

齒牙齶蝕症 患者의 齶蝕罹患部 齒苔로 부터 *Streptococcus mutans*의 分離와 血清型에 關한 研究

慶熙大學校 齒科大學 保存學教室

李彩東 · 崔浩永 · 朴尚進

— 目 次 —

- I. 緒 論
- II. 實驗材料 및 實驗方法
- III. 實驗成績
- IV. 總括 및 考察
- V. 結 論
- 參考文獻
- 英文抄錄

I. 緒 論

口腔은 解剖學的, 生理學的 特殊性으로 細菌이 增殖할 수 있는 諸般條件이 形成되기 때문에 口腔內에는 多様な 細菌種이 常住하고 있다.¹⁾ 齒牙齶蝕症은 이들 常住細菌의 一部 細菌種에 依해 誘發되는 感染性 疾患이라는 것은 周知의 實事이다.⁴⁾

1950年 後半까지만 해도 進行된 齶蝕病巢에서 많은 數의 乳酸菌이 分離되었기 때문에 乳酸菌을 가장 重要한 齶蝕原性 細菌으로 認識해 왔다.⁴⁾ 그러나 1960年에 Fitzgerald와 Keyes¹⁶⁾가 hamster의 齶蝕病巢에서 分離한 streptococci를 hamster의 口腔에 다시 感染시켰을 때 齒牙齶蝕症을 誘發시킴으로써 streptococci의 齶蝕原性이 擡頭되었다. 1960年代 中半 以後, Krasse³⁵⁾가 人에서 分離한 streptococci도 hamster에서 齒牙齶蝕症을 誘發시킬 수 있다고 報告하였고, 이들 齶蝕原性 streptococci는 蔗糖으로 부터 細胞外多糖體를 合成하는 細菌임이 밝혀졌다.^{17, 18, 21, 44, 50)} 또한 齶蝕原性 streptococci는 人의 口腔內에 定着시킬 수 있는 것으로 報告되었다.³⁶⁾ Edwardsson¹⁵⁾이 人의 齶蝕原性

streptococci는 1924年 Clarke에 依해 報告된 *Streptococcus mutans*(以下 *S. mutans*)와 같은 細菌種이라는 것을 指摘하면서 부터 *S. mutans*는 人의 齒牙齶蝕症에서 重要한 原因菌이라는 것이 分明해졌다.

*S. mutans*가 齶蝕誘發菌임이 確認된 以後, 1970年代에 *S. mutans*의 齶蝕原性은 *S. mutans*가 蔗糖으로 부터 其他 口腔內 streptococci와 달리 附着性의 細胞外多糖體를 合成하여 莖面에 附着할 수 있기 때문이라는 것이 밝혀졌다.^{18, 28)} 따라서 齒苔內 *S. mutans*의 分布程度는 齶蝕程度와 比例하며,^{40, 50)} 齶蝕部位의 齒苔에서는 健全한 部位의 齒苔보다 많은 *S. mutans*가 分離되고 *S. mutans*의 分離頻度도 높은 것으로 報告되고 있다.^{41, 49)} Hoerman等³²⁾은 *S. mutans*는 特히 初期齶蝕症 發生과 關係가 깊고 *S. mutans*의 齒苔內 出現은 齒牙齶蝕症의 發生을 豫告하는 指標라고 示唆하였다.

1969年 Bowen²⁾이 *S. mutans*全菌을 使用하여 齒牙齶蝕症 豫防을 爲한 vaccine의 可能性을 提示한 以後, 數 많은 研究들이 그 可能性을 立證하였고,²⁸⁾ 이와 竝行하여 *S. mutans*의 抗原分析 및 血清學的인 側面에서 *S. mutans*가 研究되었다.^{3, 7, 8, 10, 11, 22, 23, 27, 30, 37, 38, 42, 43, 45, 47, 52)}

*S. mutans*는 生化學的 性狀,⁴⁹⁾ 細胞壁糖 構成,³⁰⁾ 遺傳學的,¹⁰⁾ 血清學的 性狀^{4, 45)}에 따라 *S. mutans*의 型이 分類되고 있다. 이 中에서 血清型은 vaccine 開發과 關聯해서 重要한 意味를 가지며 *S. mutans*의 一般的인 分類法으로 認定되고 있다.²⁸⁾ 一般的으로 *S. mutans*는 血清型 c가 가장 높은 頻度로 分離되고 있고,^{4, 6, 9, 24, 25, 34, 39, 45, 46, 48, 51)} 血清型 b는 가장 分離頻도가 낮은 것으로 報告되고 있으나 地域에 따라 血清型의 分布는 다르게 나타나는 것으

로 보인다.^{14, 20, 28, 34)}

*S. mutans*는 試驗管內에서 基質의 種類, 基質의 濃度變化等 菌의 增殖環境에 따라 附着能力,²⁰⁾ 代謝產物의 生成量과 生成物質의 種類가 다르게 나타나며,²¹⁾ 口腔內 細菌의 造成은 基質에 따라 크게 달라지는 것으로 報告되고 있다.²²⁾ 따라서 特異한 食習慣을 가진 韓國人에서 *S. mutans*血清型의 分布 調査는 意味있는 일로 생각된다. *S. mutans*의 分離 및 血清型의 分布 調査는 疫學的 意味에서 뿐만 아니라 앞으로의 抗原研究, vaccine의 開發과 實用化에 있어 根本的인 過程이다. 그러나 韓國人에서 *S. mutans*의 血清型 分布에 關한 報告가 없었기 때문에 著者는 齒牙齶蝕症 患者의 齶蝕罹患部 齒苔로부터 *S. mutans*를 分離·同定하였으며 分離菌株의 型別을 血清學的, 生物學的으로 決定하였고, 分離菌株의 生化學的 性狀과 培養特性을 型別에 따라 比較觀察하여 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 實驗方法

A. 實驗材料

1. 培地 및 試藥

- 1) brain-heart infusion(以下 BHI)寒天培地(Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U. S. A.)
- 2) BHI寒天培地に 綿羊血球를 5% 添加한 血液培地
- 3) BHI寒天培地に 蔗糖을 5% 添加한 蔗糖培地
- 4) brain-heart infusion broth(Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U. S. A.)
- 5) mitis-salivarius(以下 MS)寒天培地(Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U. S. A.)
- 6) bacitracin(Sigma Chemical Co., Saint Louis, Missouri, U. S. A.)
- 7) MS培地に 蔗糖 20%, bacitracin 0.2unit/ml가 添加된 mitis-salivarius-bacitracin(以下 MSB)培地
- 8) cystine-tryptic寒天培地(Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U. S. A.)
- 9) yeast extract(Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U. S. A.)
- 10) Falkow's decarboxylase base(Gibco, Grand Island, New York, U. S. A.)
- 11) agarose(Sigma Chemical Co., Saint Louis, Missouri, U. S. A.)

2. *S. mutans*標準菌株

抗血清을 얻기 爲한 免疫原과 抗原抽出을 爲하여 BHI寒天培地に 繼代해 온 *S. mutans*AHT(血清型 a), FA-1(血清型 b), NCTC 10449(血清型 c), B-13(血清型 d), MT 703 R(血清型 e), OMZ 175(血清型 f), OMZ 65(血清型 g)等 7가지 血清型의 *S. mutans* 標準菌株를 MS培地에서 純粹性을 確認한 後에 使用하였다.

3. *S. mutans*分離菌株

韓國人에 있어 *S. mutans*의 血清型分布를 調査하기 爲한 對象菌株로서 齒牙齶蝕症 患者의 齶蝕罹患部 齒苔로부터 48個의 *S. mutans*菌株를 分離하여 使用하였다.

