of insoluble glucan by *Streptococcus mutans*. *Lactococcus lactis* inhibited the production of insoluble glucan by *Streptococcus mutans* in the disposable cuvette (B), compared with the control contained *Streptococcus mutans* only (A). *Lactococcus lactis* produced small amount of glucan (C). The BHI broth containing 0.5% yeast extract and 5% sucrose was inoculated with bacteria, and incubated at 37°C for 2 days, placing 30° angle to horizontal plane.

는 사라진다. 유아에 감염되는 *S. mutans*의 주요한 균원은 유아의 어머니로 생각되고 있으며 어머니 구강내에 있는 *S. mutans* 숫자를 감소시키면 유아가 *S. mutans*를 갖게되는 속도와 정도를 감소시킬 수 있음이 보고되었다⁸⁾. *S. mutans*는 세균 외부로 glucosyl-transferase를 분비하여 자당으로부터 점착성의 비수용성 다당류인 글루캔을 합성한다. 이 글루캔은 치태의 기본성분이 되어 *S. mutans*의 글루캔 수용체와 결합하여 *S. mutans*가 치아 표면에 부착되도록 도와준다. 치태내의 *S. mutans*는 탄수화물의 대사과정을 통하여 다양한 유산을 생성하여 치아 표면을 탈회시켜 치아우식증을 유발한다⁹⁾.

이러한 *S. mutans*에 의한 치아우식증을 예방하기 위하여 chlorhexidine이나 iodine과 같은 소독제의 침면 도포, chlorhexidine 양치, 경구용 penicillin요법, vancomycin과 kanamycin의 국소도포, 불소함유제의 도포 및 양치 등이 연구되어 왔으나¹⁰⁻²⁰⁾, 장기적인 효과는 기대할 수 없었다. 더구나 이러한 방법들은 구강내 모든 세균들의 증식을 억제하여 치태를 형성하는 *S. mutans*를 억제하는 세균들도 억제할 것으로 사료된다. 정상적으로 존재하는 구강내 상주균을 이용하여 *S. mutans*의 증식을 억제하거나 *S. mutans*

Table 4. Inhibitory activity of isolated bacteria on the production of water-insoluble glucan in disposable cuvette

Test bacterial strains	Optical density at 550nm
<i>S. mutans</i>	1.503
<i>S. oralis</i> + <i>S. mutans</i>	0.823
<i>S. mitis</i> + <i>S. mutans</i>	0.912
<i>S. mitior</i> + <i>S. mutans</i>	0.894
<i>S. sanguis</i> + <i>S. mutans</i>	0.878
<i>E. durans</i> + <i>S. mutans</i>	0.753
<i>L. lactis</i> + <i>S. mutans</i>	0.845
<i>L. acidophilus</i> + <i>S. mutans</i>	1.021

에 의한 치태 형성을 억제하는 것이 자연스러운 방법일 것이다. 본 연구에서 아동들의 구강으로부터 정상 세균을 분리하여 일회용 큐벳에서의 비수용성 글루캔 형성을 억제하는 세균들을 분리하여 동정하였다. 일회용 큐벳에서 *S. mutans* 단독 배양시에는 550nm에서의 흡광도가 1.503이었으나, *S. mutans*와 *Streptococcus oralis* 혼합 배양시에는 흡광도가 0.823으로 감소되었다. *S. mutans*와 *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mitior*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* 혼합 배양시에는 각각의 흡광도가 0.912, 0.894, 0.878, 0.753, 0.845, 1.021로 감소되었다 (Table 4). 이와 같은 결과는 이러한 세균들이 *S. mutans*의 인공 치태 형성을 억제하기 때문인 것으로 사료된다.

