

Fructan 생성 *S. salivarius* 의 인공치태 억제효과

박소영 · 박은혜 · 오종석* · 양규호

전남대학교 치과대학 소아치과학교실 및 치의학 연구소, 전남대학교 의과대학 미생물학교실*

국문초록

구강 질환으로 중요한 치아우식증은 구강 세균 중 *Streptococcus mutans*가 주 원인균이며, 치면에 부착, 증식 및 산생성 과정을 거쳐 치아우식을 유발한다. *Streptococcus salivarius*는 사람의 구강에 정상적으로 존재하는 세균이다. 본 연구에서는 소아의 구강으로부터 분리된 9주의 *S. salivarius*의 특성과 *S. mutans* 및 *Streptococcus oralis*에 대한 영향을 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 비커 와이어 검사에서 *S. mutans* 배양시 형성된 인공치태 무게는 204.9 mg이었으나, *S. mutans*와 분리된 *S. salivarius*의 혼합 배양시 형성된 인공치태 무게는 1.9 mg에서 20.6 mg으로 *S. mutans* 단독 배양시와 큰 차이가 있었다 ($p < 0.05$). 배양 후 생균수 검사에서는 큰 차이가 없었다.
2. M17 액체배지에서 배양된 분리균주의 배양 상청액을 가한 비커 와이어 검사에서 형성된 인공치태 무게는 평균 117.1 mg인데 반해, 5% 자당이 함유된 M17 액체배지에서 배양된 분리균주 배양 상청액을 가한 비커 와이어 검사에서는 평균 47.7 mg이었다.
3. 분리된 *S. salivarius*의 배양 상청액을 thin layer chromatography를 실시한 결과, 분리균주가 형성한 중합체는 프럭탄(fructan)이었다.
4. 비커 와이어 검사에서 프럭탄의 일종인 inulin과 levan 모두 *S. mutans*의 인공치태 형성을 억제하지 못하였다. 이상의 결과를 종합하면 프럭탄을 생성하는 *S. salivarius*는 *S. mutans*의 인공치태 형성을 억제하였다.

주요어 : *S. salivarius*, 인공치태, 프럭탄

I. 서 론

치의학의 발전에도 불구하고 치아우식증은 아직도 구강내 만성 감염성 질환으로 중요하다. 치아우식증 발생에 치태가 중요한 역할을 하는데, 이는 치태에 존재하는 세균들이 치아에 해로운 여러 가지 대사산물을 만들기 때문이다¹⁾. 이러한 세균들 중 가장 중요한 세균은 *S. mutans*이다²⁻⁴⁾.

S. mutans 균은 항원성에 따라 8개의 혈청형(a-h)으로 나눌 수 있는데, 이 중 혈청형 c가 전세계적으로 가장 많이 분리되고 있으며, 구강내 치태 형성의 주된 세균이다⁴⁾. *S. mutans*는 세균 외부로 glucosyltransferase를 분비하여 자당으로부터 점착성의 비수용성 다당류인 글루칸(glucan)을 합성한다. 이 비수용성 글루칸은 치태의 기본물질이 되어 치아 표면에 세균이 부착되도록 도와 준다. 치태내의 *S. mutans*를 비롯한 일부 세균들은 탄수화물 대사과정에서 유산을 생성하여 치아 표면을 탈회시킴으로써 치아우식증을 유발한다⁵⁾. 구강내 환경에서 치태를 형성하여 치아우식증을 일으키는 방향으로 *S. mutans*가 작용한다면, 반대로 치태 형성을 억제하든가 치아우식을 저지

하는 방향으로 작용하는 세균이 존재할 것이다. 이와 같이 이로운 방향으로 작용하는 세균으로서의 *Enterococcus faecalis*는 항균제 기능을 나타내는 bacteriocin을 생성함으로써 연쇄상구균의 증식을 억제하고⁶⁾, *S. oralis*와 같은 세균은 H₂O₂를 분비하여 *S. mutans*의 증식을 억제함으로써 치태형성을 저지한다^{7,8)}.