B. 實驗方法

1. *S. mutans*의 分離 및 同定

慶熙大學校 齒科大學 附屬病院 保存科에 來院한 患者 53名을 對象으로 하였다. 火焰滅菌한 excavator로 齶蝕罹患部의 齒苔를 採取하여 0.1% yeast extract溶液에 輸送하여 vortex mixer(Torika mixer MA-1; Torika corp., Japan.)로 15秒間 攪拌한 檢體原液을 MSB培地¹⁹⁾에 綿棒으로 塗抹하였다. MSB培地에서 檢出 안되는 境遇에 對備하여 適定稀釋 檢體液을 MS培地에도 塗抹하였다. 塗抹한 後培地는 37°C, GasPak system(BBL, Cockeysville, Maryland, U. S. A.)에서 嫌氣狀態로 48時間 培養한 다음, 24~48時間 室溫에 放置하여 나타난 *S. mutans*의 特徵的인 集落^{1, 20)}을 採取하여 BHI寒天培地に 繼代 保管하였다. mannitol과 sorbitol 醱酵試驗에서 陽性反應을 보인 分離菌株를 *S. mutans*로 確認同定하였다.^{21, 21)}

2. *S. mutans*分離菌株의 生物型決定

S. mutans 分離菌株의 生物型¹⁸⁾을 決定하기 爲해 mannitol, sorbitol, raffinose, melibiose 醱酵試驗을 實施하였다. cystine-tryptic寒天培地に 各各의 糖을 1% 添加하여 高壓蒸氣滅菌한 다음에 分離菌을 接種하여 candle jar에서 2~10日間 觀察하여 結果를 判讀하였다. bacitracin에 依한 酸生成抑制試驗을 爲해서는 mannitol 1%, bacitracin을 培地 1ml當 2units 添加한 cystine-tryptic寒天培地를 使用하여 2~10日間 培養하면서 結果를 觀察하였다. mannitol 醱酵試驗에서 陰性反應을 보인 菌株일 境遇에는 mannitol 代身에 sorbitol을 添加한 培地에서 酸生成抑制試驗을 實施하였다. L-arginine에서 암모니아 生成을 觀察하기 爲해 Falkow's decarboxylase ba-

se에 寒天 0.2%, L-arginine을 0.5% 添加한 培地에 分離菌을 接種한 다음에 滅菌된 mineral oil 을 培地위에 5방을 滴下하여 37°C에서 2~4日間 培養하면서 結果를 觀察하였다.

3. 血清型決定

1) 免疫

7가지 血清型的 *S. mutans* 標準菌株을 BHI broth에 48時間 培養한 後 0.6% formalin으로 16~18時間 處理하여 死滅시킨 다음, 生理的食鹽水 4,000 r. p. m. (Sorvall RC-2B; Ivan Sorvall Inc., Newtown Connecticut, U. S. A.)에서 15分間 3回 洗淨하였다. 洗淨된 *S. mutans*를 1×10^9 cells/ml 濃度로 調節하여 5日 間隔으로 토끼 耳靜脈에 每回 1ml씩 4回 免疫한 다음, 最終 免疫後 6日에 耳動脈에서 1次 採血하고 以後 3日에 脛動脈으로 부터 全採血하여 各 血清型에 對한 抗血清을 얻었다.

2) 血清型-特異抗血清

各 抗血清을 免疫原의 同 血清型 以外의 모든 菌株로 吸收시켜 血清型-特異抗血清을 얻었다. 即, 抗血清 2ml에 1次的으로 交叉反應이 나타나는 血清型的 菌株을 100mg(乾燥量)添加하여 37°C 恒溫水槽에서 1時間, 4°C에서 하룻밤 靜置한 다음 5,000 r. p. m.에서 10分間 遠沈시켜 沈澱物을 除去한 上清液을 얻었다.^{23, 27} 同 血清型 以外의 6가지 菌株로 모두 吸收시켜 寒天免疫擴散法에 依해 다른 血清型과의 交叉反應이 나타나지 않을 때까지 이 過程을 反復 施行하였다.

3) 抗原抽出

Bratthall과 Pettersson⁸⁾의 方法에 따라, BHI broth 200ml에 *S. mutans* 標準菌株을 培養하여 3回 洗淨한 後 洗淨菌을 分光光度計(Coleman Junior II, model 6135; Coleman Instruments, Maywood, Illinois, U. S. A.) 540nm에서 吸光度 1.5의 濃度로 生理的食鹽水 80ml에 浮遊시켜 高壓蒸氣滅菌하였다. 滅菌 後 6,000×G로 遠沈하여 얻은 細胞壁多糖體인 上清液을 1ml로 濃縮하여 各 血清型的 抗原으로 使用하였다.

4) 血清型-特異抗血清의 確認

寒天免疫擴散法에 依해 各 抗血清을 7가지 血清型的 抗原과 反應시켜 抗血清의 血清型特異性을 確認하였다. 即, Tris-HCl buffer(pH 8.6)에 agarose 0.8%를 溶解시켜 slide上에서 gel을 만든 다음에 well의 直徑 3mm, well의 깊이 2mm, well間的 距離를 4mm로 cut한 後, 中央 well에는 抗血清, 周圍

well에 抗原을 各各 8μl씩 分注하였다. 分注한 後에 室溫에서 3日間 1日 1回씩 沈降線을 確認하여 抗血清과 同 菌株間的 特異反應과 其他 다른 血清型菌株와의 交叉反應을 觀察하였다. 吸收시키지 않은 抗血清의 境遇는 AHT, B-13, OMZ 65相互間에 強한 交叉反應이 나타났고(Fig. 1), NCTC 10449抗血清은 MT 703 R과 OMZ 175, MT 703 R抗血清은 NCTC 10449, OMZ 175抗血清은 NCTC 10449와 交叉反應이 나타났으며(Fig. 2), FA-1抗血清은 AHT, OMZ 65와 交叉反應이 나타났다(Fig. 3). 그러나 吸收된 抗血清에서는 同 菌株와의 特異沈降反應만이 나타났기(Fig. 4, 5, 6)때문에 血清型決定을 爲한 血清型-特異抗血清으로 確認되어 本 實驗에 使用하였다.

5) *S. mutans*分離菌株의 血清型決定

앞서 記述한 標準菌株에서의 抗原抽出과 同一한 方法으로 分離菌株로 부터 抗原을 抽出한 後, 各抗



Fig. 1. Immunodiffusion reaction of unabsorbed anti-a, d and g serum with antigens of serotype a, d and g. A, anti-AHT(a); D, anti-B-13(d); G, anti-OMZ 65(g); a, AHT antigen; d, B-13 antigen; g, OMZ 65 antigen.

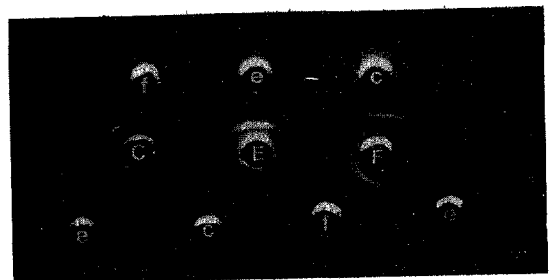


Fig. 2. Immunodiffusion reaction of unabsorbed anti-c, e and f serum with antigens of serotype c, e and f. C, anti-NCTC 10449(c); E, anti-MT 703 R(e); F, anti-OMZ 175(f); c, NCTC 10449 antigen; e, MT 703 R antigen; f, OMZ 175 antigen.