과산화수소를 분비하는 연쇄상구균은 구강내의 주요한 정상 세균이다. 구강내에는 *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitior*와 같은 세균들이 과산화수소를 분비하는 세균들로 *S. mutans*와 혼합배양시 *S. mutans*를 억제함이 보고되었다²¹⁻²³⁾. 이러한 세균들은 과산화수소를 분비하여 *S. mutans*의 증식을 억제함으로써 비수용성 글루캔 형성을 억제하는 것으로 사료된다. *Enterococcus durans*는 연쇄상구균속으로 분류되었으나, 요사이에는 독립된 속으로 분류되고 있다. 대부분의 장구균 (*Enterococcus*)은 병원성 세균으로 문제시 되고 있으나, 장구균은 인체에서 정상적으로 존재하며 특히 구강의 치은 열구에 잘 생존한다. 장구균중 *Enterococcus durans*는 구미에서 옛날부터 유산균 식품에 사용되는 비병원성 세균으로 간주되어 왔다. Brock 등²⁴⁾과 Jackson²⁵⁾은 *Enterococcus faecalis*의 bacteriocin이 많은 종류의

그럼 양성 구균에 대해 항균작용을 나타낸다고 보고 하였으며, Jett와 Gilmore²⁶는 *Enterococcus faecalis*에 의해 분비된 bacteriocin에 의해 *Streptococcus sorbinus*를 제외한 구강내 모든 streptococci가 억제됨으로써 구강내 미생물 생태계가 변화될 수 있다고 하였다. 또한 이 bacteriocin은 약 60 kb의 plasmid에 의해 만들어진다고 하였다. Hillman과 Socransky²⁷는 *Enterococcus faecalis*가 생산하는 bacteriocin이 치아우식증을 일으키는 streptococci를 억제하기 때문에 치아우식증 예방을 위한 대치 세균으로서 가치가 있다고 하였다. *Lactococcus lactis*는 *S. mutans*를 억제할 수 있는 과산화수소나 bacteriocin을 생산하지 않음에도 불구하고 *S. mutans*에 의한 비수용성 글루캔의 형성을 억제하는 것을 보아 글루캔 형성에 관여하는 glucosyltransferase에 작용할 것으로 생각되는데 추후 연구할 예정이다. *Lactobacillus acidophilus*의 비수용성 글루캔 형성 억제작용은 *Lactobacillus*가 분비하는 bacteriocin에 의하는 것으로 생각된다.

V. 결 론

치태의 주요성분인 비수용성 글루캔의 형성을 억제시키는 세균을 분리하기 위하여 유치원 원아 만여 명으로 부터 타액을 채취하였다. 일회용 큐벳을 사용하여 비수용성 글루캔의 형성을 억제시킨 세균을 분리하였다. 분리된 세균을 그람 염색과 API 20S kit와 API 50 CHL kit를 사용하여 당발효 및 생화학적 특성을 검사한 결과, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mitior*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*로 동정되었다. 비수용성 글루캔 형성 억제 정도를 판정하기 위하여 일회용 큐벳에서 *S. mutans* 단독 배양 시에는 550nm에서의 흡광도가 1.503이었으나, *S. mutans*와 *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mitior*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*와의 혼합 배양 시에는 각각의 흡광도가 0.823, 0.912, 0.894, 0.878, 0.753, 0.845, 1.021로 감소되었다.

참 고 문 헌

- McDougall WA : Studies on the dental

- plaque. I. The histology of the dental plaque and its attachment. Aust Dent J 8:261-273, 1963.
- Dewar MG, Walker GJ : Metabolism of the polysaccharides of human dental plaque. Caries Res 9:21-35, 1975.
- Hamada S, Slade HD : Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev 44:331-384, 1980.
- Guggenheim B : Extracellular polysaccharides and microbial plaque. Int Dent J 20:657-678, 1970.
- Gibbons RJ, Banghart SB : Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human dental plaque. Archs Oral Biol 12:11-24, 1967.
- Gibbons RJ, van Houte J : Bacterial adherence in oral microbial ecology. Ann Rev Microbiol 29:19-44, 1975.
- Hammond BF : Dextran production by a human oral strain of *Lactobacillus casei*. Archs Oral Biol 14:879-890, 1969.
- Kohler B, Bratthall D, Krasse B : Preventive measures in mothers influence the establishment of the bacterium *Streptococcus mutans* in their infants. Archs Oral Biol 28:225-231, 1983.
- Tanzer JM : Contemporary oral microbiology and immunology. Mosby. St Louis. 377-424, 1992.
- Emilson CG : Effect of chlorhexidine gel treatment on *Streptococcus mutans* population in human saliva and dental plaque. Scand. J Dent Res 89:239-246, 1981.
- Caufield PW, Gibbons RJ : Suppression of *Streptococcus mutans* in the mouths of humans by a dental prophylaxis and topically-applied iodine. J Dent Res 58:1317-1326, 1979.
- Schaeken MJM, de Haan P : Effects of sustained-release chlorhexidine acetate on the human dental plaque flora. J Dent Res