*S. salivarius*는 *S. mutans*와 유전학적으로 가까운 세균이다. 자당이 함유된 배지에서 *S. mutans*는 α1→3 결합이 주요 결합인 비수용성 글루칸을 생성하는데 비하여, *S. salivarius*는 수용성인 프럭탄(fructan)과 글루칸을 생성한다^{9,10)}. 프럭탄은 *S. salivarius* 외에도 *S. mutans*, *Streptococcus rattus* 등의 fructosyltransferase에 의하여 자당이나 라피노스(raffinose)로부터 합성되며, 프럭탄 종류로는 β1→2결합의 inulin과 β2→6결합의 levan이 있다. *S. salivarius*는 levan을 생성한다^{9,11)}. 치태에 존재하는 프럭탄의 치아우식증에 대한 역할에 대하여 연구되어 왔으나 상반된 연구결과가 있으며^{11,12)}, *S. mutans*의 비수용성 글루칸 또는 치태형성 과정에 대한 *S. salivarius*의 역할에 대해서는 연구가 많이 되어 있지 않다.

본 연구에서는 *S. mutans*의 치태형성을 억제하는 *S. sali-*

*varius*를 아동의 구강으로 부터 분리하여 그 특성과 *S. mutans*의 치태형성을 억제하는 *S. salivarius* 생성물질을 thin layer chromatography로 규명하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1) 공시세균 배양

S. mutans Ingbritt strain, *S. sobrinus* B-13 (ATCC 35037, Rockville, MA, USA)를 공시하였으며, 배양은 동결 건조로 보관중인 세균을 M17 액체배지 (Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하여 37°C 배양기에서 배양하였다.

2) 타액으로부터 비수용성 글루칸 형성 억제능이 있는 균주의 분리

1998년 9월부터 12월까지 광주지역 유치원 아동 658명의 타액을 각각 채취하였다. 16시간 배양한 *S. sobrinus* B-13을 M17 액체배지에 5배 희석하여(약 10^8 colony forming unit/ml, cfu/ml) 약 4시간 진탕 배양하였다. 5배 희석하여(약 10^8 cfu/ml) 5% 자당이 첨가된 M17 한천배지에 접종하여 건조시킨 후, 여기에 각각의 타액을 100배 희석하여(약 10^4 - 10^5 cfu/ml) 접종하고 37°C에서 48시간 배양 후 넓은 투명대(clear zone)를 형성하는 세균을 분리하였다.

투명대를 형성하는 세균을 M17 액체배지에서 배양한 각각의 배양액과 *S. mutans* 배양액을 1:1로 5% 자당과 0.1M TES가 첨가된 M17 액체배지 (M17S 액체배지)에 접종하였다. 37°C에서 24시간 배양하여 비수용성 글루칸 형성을 억제하는 균주 9주를 선택하였다.

3) 분리균주의 동정

선택된 분리균주 9주의 형태학적, 생물학적, 생화학적 성질 등은 Bergey's manual of systematic bacteriology에 있는 방법¹³⁾으로 검사하였다. 분리균주는 M17 액체배지에 배양한 후 glycerol의 최종농도가 20% (w/v) 되도록 첨가하여 -70°C에 냉동 보관하면서 필요에 따라 재접종, 배양한 후 실험에 사용하였다. 분리균주는 Gram 염색을 실시하여 그람양성의 연쇄상구균임을 확인하였다. 카탈라아제 시험 (Catalase test)은 M17 한천배지에 분리균주를 접종하여 37°C에서 1일 배양한 후 3% H₂O₂를 가할 때 기포 발생 여부로 보았다. M17 한천배지에 분리균주를 접종하여 10°C와 45°C에서 각각 배양한 후, 분리균주의 증식 여부를 관찰하였다. pH 9.6의 M17 액체배지와 6.5% NaCl이 함유된 M17 액체배지에 분리균주를 접종하여 37°C에 배양한 후, 분리균주의 증식 여부를 관찰하였다. 탄수화물 발효시험은 GPI (Gram-Positive Identification card, BioMerieux Vittek, Inc.)를 이용하여 분리균주를 동정하였다. 검사 방법은 단일 집락만을 증류수에 현탁해서 M17 한천배지에 접종하여 37°C, 24시간 배양하였다. 멸균된 면봉으로 세균액을 GPI kit에 세균액을 접종하고 배양하여 반응액을 첨가

해서 기질의 색깔 변화와 당의 산성화를 관찰하였다.