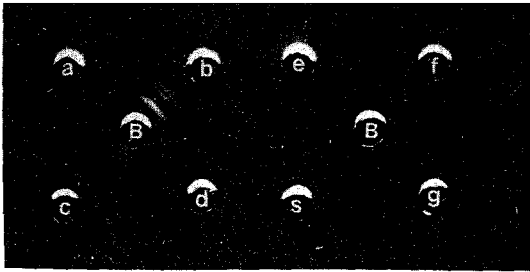


Fig. 3. Immunodiffusion reaction of unabsorbed anti-FA-1(b) serum with antigens of 7 serotype strains. Center well(B), anti-FA-1; outer wells contained antigens of serotype a~g strains, i.e. a, AHT(a); b, FA-1(b); c, NCTC 10449(c); d, B-13(d); e, MT 703 R(e); f, OMZ 175(f); g, OMZ 65(g); s, saline(control).

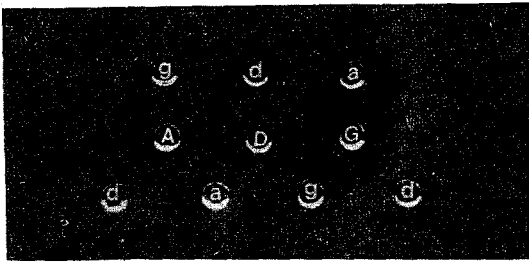


Fig. 4. Immunodiffusion reaction of absorbed anti-a, d and g serum with antigens of serotype a, d and g. Center and outer well preparations were same as shown in Fig. 1.

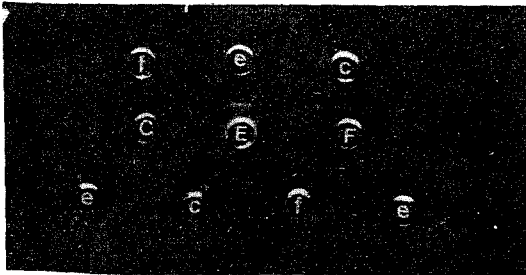


Fig. 5. Immunodiffusion reaction of absorbed anti-c, e and f serum with antigens of serotype c, e and f. Center and outer well preparations were same as shown in Fig. 2.

原을 7가지 血清型의 特異抗血清에 對한 寒天免疫擴散法으로 血清型을 決定하였다.

4. *S. mutans*分離菌株의 bacitracin感受性 檢査
分離된 모든 菌株을 MSB培地에 劃線塗抹하여

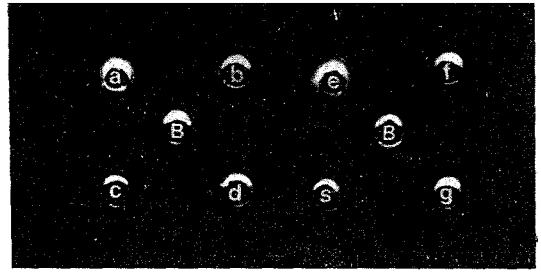


Fig. 6. Immunodiffusion reaction of absorbed anti-FA-1(b) serum with antigens of 7 serotype strains. Center and outer well preparations were same as shown in Fig. 3.

bacitracin에 對한 感受性 與否를 檢査하였다.

5. β溶血 *S. mutans*分離菌株

分離菌株 中에서 β溶血을 보이는 菌株의 存在를 確認하기 爲해 Woltjes等⁵⁴⁾의 方法에 따라 綿羊血液培地에 劃線塗抹한 다음 GasPak system에서 48時間 嫌氣培養하여 溶血現象을 觀察하였다.

6. 黄色素生成 *S. mutans*分離菌株

分離菌株 中에서 黄色素를 生成하는 菌株의 存在를 確認하기 爲해 5% 蔗糖培地에 劃線塗抹한 다음 candle jar에서 48時間 培養하여 黄色素生成與否를 觀察하였다.⁵³⁾

III. 實驗成績

1. *S. mutans*分離率

對象者 53名の 檢體 中 MSB培地에서 *S. mutans*가 分離된 患者는 24名(45.3%)이었고, MSB培地에서 分離되지 않았으나 MS培地에서 分離된 患者는 9名(17.0%)으로 모두 33名에서 分離되어 62.3%의 分離率을 보였다(Table 1). 33名の 患者로부터 48個 *S. mutans*菌株을 分離하였다.

2. 分離菌株의 特性和 血清型

各 分離菌株의 生化學的 性狀과 培養特性, 이에 따른 血清型 및 生物型은 Table 2와 같다.

1) 各 患者의 血清型 分布

33名の 患者 中 1가지 血清型만이 나타난 境遇가 22名(66.7%), 2가지 血清型이 같이 나타난 境遇가 11名(33.3%)이었다. 33名 中에서 c가 나타난 患者는 20名(60.6%)으로 가장 많았고 d는 10名(30.3%), f는 5名(15.2%), e는 5名(15.2%), g는 3名(9.1%), b는 c와 함께 1名(3.0%)에서 나타났으며, a는 나타나지 않았다(Table 3).

Table 1. Isolation frequency of *Streptococcus mutans* from dental plaque samples of carious lesions of 53 patients on mitis-salivarius-bacitracin (MSB) and mitis-salivarius (MS) media

Medium	Number	Frequency (%)
MSB	24	45.3
MS	9	17.0
total:	33	62.3

2) 全分離菌株의 血清型 分布
 48個 菌株 中 c는 21個 菌株 (43.8%), d는 12個 菌株 (25.0%), f는 6個 菌株 (12.5%), e는 5個 菌株 (10.4%), g는 3個 菌株 (6.3%), b는 1個 菌株 (2.1%) 였고, a는 發見되지 않았다 (Table 4).

3) 血清型과 生物型의 一致性 比較
 48個 分離菌株 中 型이 決定되지 않아 比較가 不可能한 6個 菌株를 除外한 나머지 42個 菌株에서 血清型과 生物型이 一致하는 境遇는 33個 菌株로

Table 2. Serotype distribution of *S. mutans* isolates, and their biochemical and cultural characteristics

Serotype	Strains	N	Mann-	Sorb-	Raff-	Melib-	NH ₃	Mannitol+	MSB	Hemolysis	Yellow	Biotype
			itol	itol	inose	iose	from	2 units/ml	sensi-		Pigment ^b	
							arginine	Bacitracin	tivity ^a			
b	5-1 ^c	1	+	+	+	-	-	-	-	γ	-	NT ^d
	5-3, 6-1, 8-1, 10-1											
	12-1, 13-1, 17-1, 18-1											
	23-1, 26-1, 27-3, 32-1											
	33-2	13	+	+	+	+	-	+	-	β	+	c
c	5-2, 21-1	2	+	+	+	+	-	-	+	α	-	a
	9-1	1	+	+	-	-	-	-	+	α	-	NT
	14-1, 19-1, 24-1	3	-	+	+	+	-	- ^e	+	α	-	NT
	22-1, 28-1	2	+	+	+	+	-	+	-	β	-	c
	11-2, 15-2, 27-1, 27-2											
	29-2, 30-1, 31-1, 33-1	8	+	+	-	-	-	+	-	α/γ	-	d
	4-2	1	+	+	+	+	-	-	+	α	-	a
d	7-1	1	+	+	-	-	-	-	-	γ	-	NT
	13-2	1	+	+	-	-	-	+	-	β	+	d
	15-3	1	+	-	-	-	-	+	-	α	-	d
e	1-1, 3-1, 11-1, 25-2	4	+	+	+	+	-	+	-	β	+	c
	4-1	1	+	+	+	+	-	+	-	γ	+	c
	2-1, 16-1, 18-2, 20-1	4	+	+	+	+	-	+	-	β	+	c
f	16-2	1	+	+	+	+	-	-	+	γ	-	a
	22-2	1	+	+	+	+	-	+	-	β	-	c
g	15-1, 25-1, 29-1	3	+	+	-	-	-	+	-	α/γ	-	d

a : MSB sensitive (+) strain represents that the strain does not grow on mitis-salivarius-bacitracin medium.

b : yellow pigment production on brain-heart infusion agar medium supplemented with 5% sucrose.

c : 5-1 represents 5th patient's first strain.

d : not done.

e : sorbitol substituted for mannitol.