- 68:119-123, 1989.
13. Mikkelsen L, Jensen SB, Schiøtt CR, Löe H : Classification and prevalences of plaque streptococci after two years oral use of chlorhexidine. J Periodont Res 16:645-658, 1981.
 14. Maltz M, Zickert I : Effect of penicillin on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and lactobacilli in hamsters and in man. Scand J Dent Res 90:193-199, 1982.
 15. DePaola PF, Jordan H., Berg J : Temporary suppression of *Streptococcus mutans* in humans through topical application of vancomycin. J Dent Res 53:108-114, 1974.
 16. Jordan HV, Depaola PF : Effect of a topically applied 3% vancomycin gel on *Streptococcus mutans* on different tooth surfaces. J Dent Res 53:115-120, 1974.
 17. Jordan HV, Depaola PF : Effect of a prolonged application of vancomycin on human oral *Streptococcus mutans* populations. Arch Oral Biol 22:193-197, 1977.
 18. Depaola PF, Jordan HV, Soparkar PM : Inhibition of dental caries in school children by topically applied vancomycin. Arch Oral Biol 22:187-191, 1977.
 19. Loesche WJ, Bradbury DR, Woolfolk MP : Reduction of dental decay in rampant caries individuals following short-term kanamycin treatment. J Dent Res 56:254-265, 1977.
 20. Woods R : The short-term effect of topical fluoride applications on the concentration of *Streptococcus mutans* in dental plaque. Aust Dent J 16:152-155, 1971.
 21. Lumikari M, Soukka T, Nurmio S, Tenovuo J : Inhibition of the growth of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Lactobacillus casei* by oral peroxidase system in human saliva. Arch Oral Biol 36:155-160, 1991.
 22. Thomas EL, Pera KA, Smith KW, Chwang AK : Inhibition of *Streptococcus mutans* by the lactoperoxidase antimicrobial system. Infect Immun 39:767-778, 1983.
 23. Van der Hoeven JS, Camp PJM : Mixed continuous cultures of *Streptococcus mutans* with *Streptococcus sanguis* or with *Streptococcus oralis* as a model to study the ecological effects of the lactoperoxidase system. Caries Res 27:26-30, 1993.
 24. Brock TD, Peacher B, Pierson D : Survey of the bacteriocines of enterococci. J Bacteriol 86:702-707, 1963.
 25. Jackson RW : Bacteriolysis and inhibition of Gram-positive bacteria by components of *Streptococcus zymogenes* lysin. J Bacteriol 105:156-159, 1971.
 26. Jett BD, Gilmore MS : The growth-inhibitory effect of the *Enterococcus faecalis* bacteriocin encoded by pAD1 extends to the oral streptococci. J Dent Res 69:1640-1645, 1990.
 27. Hillman JD, Socransky SS : Replacement therapy for the prevention of dental disease. Adv Dent Res 1:119-125, 1987.

Abstract

ISOLATION OF THE BACTERIA INHIBITING THE FORMATION OF PLAQUE

Kyu-Ho Yang, Jin-Kyung Park*, Jin-Chung**, Jong-Suk Oh***

Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Chonnam National University,

Department of Dental hygiene, Chunnam Techno College,*

*Department of Microbiology, College of Dentistry, Pusan National University**,*

*and Department of Microbiology, Medical school, Chonnam National University****

The insoluble glucan is the major substance of dental plaque. In order to isolate the bacteria inhibiting the formation of insoluble glucan in disposable cuvette, saliva was got from about 10 thousand children. The isolated bacteria were tested by API 20S kit and API 50 CHL kit. These bactreia were identified as *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mitior*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis*, and *Lactobacillus acidophilus*. When *Streptococcus mutans* was cultured with *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mitior*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus durans*, *Lactococcus lactis*, or *Lactobacillus acidophilus* in disposable cuvette, the optical density at 550 nm was 0.823, 0.912, 0.894, 0.878, 0.753, 0.845, 1.021 respectively, while being 1.503 in the disposable cuvette culturing *Streptococcus mutans* only.

Key word : insoluble glucan, *Streptococcus mutans*