4) 분리균주가 *S. mutans*의 인공치태 형성과 생균수에 미치는 영향

pH를 7로 조정된 M17S 액체배지 40 ml씩 비커에 준비하였다. 여기에 *S. mutans*와 분리균주를 각각 2×10^8 씩 접종하고 0.016 inch 스테인레스스틸 재질의 교정용 wire (Ormco, Glendora, CA, USA)를 50 mg 내외가 되게 준비하여 3 개씩 비커에 매달아 배지에 잠기도록 하였다. 37°C 배양기에서 회전시키면서 15시간 배양한 후, 3 개의 wire 상에 형성된 인공치태의 무게를 평균하였다. 동시에 세균배양액을 희석하여 M17 한천배지에 접종하여 37°C 배양기에서 18시간 배양한 후 생균수를 산정하였다.

5) 분리균주 배양 상청액이 *S. mutans*의 인공치태 형성과 생균수에 미치는 영향

pH를 7로 조정된 M17 액체배지와 M17S 액체배지에 분리균주를 배양한 다음, 3000×rpm으로 20분간 원심하여 상청액을 얻어 끓은 물에 3분간 방치하여 상청액내에 남아 있는 세균을 사멸시켰다. 배양 상청액 20 ml와 M17S 액체배지 20 ml를 비커에 준비하였다. 여기에 *S. mutans*를 2×10^8 씩 접종하고 위와 같은 방법으로 인공치태 무게와 생균수를 산정하였다.

6) 분리균주 배양액의 성분 검사

분리균주를 M17S 액체배지에서 36시간 배양한 후, 원심하여 상청액을 얻었다. 상청액에 67% ethanol 용액을 가하여 섞고 원심한 다음, 상청액을 버렸다. 같은 조작을 2번 반복하고 원심하여 남은 침전물을 80°C oven에서 가열하였다. 침전물을 증류수에 녹인 것과 침전물을 1 M HCl 용액을 가하여 121°C oven에서 20분간 방치한 것을 포도당, 과당, 자당과 함께 silica gel에서 thin layer chromatography를 실시하였다. 이때 developer로 85% acetonitrile액을 사용하고 발색제로 5% H₂SO₄와 300 mg/L α-naphthol이 든 methanol을 사용하여 121°C oven에서 10분간 방치하였다.

7) *S. mutans*의 인공치태 형성에 미치는 프럭탄의 영향

Inulin과 levan (Sigma, St. Louis, MO, USA)을 40ml M17S 액체배지에 가하여 1%가 되도록 비커에 준비하였다. 여기에 *S. mutans*를 2×10^8 씩 접종하고 위와 같은 방법으로 인공치태 무게를 구하였다.

8) 통계적 처리

각 군간의 무게 차이는 Mann-Whitney test를 이용하여 비교하였으며 통계학적인 유의성은 p value가 0.05 이하인 경우로 하였다.

Ⅲ. 성 적

1) 분리균주의 동정

분리균주 모두 M17 한천배지상에서 투명한 중합체를 생성하였고 카탈라아제 음성이었으며, 10℃에서는 증식하지 못하였고 45℃에서는 증식하였다. 분리균주 모두 pH 9.6의 배지나 6.5% NaCl이나 bile-esculin이 함유된 배지에서 증식하지 못하였다. 분리균주를 GPI kit를 사용하여 당발효 및 생화학적 검사를 실시한 결과, arginine HCl은 분해하였으나, tellurite는 환원시키지 못하였다. Dextrose, lactose, salicin, sucrose를 분해하였으나, mannitol, raffinose, arabinose, pyruvic acid, inulin, melibiose, melezitose, ribose, xylose는 분해하지 못하였다. 이러한 당발효 및 생화학적 실험 결과, 모두 *S. salivarius*로 동정되었다. 분리된 9주의 세균을 *S. salivarius* S1부터 S9으로 명명하였다.

2) 분리균주가 *S. mutans*의 인공치태 형성과 생균수에 미치는 영향

비커 와이어 검사에서 *S. mutans* 단독 배양시 형성된 인공치태 무게는 204.9 mg이었으나, *S. mutans*와 분리균주 혼합 배양시 형성된 인공치태 무게는 1.9 mg에서 20.6 mg으로 *S. mutans* 단독 배양시와 큰 차이가 있었다 ($p < 0.05$) (Table 1).