Note : the strains of 4th, 5th, 7th, 9th, 14th, 16th, 19th, 21st and 24th patients were isolated from MS medium only.

Table 3. Prevalence of single and multiple isolations of *S. mutans* serotypes in 33 subjects who were known to harbor *S. mutans*

Serotype	Isolations	
	Single	Multiple
<i>a</i> ,	0 (0.0)*	<i>b,c</i> 1 (3.0)
<i>b</i>	0 (0.0)	<i>c,d</i> 3 (9.1)
<i>c</i>	14 (42.4)	<i>c,f</i> 2 (6.1)
<i>d</i>	3 (9.1)	<i>d,e</i> 2 (6.1)
<i>e</i>	2 (6.1)	<i>d,g</i> 2 (6.1)
<i>f</i>	3 (9.1)	<i>e,g</i> 1 (3.0)
<i>g</i>	0 (0.0)	
total:	22 (66.7)	11 (33.3)

* number (%)

Table 4. Serotype distribution among 48 isolates of *S. mutans*

Serotype	N	%
<i>a</i>	0	0.0
<i>b</i>	1	2.1
<i>c</i>	21	43.8
<i>d</i>	12	25.0
<i>e</i>	5	10.4
<i>f</i>	6	12.5
<i>g</i>	3	6.3
total:	48	

Table 5. Correlation between serotypes and biotypes

Case	N	%
Serotype is identical with biotype*	33	78.6
Serotype is not identical with biotype	9	21.4
total:	42	

* in the case of serotypes *c/f* and *d/g*, regarded it as a identical case, i.e. serotypes *c/f* and biotype *c*; serotypes *d/g* and biotype *d*.

Note: of the 48 isolates, comparison was impossible in remaining 6 isolates because of the these strains were not biotypeable.

78.6%였다 (Table 2, 5). 血清型 *c*와 *f*, *d*와 *g*는 生化學的 性狀이 같기*^(*)때문에 生物型 *c*는 血清型 *c*와 *f*, 生物型 *d*는 血清型 *d*와 *g*의 境遇 一致하는 것으로 看做하였다.

3. bacitracin感受性

MSB培地에서 48個 分離菌株에 對한 感受性 檢査를 한 結果 MS培地에서 *S. mutans*가 分離된 9名의 患者中 8名의 各 1個 菌株, 總 8個 菌株가 感受的으로 나타났다. 이 中에서 血清型 *c*가 6個 菌株, *d*와 *f*가 各各 1個 菌株로 나타났다 (Table 2).

4. β溶血 菌株의 分布

48個 分離菌株 中 綿羊血液培地上에서 β溶血을

Table 6. Serotype distribution among β-hemolytic and non-hemolytic *S. mutans* isolates

Serotype	Hemolysis	
	β	α/γ
<i>a</i>	0 (0.0)*	0 (0.0)
<i>b</i>	0 (0.0)	1 (2.1)
<i>c</i>	15 (31.3)	6 (12.5)
<i>d</i>	1 (2.1)	11 (22.9)
<i>e</i>	4 (8.3)	1 (2.1)
<i>f</i>	5 (10.4)	1 (2.1)
<i>g</i>	0 (0.0)	3 (6.3)
total:	25 (52.1)	23 (47.9)

* number (%)

Table 7. Serotype distribution among yellow pigment producing and non-pigment producing *S. mutans* isolates

Serotype	Pigment	
	+	-
<i>a</i>	0 (0.0)*	0 (0.0)
<i>b</i>	0 (0.0)	1 (2.1)
<i>c</i>	13 (27.1)	8 (16.7)
<i>d</i>	1 (2.1)	11 (22.9)
<i>e</i>	5 (10.4)	0 (0.0)
<i>f</i>	4 (8.3)	2 (4.2)
<i>g</i>	0 (0.0)	3 (6.3)
total:	23 (47.9)	25 (52.1)

* number (%)

Table 8. Occurrence of β -hemolysis and yellow pigment producing strains among 48 isolates of *S. mutans*

Strain characteristic		N (%)	Serotype distribution
β -hemolysis Pigment			
+	+	22 (45.8)	c;13, e;4, f;4, d;1
+	-	3 (6.3)	c;2, f;1
-	+	1 (2.1)	e;1
-	-	22 (45.8)	d;11, c;6, g;3, f;1 b;1

보인菌株은 25個 菌株로 52.1%였다. 이 中에서 血清型 c는 15個 菌株(31.3%), f는 5個 菌株(10.4%), e는 4個 菌株(8.3%), d는 1個 菌株(2.1%)로 나타났다(Table 6).

5. 黄色素生成 菌株의 分布

48個 分離菌株 中 5% 蔗糖培地上에서 黄色素를 生成하는 菌株은 23個 菌株로 47.9%였다. 이 中에서 血清型 c는 13個 菌株(27.1%), e는 5個 菌株(10.4%), f는 4個 菌株(8.3%), d는 1個 菌株(2.1%)로 나타났다(Table 7).

6. β 溶血 菌株과 黄色素生成 菌株의 聯關性 比較

48個 分離菌株 中 β 溶血과 黄色素生成을 함께 보인 菌株은 22個 菌株(45.8%), β 溶血이 있으나 黄色素生成을 하지 않는 菌株가 3個 菌株(6.3%), β 溶血없이 黄色素生成을 보인 菌株은 1個 菌株(2.1%), β 溶血과 黄色素生成을 모두 보이지 않는 菌株은 22個 菌株(45.8%)였다. β 溶血과 黄色素生成을 함께 보인 22個 菌株 中 血清型 c는 13個 菌株, e와 f는 各各 4個 菌株, d는 1個 菌株였고, β 溶血이 있으나 黄色素生成을 하지 않는 3個 菌株 中 c가 2個 菌株, f가 1個 菌株였으며, β 溶血 없이 黄色素生成을 보인 1個 菌株은 e였고, β 溶血과 黄色素生成을 모두 보이지 않는 22個 菌株 中 d는 11個 菌株, c는 6個 菌株, g는 3個 菌株, f와 b는 各各 1個 菌株였다(Table 8).

IV. 總括 및 考察

*S. mutans*는 平滑面 齶蝕部의 大部分에서 發見되며⁴⁰⁾, 咬合面 裂溝部 齶蝕部位에서는 共通的으로 나타나는 唯一한 細菌種으로서⁴¹⁾ *S. mutans*의 分離比率는 齒牙齶蝕程度와 一致하는 것으로 報告되고 있

다.^{40, 50)} 本 實驗에서 齶蝕罹患部 齒苔를 53名の 患者로부터 採取한 後 MSB培地와 MS培地에 培養하여 33名(62.3%)에서 *S. mutans*가 分離되었다(Table 1). 이 分離比率는 MM 10培地를 使用한 Grenier等²⁰⁾의 60%, MS培地를 使用한 Hoerman等³²⁾의 分離率 72%와 비슷하게 나타났다. Shklair等⁴⁹⁾의 88%에 比하면 낮은 分離率이다. 이것은 本 實驗에서 採取한 齒苔量이 적었기 때문으로 생각된다. 本 實驗에서 24名은 MSB培地에서 *S. mutans*가 分離되었고 補助的으로 使用한 MS培地로부터 9名에서 더 分離되었다. MS培地에서 分離된 9名 中에서 8名の 各 1個 菌株은 MSB培地에서 培養되지 않았다(Table 2). *S. mutans*中에서 血清型 a의 *S. mutans*는 bacitracin이 0.2unit添加되어 있는 MSB培地에서는 增殖하기 힘들다고 報告되어 있다.^{1, 28, 47)} 또한 血清型 a 菌株은 bacitracin 2units下에서 酸生成이 抑制된다고 알려져 있다.^{48, 51)} 本 實驗에서 血清型 a는 分離되지 않아 MSB培地에서의 增殖 與否는 確認할 수 없었으나 8個의 MSB 感受菌 中에서 血清型 c가 6個 菌株로 나타났다. MSB培地만을 使用할 境遇, 特定 菌株가 檢出되지 않을 수 있고 *S. mutans*의 血清型 分布에도 影響을 미칠 것으로 생각된다. 따라서 *S. mutans*의 分離培地로 MSB選擇培地를 使用할 境遇에는 다른 培地가 補助的으로 使用되어야 할 것으로 思料된다.