배양 후 생균수 검사를 한 결과, *S. mutans* 단독 배양시에는 ml당 9.0×10^8 이었고, 분리균주 단독 배양시에는 ml당 2.0×10^8 에서 1.2×10^9 이었다. *S. mutans*와 분리균주 혼합 배양시에는 *S. mutans*는 ml당 2.4×10^7 에서 5.0×10^8 , 분리균주는 ml당 6.0×10^7 에서 1.6×10^9 으로 각각의 단독 배양시와 큰 차이가 없었다 (Table 2).

3) 분리균주 배양 상청액이 *S. mutans*의 인공치태 형성과 생균수에 미치는 영향

M17 액체배지와 M17S 액체배지에서 배양한 분리균주 배양 상청액을 각각 가한 비커 와이어 검사에서 *S. mutans*에 의하여 형성된 인공치태 무게는 평균 117.1 mg, 47.7 mg이었다 (Table 3).

동시에 생균수 검사를 한 결과, M17 액체배지에서 배양한 분리균주 배양 상청액을 가한 배지에서 증식한 *S. mutans*는 ml당 2.6×10^7 에서 6.8×10^8 이었고, M17S 액체배지에서 배양한 분리균주 배양 상청액을 가한 배지에서 증식한 *S. mutans*는 ml당 4.0×10^6 에서 7.2×10^8 으로 분리균주 배양 상청액을 가하지 않은 대조군에서의 ml당 9.0×10^7 와 차이가 없었다 (Table 3).



Fig. 1. Morphology of *S. salivarius* S1 on M17 agar.

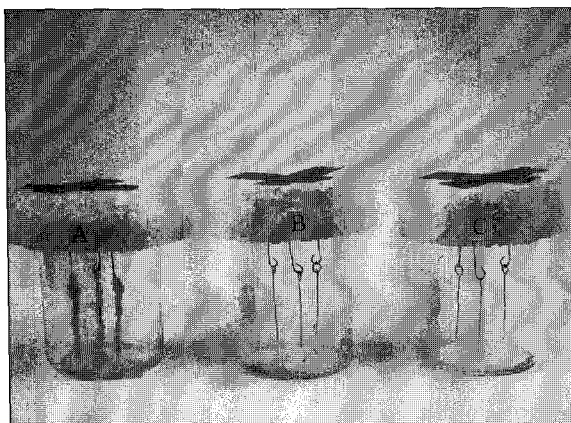


Fig. 2. Effect of *S. salivarius* S1 on the formation of insoluble glucan by *S. mutans*. *S. mutans* (A), *S. mutans* and *S. salivarius* S1 (B), or *S. salivarius* S1 (C) was inoculated into M17 broth containing 5% sucrose in the beaker, respectively.

Table 1. Inhibitory activity of *S. salivarius* isolates on the formation of artificial plaque on the orthodontic wires by *S. mutans*

Tested bacterial strain	Plaque weight (mg)
<i>S. mutans</i>	204.9±45.1
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S1	14.6±5.4
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S2	17.0±0.4
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S3	2.6±0.2
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S4	14.6±7.0
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S5	20.6±3.5
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S6	10.9±2.8
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S7	1.9±0.5
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S8	2.7±2.0
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S9	2.1±0.6

Table 2. Interaction of *S. salivarius* isolates and *S. mutans*

Tested bacterial strains	Number of viable cells (/ml)	
	<i>S. mutans</i>	<i>S. salivarius</i>
<i>S. mutans</i>	9.0×10^8	
<i>S. salivarius</i> S1		8.9×10^8
<i>S. salivarius</i> S2		7.2×10^8
<i>S. salivarius</i> S3		7.9×10^8
<i>S. salivarius</i> S4		8.2×10^8
<i>S. salivarius</i> S5		8.0×10^8
<i>S. salivarius</i> S6		1.2×10^9
<i>S. salivarius</i> S7		6.5×10^8
<i>S. salivarius</i> S8		2.0×10^8
<i>S. salivarius</i> S9		4.9×10^8
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S1	3.0×10^8	1.6×10^9
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S2	1.5×10^8	4.4×10^8
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S3	1.1×10^8	3.2×10^8
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S4	5.0×10^8	6.0×10^7
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S5	3.3×10^8	5.2×10^8
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S6	3.2×10^8	8.0×10^7
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S7	1.8×10^8	4.1×10^8
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S8	1.4×10^8	7.6×10^7
<i>S. mutans</i> + <i>S. salivarius</i> S9	2.4×10^7	4.7×10^8

Table 3. Supernatant of isolated *S. salivarius* affecting on the formation of artificial plaque on the orthodontic wires and the replication of *S. mutans*

<i>S. salivarius</i> used for making supernatant	Plaque weight (mg) & viable cells (/ml) of <i>S. mutans</i>			
	Cultured in M17 broth for making supernatant of <i>S. salivarius</i>		Cultured in M17S broth* for making supernatant of <i>S. salivarius</i>	
Control	114.2±51.0	9.0×10^7		
<i>S. salivarius</i> S1	124.5±41.5	6.1×10^8	85.0±20.6	6.3×10^8
<i>S. salivarius</i> S2	66.1±5.9	4.8×10^8	26.2±5.7	1.4×10^8
<i>S. salivarius</i> S3	199.2±22.4	4.9×10^8	31.9±6.4	4.6×10^8
<i>S. salivarius</i> S4	58.7±12.6	3.6×10^7	11.5±2.4	6.0×10^6
<i>S. salivarius</i> S5	93.8±49.2	5.4×10^7	35.6±10.2	4.0×10^6
<i>S. salivarius</i> S6	66.5±30.5	2.6×10^7	26.9±7.6	4.0×10^6
<i>S. salivarius</i> S7	124.0±14.3	6.1×10^8	83.5±12.9	2.8×10^8
<i>S. salivarius</i> S8	158.5±11.8	3.0×10^8	65.2±21.8	7.2×10^8
<i>S. salivarius</i> S9	162.4±17.1	6.8×10^8	63.1±17.1	1.0×10^8
Mean	117.1		47.7	

* M17S broth : M17 broth containing 5% sucrose

4) 분리균주 배양액의 성분 검사
 분리균주 배양 상청액을 thin layer chromatography를 실시한 결과, *S. salivarius* S8을 비롯한(Fig. 3) 분리균주 모두가 생성한 중합체는 프럭탄이었다.

5) 프럭탄이 *S. mutans*의 인공치태 형성에 미치는 영향
 비커 와이어 검사에서 프럭탄의 일종인 inulin과 levan 모두 *S. mutans*의 인공치태 형성을 억제하지 못하였다(Table 4).

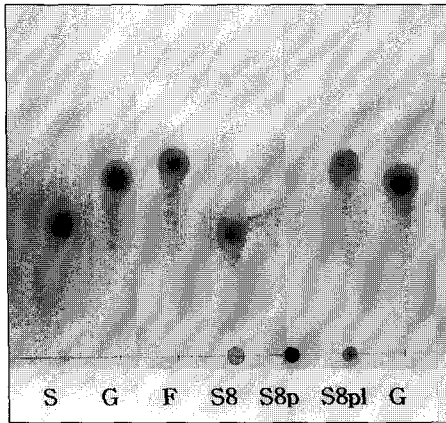


Fig. 3. Thin layer chromatography of product formed by isolated *S. salivarius* S8. Thin layer chromatography was conducted on silica gel plate using acetonitrile. The supernatant of bacterial culture (S8) was treated by 67% ethanol and dried in 80°C oven, leaving the precipitate. The precipitate was added with distilled water (S8p) or 1M HCl (S8pl). S, G, and F are sucrose, glucose, and fructose, respectively.

IV. 고 찰

S. mutans c 혈청형이 합성한 세포의 다당류의 초미세 구조를 투과전자 현미경으로 관찰하면 다당류가 세가지 구성 성분, 즉 구형의 프럭탄, 한가닥 섬유 구조의 텍스트란 (dextran), 두가닥 섬유 구조의 뮤탄 (mutan)으로 구성되어 있다¹⁴⁾. 뮤탄은 치아표면에 *S. mutans* 외에 다른 세균들의 증식을 촉진시키며, 텍스트란과 프럭탄은 세균의 세포의 에너지 공급원이 되고 있다. 세포의 글루칸은 *S. mutans* 외에도 다른 *Streptococcus* species, *Lactobacillus* species와 같은 구강세균에 의해 형성되는데, 이들 세균이 치아 표면에 부착하여 치태를 형성하는데 기여하고 있다¹⁵⁻¹⁸⁾. 치태는 세균과 세균간 물질로 구성되어 있다¹⁹⁾. 치태 형성 초기에는 타액에서 유래한 당단백에 의해 획득 피막이 형성되는데 세균들은 초기에 이 피막과 비특이적으로 약하게 결합하다가 세포의 다당류를 합성하여 강하게 결합한다. 세포의 다당류는 치아와 치주 건강에 중요한 역할을 하는데 이는 첫째, 세포의 다당류는 끈끈한 특성을 가지고 접착성이 강하여 세균의 부착 및 응집을 조장하고, 둘째, 세균이 필요로 하는 에너지의 저장소가 될 수 있으며, 셋째, 세균이 만드는 독소와 염증을 일으키는 물질을 포함하고 있기 때문이다²⁰⁾.