*S. mutans*는 表現型的으로는 同一한 菌¹⁹⁾이나 많은 研究結果 *S. mutans*間에 뚜렷한 抗原的, 遺傳的 異質性이 밝혀졌다.^{4, 7, 8, 10, 23, 28, 45)} Bratthall⁴⁾은 細胞壁多糖體 抗原에 따라 *S. mutans*를 5가지 血清型(a, b, c, d, e)으로 分類하였고, Perch等⁴⁵⁾은 2가지 새로운 血清型(f, g)을 發見하였다. 世界的으로 *S. mutans*血清型的 分布를 봤을 때 大部分의 境遇 血清型 c가 가장 優勢하게 나타나고 그 分布率

은 70%를 넘고 있다.^{4, 7, 9, 28, 39, 45, 46, 51)} 本實驗에서도 33名에서 分離된 48個 菌株 中 血清型 c가 가장 많이 나타났으나 分布率은 43.8% (21個 菌株)로 낮게 나타났다. 그 다음이 d로서 25.0% (12個 菌株), f는 12.5% (6個 菌株), e는 10.4% (5個 菌株), g는 6.3% (3個 菌株), b는 2.1% (1個 菌株)로 나타났고 血清型 a는 發見되지 않았다 (Table 4). *S. mutans*가 分離된 33名 中 血清型 c가 20名 (60.6%)에서 나타났고 d는 10名 (30.3%)의 患者에서 發見되었다 (Table 3).

齒苔內 *S. mutans*의 血清型 分布는 地域에 따라 다르게 나타나고 있다. Bratthall⁴⁾의 保管菌株 中에는 血清型 c/f가 71%, d/g는 10%, e는 7.1%였으며, Perch等⁴⁵⁾의 Denmark 檢體에서는 血清型 c가 73%, e는 7.1%, f와 g는 各各 6.3%, d는 約 1%로 나타났다. Qureshi等⁴⁶⁾은 Toronto 어린이의 齒苔로부터 血清型 c/f를 91.9%, d/g는 4.9%, e를 4% 分離하였다. Bright等⁹⁾은 Ohio州의 檢體中에 血清型 c가 79.7%, e는 9.5%, f는 5.6%, b와 g는 거의 나타나지 않고 a와 d는 發見되지 않았다고 報告하였으며, Thompson等⁵¹⁾은 保管菌株 中 血清型 c가 87%, e는 6%, d/g는 4%, f는 나타나지 않는다고 報告하였다. 이들 모든 調査에서 血清型 a와 b는 나타나지 않았거나 極히 낮은 比率로 分離되었다. 血清型 a와 b 菌株는 사람보다는 一般的으로 動物起原菌株로 생각되고 있다.²⁶⁾ 反面, Duany等¹⁴⁾은 Florida의 12~14歲 學生檢體를 하루 培養하여 螢光抗體法으로 檢査했을 때 血清型 b의 *S. mutans*가 大部分의 檢體에서 發見되었다. Grenier等²⁰⁾은 Michigan의 14~16歲 少年에서 檢取한 齒苔의 塗抹標本을 直接 螢光抗體法으로 觀察했을 때 血清型 a와 d/g는 모든 檢體에서 發見되고 b도 74%의 檢體에서 나타난다고 報告하였다. 그러나 以後 Loesche와 Grenier³⁹⁾는 하루 培養한 齒苔에서는 血清型 c가 가장 많이 나타나고 (75%) b의 分布率은 減少한다고 報告하였다. 그러나 血清型 d/g는 如前히 많은 分布率을 보였으며 e도 優勢하게 나타났다.³⁹⁾ 한便, Egypt의 Cairo에서도 血清型 a와 b가 優勢하게 나타나는 것으로 報告되었고⁹⁾, New Guinea의 檢體에서도 血清型 b가 c와 비슷한 頻度로 많이 나타나고 (22, 24%) d는 14%程度 나타나는 것으로 報告되었다.⁷⁾ 生物型으로 調査한 Shklair와 Keene⁴⁸⁾은 Illinois州 水兵의 97.4%에서 c가 發見되고 d는 7.7%, e는 4.6%에서 發見된다고 報告하

였다. 以後, 美國人과 Saudi Arabia人을 比較했을 때 美國人과는 달리 Saudi Arabia人에서는 血清型 c가 75.5%에서, d는 53.1%, e는 28.6%에서 나타남³⁴⁾으로써 *S. mutans*의 血清型 分布는 地域的 差異를 보이는 것으로 생각된다. 極東地域으로써 成績이 나타난 日本의 境遇는 螢光抗體法으로 調査한 3~7歲 어린이의 齒苔에서 血清型 c/f가 80.3%, d/g는 6.74%, e는 1.6%로 나타난 反面, a와 b는 發見되지 않았으며,²⁵⁾ 寒天免疫擴散法에 依한 血清型 分布調査에서는 4~9歲 어린이에서 c가 65.7%, f는 16.9%, e는 12.7%, g는 2.8%, d는 2%였고 亦是 a와 b는 發見되지 않았다.²⁴⁾ 以上の 血清型 分布調査들과 比較했을 때, 本實驗에서 分離한 *S. mutans*는 分明히 다른 特異한 血清型의 分布를 보임을 알 수 있다.

Shklair와 Keene,⁴⁸⁾ Qureshi等⁴⁶⁾은 血清型과 生物型이 一致한다고 報告하였으나 本實驗에서는 78.6%만 一致하였다 (Table 5). 本實驗에서 bacitracin感受菌인 4個의 生物型 a 菌株는 寒天免疫擴散法에 依한 血清型 檢査 結果 血清型 c가 2個 菌株, d와 f가 各各 1個 菌株로 밝혀졌다 (Table 2). Coykendall¹⁰⁾은 血清型 a는 嫌氣性으로 c와 區別되고 Shklair와 Keene⁴⁸⁾은 bacitracin에 依한 酸生成抑制로 血清型 a는 c와 區別된다고 報告하였다. Perch等⁴⁵⁾은 血清型 a, c, e, f는 生化學的 性狀이 비슷하여 같은 生物型으로 分類한 바 있다. 또한 本實驗에서 血清型 e로 밝혀진 5個 菌株 모두가 生物型 c로 나타난 菌株였다. 血清型 e는 melibiose 醱酵陰性反應으로 c와 區別이 되는 것으로 알려져 왔다.¹⁰⁾ 그러나 Perch等⁴⁵⁾은 血清型 e 菌株의 71%가 melibiose를 醱酵시킨다고 報告하였고, Thompson等⁵¹⁾의 境遇 血清型 e 菌株의 73%에서 melibiose 陽性反應을 보였으며, Hamada等²⁶⁾도 血清型 e 菌株 中 76%가 melibiose를 醱酵시킨다는 것을 確認하였다. 따라서 血清型과 生物型은 반드시 一致하지는 않는다는 것이 一般的인 見解로 받아들여지고 있다.²⁸⁾

本實驗에서 分離된 48個 菌株 中 3個 菌株는 mannitol 醱酵陰性으로 나타났다. 이들은 모두 MSB 培地에서 感受的이고 bacitracin에 依해 酸生成이 抑制되었으며 血清型 c로 나타났다 (Table 2). mannitol과 sorbitol 醱酵能力은 *S. mutans*의 表現型의 特性이라고 알려져 있다.^{21, 31, 45, 48)} 報告된 mannitol 醱酵陰性 菌株는 거의 없으나 Perch等⁴⁵⁾의 210個 菌株 中 2個 菌株는 陰性으로 나타났다. Tokelauan 菌株 中에서

는 mannitol이나 sorbitol, 또는 mannitol, sorbitol 모두 陰性으로 나타나는 것도 있다고 報告되었다.¹¹⁾ 本 實驗에서 sorbitol 陰性菌株가 1個 發見되었으나 sorbitol 陰性菌株는 種種 報告되고 있다.^{45, 48, 51)}

本 實驗에서 檢體當 2個의 血清型을 보인 患者는 全體 33名 中 11名 (33.3%)이었다 (Table 3). 大部分의 報告에서도 한 사람에서 여러 個의 血清型이 나타날 수 있다고 밝히고 있다.^{24, 25, 34, 48)} 齒苔檢體를 直接 塗抹標本하여 螢光抗體法을 利用하면 齒苔內에 存在하는 여러가지 血清型을 容易하게 檢出할 수 있는 것으로 報告되고 있다.^{20, 39, 51)} 그러나 螢光抗體法은 適切한 特異抗血清을 使用하지 않으면 *S. mutans* 血清型間, 다른 細菌種間에 交叉反應이 銳敏하게 일어나기 때문에 結果 判讀이 어렵다고 알려져 있다.^{5, 20, 25)}

血清型 特異抗原은 細胞壁에 있는 多糖體이고 *S. mutans*의 抗原은 抽出하는 方法에 따라 性質이 달라지거나 破壞될 수 있다.^{22, 27, 28, 37, 38, 42, 43, 52)} 本 實驗에서 使用한 高壓蒸氣滅菌에 依한 抽出法은 血清型 特異抗原의 抽出이 比較的 容易한 것으로 알려져 있다.^{5, 46)} 本 實驗에서 吸收시키지 않은 AHT (a), B-13(d), OMZ 65(g)에 對한 抗血清은 모두 a, d, g抗原과 交叉反應을 하는 것으로 나타났다. 交叉反應은 NCTC 10449(c), MT 703 R(e), OMZ 175(f)에 對한 抗血清과 c, e, f抗原間에도 나타났으나 a, d, g의 境遇보다는 弱했다 (Fig. 1, 2). 血清型 a/d/g間 交叉反應^{4, 6, 8, 20, 23, 25, 28, 30, 37, 38, 43, 45, 46, 47)} 과 c/e/f間 交叉反應^{6, 10, 20, 25, 28, 30, 45)}은 잘 알려진 事實이다. 그러나 吸收된 抗血清은 特異反應을 보였다 (Fig. 4, 5, 6). 本 實驗에서 使用한 AHT가 血清型 a로 確認된 것은 特記할 만한 事項이다. AHT는 처음 Bratthall에 依해 血清型 a로 알려졌다.⁴⁾ 血清型 抗原은 매우 安定된 것으로 알려져 있으나⁷⁾ 여러 實驗室에 保管되어 있는 AHT의 一部 substrain에서 抗原轉移가 일어나 血清型 g로 判明되었고^{23, 47)} 때로 d의 AHT substrain도 發見되었다.⁵¹⁾ 本 實驗에서는 AHT抗血清을 B-13과 OMZ 65로 吸收시키고, 또한 나머지 다른 血清型的 菌株로 吸收시켰을 때 AHT抗血清은 AHT抗原에 對해서만 沈降線이 나타남 (Fig. 4)으로써 本 實驗에서 使用된 AHT를 血清型 a로 確認할 수 있었다. Hardie와 Bowden³⁰⁾은 血清型 a와 d, c와 e의 細胞壁糖 構成은 같고, Coykendall^{10, 11)}은 血清型 d와 g, c와 e의 遺傳的 類似性を 報告하였다. 血清型 a/d/g間的 交叉反

應은 c/e/f間에서 보다 強하게 나타나는 것으로 보인다.⁴⁵⁾ 그러나 寒天免疫擴散法에 依하면 血清型 a와 d를 區別하는 것이 可能하며²⁵⁾ d와 g間에 血清學的, 遺傳的 類似성이 있더라도 寒天免疫擴散法에 依하면 分明한 血清學的 相異性を 알아낼 수 있다.²³⁾ 吸收시키지 않은 FA-1 (b)抗血清도 a와 g의 抗原과 弱한 交叉反應이 나타났다 (Fig. 3). 抗血清을 適切한 全菌吸收方法으로 血清型 a~g까지의 血清型-特異抗血清을 얻을 수 있는 것으로 報告되고 있다.^{6, 8, 25, 28, 30, 45)} 本 實驗에서도 全菌으로 吸收하여 血清型 a~g까지의 特異抗血清을 얻을 수 있었다 (Fig. 4, 5, 6).

Woltjes等^{53, 54)}은 *S. mutans*를 嫌氣狀態로 培養할 境遇 相當數의 β溶血 菌株가 發見되며, 이들 菌株의 大部分은 5% 蔗糖培地에서 黃色素를 生成할 수 있고 生物型 c와 e에 屬한다고 報告하였다. Perch等⁴⁵⁾은 卮急性 心內膜炎患者의 血液檢體에서 分離된 54個 菌株에서는 血清型 c, e, f만 나타나고 이中 16個 菌株가 β溶血을 보인다고 報告하였다. 本 實驗에서 48個 分離菌株 中 β溶血을 보인 菌株는 25個 菌株로 52.1%, 黃色素를 生成하는 菌株는 23個 菌株로 47.9%로 나타났다 (Table 6, 7). 이 比率은 Woltjes等⁵³⁾이 報告한 齒苔에서 分離한 *S. mutans* 中에서 β溶血을 보인 菌株의 比率 12.4%, 感染根管內 *S. mutans* 中 25.4%에 比하면 훨씬 높은 比率이다. 本 實驗에서 β溶血이나 黃色素를 보인 26個 菌株 中에서 β溶血과 黃色素生成을 함께 보인 菌株는 22個 菌株로 β溶血과 黃色素生成은 大部分 同時에 나타나고 있다. 또한 이들의 大部分은 血清型 c, e, f (21個 菌株), 生物型 c (21個 菌株)에 屬했다. 血清型 c, e, f인 32個 菌株 中에서 21個 菌株인 65.6%가 β溶血과 黃色素生成을 함께 보인 菌株였던 反面, 血清型 d와 g인 15個 菌株 中 14個 菌株인 93.3%가 β溶血과 黃色素生成을 하지않는 것으로 나타났다 (Table 8). 血清學的으로 *S. mutans*는 血清型 a/d/g群과 c/e/f群으로 크게 兩分될 수 있는데²⁸⁾ 두 群間에는 生化學的 性狀이 크게 다르며,^{10, 45, 46)} MS培地上에서 血清型 c/e/f는 거친 集落, d/g는 特徵的인 粘着集落을 보인다.²⁶⁾ 또한 PD培地에서의 集落形態는 血清型, 遺傳型, 生物型과 聯關성이 있는 것으로 報告되고 있다.³³⁾ 血清型 c/e/f는 T 2,000 dextran과 凝集하지 않으나 d/g는 迅速하게 凝集하는 것으로 나타나고 있다.²⁸⁾ 따라서 *S. mutans*의 生物學的 性狀의 差異에 關한 觀察은 血