치태의 형성 시간이나 섭취되는 음식과 상관없이 치태내에서 우세한 미생물은 그람 양성인 *Streptococcus*로서, 이 중에서도 *S. mutans*는 동물실험과 사람의 치아우식증 연구에서 중요하게 연구되고 있다. *S. mutans*의 숫자는 음식물의 종류, 불소 및 전신적 항생제의 사용여부, 가족내 구성원의 *S. mutans* 숫자, 구강위생, 타액작용 그리고 치태내의 미생물의 상호작용 등에 의해 영향을 받을 수 있을 것이다. 이러한 *S. mutans*를 억

Table 4. Effect of fructan on the formation of artificial plaque on the orthodontic wires by *S. mutans*

Fructan	Concentration (%)	Plaque weight (mg)
Levan	0	186.4±27.8
	1.0	263.0±23.4
Inulin	0	160.4±26.4
	1.0	175.0±10.5

제하기 위하여 chlorhexidine 등을 사용하여 치아우식 활성을 감소시킬 수 있으나, 그 효과는 지속적이지 못하다. 최근 구강내 정상적으로 존재하는 세균을 이용하여 치아 질환을 예방하고자 하는 연구가 이루어지고 있다²¹⁻²⁶⁾. 이러한 세균은 비병원성이면서 구강에서 지속적으로 증식하여 병원체와 접촉하였을 때, 병원체의 증식이나 그 작용을 억제할 수 있어야 한다. 이론적으로 통상의 치료 방법과 비교하여 이러한 대치 방법은 세균을 집중하면 증식하여 지속적인 작용을 기대할 수 있으며, 자연적으로 전파가 되어 대중 집단의 질병 예방 효과도 얻을 수 있다는 장점이 있다²¹⁾. 치아우식증 예방에 이용될 수 있는 세균은 치태 형성에 주된 역할을 하는 *S. mutans*를 억제하거나, *S. mutans*의 치태 형성을 억제하여야 한다. 한걸음 더 나아가 정상적인 *S. mutans*를 대치할 수 있는 대치 세균을 투여할 수 있는데, 탄수화물 대사에 결함이 있는 *S. mutans*²²⁾, lactate dehydrogenase 활성이 부족하여^{23,24)} 유산을 생성하지 못하는 세균을 투여하기도 한다. 치태를 형성하나 치아우식증을 일으키지 않는 *S. salivarius* TOVE-R도 분리되었다^{25,26)}.

*S. salivarius*는 생후 10-24시간 이내에 검출이 되어 모든 사람의 구강내에 존재하는데, 특히 혀의 윗쪽이나 타액에 가장 많이 존재하는 세균으로 각각 혐기성 상태에서 배양되는 총세균의 20%를 차지하고 있다.

본 연구에서는 비커 와이어 검사에서 *S. mutans* 단독 배양시 형성된 인공치태 무게 204.9 mg에 비교하여 *S. mutans*와 *S. salivarius* 분리균주 혼합 배양시에는 1.9 mg에서 20.6mg으로 현저히 감소되었다. *S. salivarius* 분리균주에 의한 *S. mutans*의 인공 치태 형성 억제 기전을 알고자 M17 액체배지와 M17S 액체배지에서 배양한 *S. salivarius* 분리균주 배양 상청액을 각각 가한 비커 와이어 검사에서 *S. mutans*에 의하여 형성된 인공치태 무게는 각각 평균 117.1 mg, 47.7 mg이었다. 이와 같은 결과는 배양 후 *S. mutans* 생균수의 감소없이 인공치태 억제 현상이 일어나는 것으로 보아 5% 자당이 함유된 M17 액체배지에서 배양한 *S. salivarius* 분리균주 배양 상청액에 함유된 성분에 의한 것으로 사료되었다. 그래서 *S. salivarius* 분리균주 배양 상청액을 thin layer chromatography를 실시한 결과, *S. salivarius* 분리균주가 형성한 중합체는 프럭탄이었다. 즉 *S. salivarius* 분리균주가 형성한 프럭탄에 의하여 *S. mutans*의 비수용성 글루칸 형성이 억제되는 것으로 사료되었다. 그러나 프럭탄의 일종인 inulin과 levan 모두 비커

와이어 검사에서 *S. mutans*의 인공치태 형성을 억제하지 못하였으며, 이제까지의 연구에서 보면 프럭탄을 생성하는 다른 세균들은 *S. mutans*의 인공치태 형성을 억제하지 못하였다. 이와 같은 결과는 *S. salivarius* 분리균주가 형성한 프럭탄은 inulin과 levan과는 구조가 다른 프럭탄이거나 다른 성분이 프럭탄에 포함되어 있을 것으로 생각되어 추후 이에 대한 연구를 계속할 예정이다.

이상의 결과로 볼 때, 분리균주는 프럭탄을 생성하여 *S. mutans*의 비수용성 글루칸 생성을 저지함으로써 치태 형성을 억제하는 것으로 사료되나, 분리균주가 만드는 프럭탄에 대한 연구는 더 필요한 것으로 생각된다.

V. 결 론

소아의 구강으로부터 분리된 9주의 *S. salivarius*의 특성과 *S. mutans* 및 *Streptococcus oralis*에 대한 영향을 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 비커 와이어 검사에서 *S. mutans* 배양시 형성된 인공치태 무게는 204.9 mg이었으나, *S. mutans*와 분리된 *S. salivarius*의 혼합 배양시 형성된 인공치태 무게는 1.9 mg에서 20.6 mg으로 *S. mutans* 단독 배양시와 큰 차이가 있었다 ($p < 0.05$). 배양 후 생균수 검사에서는 큰 차이가 없었다.
2. M17 액체배지에서 배양된 분리균주의 배양 상청액을 가한 비커 와이어 검사에서 형성된 인공치태 무게는 평균 117.1 mg인데 반해, 5% 자당이 함유된 M17 액체배지에서 배양된 분리균주 배양 상청액을 가한 비커 와이어 검사에서는 평균 47.7 mg이었다.
3. 분리된 *S. salivarius*의 배양 상청액을 thin layer chromatography를 실시한 결과, 분리균주가 형성한 중합체는 프럭탄이었다.
4. 비커 와이어 검사에서 프럭탄의 일종인 inulin과 levan 모두 *S. mutans*의 인공치태 형성을 억제하지 못하였다. 이상의 결과를 종합하면 프럭탄을 생성하는 *S. salivarius*는 *S. mutans*의 인공치태 형성을 억제하였다.

참고문헌

1. 박기철 : 치아플렉(2). 치과연구, 43:23-30, 1998.
2. Gibbons RJ, van Houte J : Dental caries. Ann Rev Med, 26:121-136, 1975.
3. Loesche WJ : Chemotherapy of dental plaque infections. Oral Sci Rev, 9:65-107, 1976.
4. Hamada S, Slade HD : Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev, 44:331-384, 1980.
5. Tanzer JM : Microbiology of dental caries. Contemporary oral microbiology and immunology,

edited by Slots J and Taubman M St Louis: Mosby, pp. 377-424, 1992.

6. 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.
7. Lumikari M, Soukka T, Nurmiö S, et al. : 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.
8. 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.
9. Kelstrup J : Extracellular polysaccharides of smooth and rough variants of *Streptococcus salivarius*. Scand. J Dent Res, 89:374-383, 1981.
10. Willcox DP, Drucker DB : A simple method for determining extracellular polysaccharide-producing ability of oral streptococci. Microbios, 51:175-181, 1987.
11. Wexler DL, Penders JE, Bowen WH, et al. : Characteristics and cariogenicity of a fructanase-defective *Streptococcus mutans* strain. Infect Immun, 60:3673-3681, 1992.
12. Burne RA, Chen YY, Wexler DL, et al. : Cariogenicity of *Streptococcus mutans* strains with defects in fructan metabolism assessed in a program-fed specific-pathogen-free rat model. J Dent Res, 75:1572-1577, 1996.
13. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, et al. : Bergey's manual of systematic bacteriology. Volume 2, Williams and Wilkins, Baltimore, USA, 1986.
14. Toda Y, Moro I, Koga T, et al. : Ultrastructure of extracellular polysaccharides produced by serotype c *Streptococcus mutans*. J Dent Res, 66:1364-1369, 1987.
15. Gibbons RJ, Banghart SS : Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human dental plaque. Arch Oral Biol, 12:11-24, 1967.
16. Dewar MG, Walker GJ : Metabolism of the polysaccharides of human dental plaque. Caries Res, 9:21-35, 1975.
17. Gibbons RJ, van Houte J : Bacterial adherence in