清型을豫想하는데 도움이 되는 것으로 思料된다. 血清型 c에 비해 d가 glucan合成量이 많고 非水溶性 glucan의 比率도 높은 것으로 報告되고 있으나 血清型과 齶蝕原性 사이에는 聯關性이 없는 것으로 보인다.²⁸⁾

*S. mutans*의 血清型 分布에 對한 疫學的 調査는 抗原의 交叉反應에 關한 研究와 함께 *S. mutans* vaccine開發에 있어 重要한 過程이다. 따라서 보다 廣範圍한 血清型 分布調査가 要求된다. 本 實驗에서 分離된 菌株의 血清型 分布는 現在까지 報告된 것과는 分布樣相이 크게 다르고 各 血清型에 따른 一般的인 生物學的 性狀과 매우 다른 性狀을 보이는 菌株가 많았으며, β 溶血 菌株가 많이 發見된 것은 매우 興味있는 事實으로써 繼續的인 追跡研究가 必要한 것으로 思料된다.

V. 結 論

53名の 齒牙齶蝕症 患者의 齶蝕罹患部 齒苔로부터 *mitis-salivarius-bacitracin*(MSB)培地와 *mitis-salivarius*(MS)培地에서 *S. mutans*를 分離·同定한 後, 生物型을 決定하였으며 分離菌株를 高壓蒸氣滅菌하여 抽出한 抗原과 特異抗血清과의 反應을 寒天免疫擴散法으로 觀察하여 血清型을 決定하였다. 아울러, 綿羊血液培地에서의 溶血狀 및 5% 蔗糖培地에서의 黃色素生成 與否를 調査하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 53名の 患者 中 33名에서 *S. mutans*가 分離되어 62.3%의 分離率을 보였고, 이들로 부터 總 48個 菌株를 分離하였다.
2. 分離된 *S. mutans* 中 一部 菌株는 MSB培地에 感受的으로 나타났다.
3. *S. mutans*가 分離된 患者 中 血清型 c가 60.6%에서 나타났고 d는 患者의 30.3%에서 나타났다.
4. 分離된 *S. mutans* 中 血清型 c가 43.8%로 가장 많이 나타났고 그 다음, d가 25.0%였고 b, e, f, g는 적은 比率로 나타났으며 a는 發見되지 않았다.
5. 血清型과 生物型이 一致한 境遇는 78.6%였다.
6. 分離된 *S. mutans* 中 β 溶血을 보인 菌株는 52.1%, 黃色素를 生成하는 菌株는 47.9%였으며, 이들 大部分은 血清型 c, e, f菌株로 나타났다.
7. β 溶血을 보이는 *S. mutans*는 大部分 同時에

黃色素를 生成하는 것으로 나타났다.

REFERENCES

- 1) 浜田茂幸, 増田典男, 鳥居光男: ウ蝕原性レンサ球菌の分離·同定法. 日本齒科評論, 415: 125, 1977.
- 2) Bowen, W.H.: A vaccine against dental caries. A pilot experiment in monkeys (*Macaca irus*). Brit. Dent. J., 126:159, 1969.
- 3) Bratthall, D.: Immunodiffusion studies on the serological specificity of streptococci resembling *Streptococcus mutans*. Odont. Revy, 20:231, 1969.
- 4) Bratthall, D.: Demonstration of five serological groups of streptococcal strains resembling *Streptococcus mutans*. Odont. Revy, 21:143, 1970.
- 5) Bratthall, D.: Demonstration of *Streptococcus mutans* strains in some selected areas of the world. Odont. Revy, 23:1, 1972 (cited from reference 34).
- 6) Bratthall, D.: Immunofluorescent identification of *Streptococcus mutans*. Odont. Revy, 23:181, 1972.
- 7) Bratthall, D. and Köhler, B.: *Streptococcus mutans* serotypes: Some aspects of their identification, distribution, antigenic shifts, and relationship to caries. J. Dent. Res., 55:C15, 1976.
- 8) Bratthall, D. and Pettersson, B-M.: Common and unique antigens of *Streptococcus mutans*. J. Dent. Res., 55:A60, 1976.
- 9) Bright, J.S., Rosen, S. and Chorpenning, F.W.: Survey of the seven serological types of *Streptococcus mutans* in six-year-old children. J. Dent. Res., 56:1421, 1977.
- 10) Coykendall, A.L.: Four types of *Streptococcus mutans* based on their genetic, antigenic and biochemical characteristics. J. Gen. Microbiol., 83:327, 1974.

- 11) Coykendall, A.L., Bratthall, D., O'Connor, K. and Dvarskas, R.A.: Serological and genetic examination of some nontypical *Streptococcus mutans* strains. *Infect. Immunity*, 14:667, 1976.
- 12) Dent, V.E. and Marsh, P.D.: Evidence for a basic plaque microbial community on the tooth surface in animals. *Archs. Oral Biol.*, 26:171, 1981.
- 13) Drucker, D.B. and Melville, T.H.: The classification of some oral streptococci of human or rat origin. *Archs. Oral Biol.*, 16:845, 1971.
- 14) Duany, L.F., Jablon, J.M. and Zinner, D.D.: Epidemiologic studies of caries-free and caries-active students. I. Prevalence of potentially cariogenic streptococci. *J. Dent. Res.*, 51:723, 1972.
- 15) Edwardsson, S.: Characteristics of caries-inducing human streptococci resembling *Streptococcus mutans*. *Archs. Oral Biol.*, 13:637, 1968.
- 16) Fitzgerald, R.J. and Keyes, P.H.: Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. *J. Am. Dent. Asso.*, 61:9, 1960.
- 17) Gibbons, R.J. and Banghart, S.B.: Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human dental plaque. *Archs. Oral Biol.*, 12:11, 1967.
- 18) Gibbons, R.J. and van Houte, J.: Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Ann. Rev. Microbiol.*, 29:19, 1975.
- 19) Gold, O.G., Jordan, H.V. and van Houte, J.: A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Archs. Oral Biol.*, 18:1357, 1973.
- 20) Grenier, E.M., Eveland, W.C. and Loesche, W.J.: Identification of *Streptococcus mutans* serotypes in dental plaque by fluorescent antibody technique. *Archs. Oral Biol.*, 18:707, 1973.
- 21) Guggenheim, B.: Streptococci of dental plaques. *Caries Res.*, 2:147, 1968.
- 22) Hamada, S., Gill, K. and Slade, H.D.: Chemical and immunological properties of the type f polysaccharide antigen of *Streptococcus mutans*. *Infect. Immunity*, 14:203, 1976.
- 23) Hamada, S., Masuda, N. and Kotani, S.: Demonstration of serotype d and g specificities of *Streptococcus mutans* by immunodiffusion. *Archs. Oral Biol.*, 23:495, 1978.
- 24) Hamada, S., Masuda, N. and Kotani, S.: Isolation and serotyping of *Streptococcus mutans* from teeth and feces of children. *J. Clin. Microbiol.*, 11:314, 1980.
- 25) Hamada, S., Masuda, N., Ooshima, T., Sobue, S. and Kotani, S.: Epidemiological survey of *Streptococcus mutans* among Japanese children. Identification and serological typing of the isolated strains. *Japan. J. Microbiol.*, 20:33, 1976.
- 26) Hamada, S., Masuda, N. and Shimamoto, T.: Some biological properties of *Streptococcus mutans* isolated from human mouths, with reference to the correlation with serotypes. *Archs. Oral Biol.*, 24:627, 1979.
- 27) Hamada, S. and Slade, H.D.: Purification and immunochemical characterization of type e polysaccharide antigen of *Streptococcus mutans*. *Infect. Immunity*, 14:68, 1976.
- 28) Hamada, S. and Slade, H.D.: Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol. Rev.*, 44:331, 1980.
- 29) Hamada, S. and Torii, M.: Effect of sucrose in culture media on the location of glucosyltransferase of *Streptococcus mutans* and cell adherence to glass surfaces. *Infect. Immunity*, 20:592, 1978.
- 30) Hardie, J.M. and Bowden, G.H.: Cell wall and serological studies on *Streptococcus mutans*. *Caries Res.*, 8:301, 1974.
- 31) Hardie, J.M. and Bowden, G.H.: Physiological classification of oral viridans streptococci.