- oral microbial ecology. *Ann Rev Microbiol*, 29:19-44, 1975.
18. Hammond BF : Dextran production by a human oral strain of *Lactobacillus casei*. *Archs Oral Biol*, 14:879-890, 1969.
 19. McDougall WA : Studies on the dental plaque. I. The histology of the dental plaque and its attachment. *Aust Dent J*, 8:261-273, 1963.
 20. Newbrun E : Polysaccharide synthesis in plaque. *Microbiology Abstract Suppl Microbial aspect of dental caries III*:659, 1979.
 21. Hillman JD, Socransky SS : Replacement therapy for the prevention of dental disease. *Adv Dent Res*, 1:119-125, 1987.
 22. Tanzer JM, Freedman ML : Genetic alterations of *Streptococcus mutans*' virulence. *Adv Exp Med Biol*, 107:661-672, 1978.
 23. Hillman JD : Lactate dehydrogenase mutants of *Streptococcus mutans*: Isolation and preliminary characterization. *Infect Immun*, 21:206-212, 1978.
 24. Abhyankar S, Sandham HJ, Chan KH : Serotype C *Streptococcus mutans* mutable to lactate dehydrogenase deficiency. *J Dent Res*, 64:1267-1271, 1985.
 25. Tanzer JM, Kurasz AB, Clive J : Competitive displacement of mutans streptococci and inhibition of tooth decay by *Streptococcus salivarius* TOVE-R. *Infect Immun*, 48:44-50, 1985.
 26. Tanzer JM, Kurasz AB, Clive J : Inhibition of ecological emergence of mutans streptococci and inhibition of tooth decay by *Streptococcus salivarius* TOVE-R infection. *Infect Immun*, 49:76-83, 1985.

Reprint request to:

Kyu-Ho Yang, D.D.S., M.S.D, Ph.D.

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

8, Hak-Dong, Dong-Gu, Gwangju, 501-757, Korea

E-mail : khyang@chonnam.ac.kr

Abstract

THE INHIBITORY EFFECT OF FRUCTAN-PRODUCING *S. SALIVARIUS* ON THE
FORMATION OF ARTIFICIAL PLAQUE

So-Yung Park, Park Eun Hae, Jong-Suk Oh*, Kyu-Ho Yang

*Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry and Dental Research Institute,
Department of Microbiology, College of Medicine*, Chonnam National University*

S. mutans is the most important causative bacteria of dental caries among the oral bacteria. *S. salivarius* is a normal inhabitant in the human oral cavity. Nine strains of *S. salivarius* in this study were isolated from the oral cavities of children and identified, and their effect on *S. mutans* and *S. oralis* was studied.

1. The mean weight of produced artificial plaque on the wires in the beaker was 204.9 mg in the culture of *S. mutans* only, whereas being reduced to 1.9 mg through 20.6mg in the combined culture of *S. mutans* and each *S. salivarius* isolate ($p < 0.05$). The viable cell didn't show the difference between them after culturing.
2. When *S. mutans* was cultured in the media containing culture supernatant of each *S. salivarius* isolate in M17 broth, the mean weight of produced artificial plaque was 117.1 mg on the wires, whereas being 47.7 mg in the media containing culture supernatant of each *S. salivarius* isolate in M17 broth containing 5% sucrose.
3. The polymer produced by *S. salivarius* isolates was on the thin layer chromatography.
4. Inulin and levan didn't inhibit the formation of artificial plaque by *S. mutans* in the beaker test.

These results suggested that fructan-producing *S. salivarius* isolates inhibited the formation of artificial plaque by *S. mutans*.

Key words : *S. salivarius*, Artificial plaque, Fructan