- cci. J. Dent. Res., 55:A166, 1976.
- 32) Hoerman, K.C., Keene, H.J., Shklair, I.L. and Burmeister, J.A.: The association of *Streptococcus mutans* with early carious lesions in human teeth. J. Am. Dent. Ass., 85:1349, 1972.
 - 33) Ikeda, T., Ochiai, K. and Shiota, T.: Taxonomy of the oral *Streptococcus mutans* based on colonial characteristics and serological, biochemical and genetic features. Archs. Oral Biol., 24:863, 1979.
 - 34) Keene, H.J., Shklair, I.L., Mickel, G.J. and Wirthlin, M.R.: Distribution of *Streptococcus mutans* biotypes in five human population. J. Dent. Res., 56:5, 1977.
 - 35) Krasse, B.: Human streptococci and experimental caries in hamsters, Archs. Oral Biol., 11:429, 1966.
 - 36) Krasse, B., Edwardsson, S., Svensson, I. and Trel, L.: Implantation of caries-inducing streptococci in the human oral cavity. Archs. Oral Biol., 12:231, 1967.
 - 37) Linzer, R., Mukasa, H. and Slade, H.D.: Serological purification of polysaccharide antigens from *Streptococcus mutans* serotypes *a* and *d*: Characterization of multiple antigenic determinants. Infect. Immunity, 12:791, 1975.
 - 38) Linzer, R. and Slade, H.D.: Purification and characterization of *Streptococcus mutans* group *d* cell wall polysaccharide antigen. Infect. Immunity, 10:361, 1974.
 - 39) Loesche, W.J. and Grenier, E.: Detection of *Streptococcus mutans* in plaque samples by the direct fluorescent antibody test. J. Dent. Res., 55:A87, 1976.
 - 40) Loesche, W.J., Rowan, J., Straffon, L.H. and Loos, P.J.: Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. Infect. Immunity, 11:1252, 1975.
 - 41) Meiers, J.C., Wirthlin, M.R. and Shklair, I.L.: A microbiological analysis of human early carious and non-carious fissures. J. Dent. Res., 61:460, 1982.
 - 42) Mukasa, H. and Slade, H.D.: Structure and immunological specificity of the *Streptococcus mutans* group *b* cell wall antigen. Infect. Immunity, 7:578, 1973.
 - 43) Mukasa, H. and Slade, H.D.: Extraction, purification, and chemical and immunological properties of the *Streptococcus mutans* group "a" polysaccharide cell wall antigen. Infect. Immunity, 8:190, 1973.
 - 44) Newbrun, E.: Microflora. In "Cariology". The Williams & Wilkins Company, Baltimore, p. 44~75, 1979.
 - 45) Perch, B., Kjems, E. and Ravn, T.: Biochemical and serological properties of *Streptococcus mutans* from various human and animal sources. Acta Path. Microbiol. Scand. Section B, 82:357, 1974.
 - 46) Qureshi, J.V., Goldner, M., le Riche, W.H. and Hargreaves, J.A.: *Streptococcus mutans* serotypes in young schoolchildren. Caries Res., 11:141, 1977.
 - 47) Russell, R.R.B.: Comparison of oral *Streptococcus mutans* AHT with strains of serotypes *a* and *g* by biochemical and electrophoretic methods. Archs. Oral Biol., 24:617, 1979.
 - 48) Shklair, I.L. and Keene, H.J.: A biochemical scheme for the separation of the five varieties of *Streptococcus mutans*. Archs. Oral Biol., 19:1079, 1974.
 - 49) Shklair, I.L., Keene, H.J. and Simonson, L.G.: Distribution and frequency of *Streptococcus mutans* in caries-active individuals. J. Dent. Res., 51:882, 1972.
 - 50) de Stoppelaar, J.D., van Houte, J. and Dirks, O.B.: The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. Caries Res., 3:190, 1969.
 - 51) Thompson, L.A., Little, W. and Hageage, G.J.: Application of fluorescent antibody

- methods in the analysis of plaque samples.
J. Dent. Res., 55:A80, 1976.
- 52) Wetherell, J.R. Jr. and Bleiweis, A.S.:
Antigens of *Streptococcus mutans*: Char-
acterization of a polysaccharide antigen
from walls of strain GS-5. Infect. Immunity,
12:1341, 1975.
- 53) Woltjes, J., Legdeur-Velthuis, H., Eggink,
C.O. and de Graaff, J.: β -haemolysis and
pigment production by the oral bacterium
Streptococcus mutans. Archs. Oral Biol.,
27:279, 1982.
- 54) Woltjes, J., Legdeur-Velthuis, H. and de
Graaff, J.: Detection and characterization
of hemolysin production in *Streptococcus
mutans*. Infect. Immunity, 31:850, 1981.
- 55) Yamada, T. and Carlsson, J.: Regulation
of lactate dehydrogenase and change of
fermentation products in streptococci. J.
Bacteriol., 124:55, 1975.

A STUDY ON THE ISOLATION AND SEROTYPING OF *STREPTOCOCCUS MUTANS* FROM DENTAL PLAQUE OF CARIOUS LESION

Chae Dong Lee, Ho Young Choi, Sang Jin Park

Department of Operative Dentistry, Kyung Hee University

Streptococcus mutans strains were isolated from dental plaques of carious lesions of 53 patients on mitis-salivarius-bacitracin (MSB) and mitis-salivarius(MS) medium as a supplement. The epidemiological investigation was carried out to determine the biotypes and serotypes of *S. mutans* isolates. For the serotyping, autoclaved extract antigens from the isolates and serotype-specific antisera against seven known serotypes of *S. mutans* were prepared. The serotypes of the isolates were demonstrated in immunodiffusion test. In addition, the prevalence of β -hemolysis on 5% sheep blood agar plate in restricted anaerobic condition and yellow pigment production on 5% sucrose agar plate in less anaerobic condition among the isolates were investigated. The results were as follows:

1. Forty-eight *S. mutans* strains were isolated from dental plaque samples of 33 patients (62.3%) among 53 patients.
2. Of the isolates, some strains were not grown on MSB medium.
3. Serotype *c* *S. mutans* was found in 60.6%, serotype *d* was found in 30.3% of the patients who were known to harbor *S. mutans*.
4. Of the isolates, serotype *c* isolates were most prevalent (43.8%), serotype *d* isolates were 25.0%, and serotype *b*, *e*, *f* and *g* isolates were also found but in lower frequencies. Serotype *a* *S. mutans* were not detected.
5. The correlation between serotype and biotype of the isolates was found in 78.6% of the typing cases.
6. Strains revealed β -hemolysis were in 52.1% of the isolates, strains produced yellow pigment were in 47.9% of the isolates, and with one exception, all the strains were belong to serotype *c*, *e* and *f*.
7. The majority of the isolates which revealed β -hemolysis appeared to be yellow pigmented, these isolates were belong to serotype *c*, *e* and *f*.