

齒牙齶蝕症患者와 齒牙正常人の 齒苔에서 分離한 *Streptococcus mutans*의 血清型 分布에 關한 調查 研究

慶熙大學校 齒科大學 豫防齒科學教室

李 振 鏞·崔 有 鎮

慶熙大學校 醫科大學 微生物學教室*

夏 潤 文

=Abstract=

A Survey of the Serotype Distribution of *Streptococcus mutans* Isolated from Dental Plaques of Caries-active and Caries-free Subjects

Jean-Yong Lee, Eu-Gen Choi

Department of Preventive Dentistry, School of Dentistry

Youn-Mun Ha*

*Department of Microbiology, School of Medicine, Kyung Hee University,
Seoul, Korea

An epidemiological survey was carried out to identify the serotypes of *Streptococcus mutans* isolated from carious lesions of 65 caries-active subjects (CAS) and sound tooth surfaces of 40 caries-free subjects (CFS). The autoclaved antigen extract was performed on each isolate, and then, serotypes of the isolates were determined in agar-gel immunodiffusion test.

The results were as follows:

1. *S. mutans* was found in 78% of the samples of CAS, and of CFS. The difference of isolation frequency between CAS and CFS was not observed.
2. Only one serotype per single subject was detected in 61% of total samples, in remaining 39% of samples two or more serotypes were detected.
3. In 41.2% of CAS samples plural serotypes of *S. mutans* were found, whereas 35.5% of CFS samples showed plural serotypes distribution.
4. The most frequently identified serotype in each subject was serotype *c*: 69.5% of subjects harbored serotype *c* *S. mutans*. Serotype *d* was next most frequently isolated from subjects, comprising 23.2%.
5. Serotype *c* strain was found in 64.7% of CAS, 77.4% of CFS.
6. Of the isolates from CAS and CFS, serotype *c* was most commonly found, comprising 48.8%, serotype *d* was found in 16.3%, serotypes *f*, *e*, and *g* comprising 13.2%, 9.3%, and 7.8% respectively. Serotypes *a* and *b* were also found but in far lower frequencies (2.3%, 0.8%).
7. Serotype *c* strains were more found in CFS than in CAS, but serotypes *d* and *e* were more found in CAS.

結 論

*Streptococcus mutans*는 齶蝕罹患部에서 가장 많이

分離되는 種으로 動物과 試驗管内 實驗을 通해 *S. mutans*의 齶蝕原性이 立證되어 왔다^{18,19}. 最近에 *S. mutans*를 利用한 齶蝕豫防 vaccine의 開發을 爲해 많은 研究가 進行되었고, 研究結果 vaccine에 依한 齶蝕

發生抑制의 可能性을 充分히 期待할 수 있게 되었다¹⁸⁾.

*S. mutans*는 細胞壁糖의 構成²⁰⁾, 遺傳學的 狀性⁹⁾, 生化學的²⁴⁾, 血清學的 性狀^{4, 31)}에 따라 여러 가지 型으로 分類되고 있다. 副作用이 없고 效果의인 免疫原의 開發에 必須의인 抗原研究에 있어 *S. mutans* 菌株間의 血清學的, 免疫學的 關聯性 때문에 *S. mutans*의 血清學的 分類는 보다 重要하며, 血清型의 分布에 對한 疫學調査는 先行되어야 할 重要한 課題이다.

*S. mutans*는 처음 Bratthall⁴⁾에 의해 5가지 血清型(a~e)으로 分類되었고, 以後 Perch 等³¹⁾이 새로운 血清型 f, g를 發見하여 7가지로 分類하였다.

*S. mutans*의 血清型 分布를 世界的으로 觀察했을 때, 大部分의 國家에서 c型이 가장 優勢하게 나타나고, a와 b型은 極히 少數가 發見되고 있다^{4, 5, 6, 8, 15, 16, 26, 31, 32, 37)}. 그러나 血清型 分布는 地域의인 差異를 보여 一部 國家에서는 a b型의 分離頻度가 높게 나타나고 있다^{5, 6, 10, 11, 19)}. 한편, *S. mutans*의 分離比率²¹⁾이나 血清型의 分布²²⁾가 食餌內 糖의 種類와 程度에 따라 달라진다는 動物實驗 結果에 비추어 볼 때, 食習慣이 獨特한 韓國人의 *S. mutans* 血清型 分布에 關한 調査는 興味있는 일이라 하겠다. 또한 血清型 分布調査는 vaccine 研究의 必須의인 段階임에는 不拘하고 韓國人에서 *S. mutans*의 血清型 分布에 關한 調査가 報告된 바 없어, 著者들은 齒牙正常人과 齒牙齶蝕症患者의 齒苔로부터 多數의 *S. mutans*를 分離하여 그 血清型을 調査하여 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. *S. mutans*의 分離 및 同定

齒牙齶蝕症이 活發히 進行 中에 있는 65名의 齶蝕罹患部에서 excavator로 齒苔를 採取하였다. 同時에, 齒牙齶蝕症이 없는 40名의 正常人의 齒面으로 부터 齒周 curette를 利用하여 齒苔를 採取하였다. 採取된 齒苔는 0.1% yeast extract(Difco Laboratories) 溶液에 輸送하여 vortex mixer로 20秒間 攪拌한 다음 mitis-salivarius 培地(Difco Laboratories)와 MSB 培地¹²⁾에 塗抹하였다. 培地는 37°C, GasPak system 下에서 48時間 培養한 後, 24時間 室溫에 放置하여 나타난 特徵的인 *S. mutans*의 集落¹¹⁾을 採取하여 brain-heart infusion 寒天培地(Gibco)에 繼代·保管하였다. 以後 mannitol과 sorbitol 醱酵試驗에서 陽性反應을 보인 菌株을 *S. mutans*로 確認·同定하였다¹¹⁾.

2. 血清型—特異抗血清의 準備

標準菌株

抗血清을 얻기 爲한 標準菌株로서 AHT(血清型 a), FA 1(b), NCTC 10449(c), B 13(d), MT 703 R(e), OMZ 175(f), OMZ 65(g)를 使用하였다.

免疫

BHI broth(Difco Laboratories)에서 培養된 標準菌株을 formalin으로 處理한 다음 生理食鹽水로 4,000 rpm(Sorvall RC-2 B; Ivan Sorvall Inc.)에서 15分間 3回 洗淨하였다. 洗淨된 各各의 *S. mutans* 菌株을 1×10^8 cells/ml 濃度로 調節하여 5日 間隔으로 토끼 耳靜脈에 免疫시켜 抗血清을 얻었다.

血清型—特異抗血清

通法¹⁴⁾에 따라 血清學的 交叉反應³¹⁾이 나타나는 血清型 菌株로 부터 始作하여 抗血清의 免疫原으로 使用된 同 菌株 以外의 모든 菌株로 抗血清을 吸收시켰다. 寒天免疫擴散法으로 다른 血清型과의 交叉反應이 나타나지 않는 것이 確認될 때까지 反復·吸收시켰다.

抗原抽出

Bratthall과 Pettersson²⁷⁾의 方法에 따라 高壓蒸氣滅菌으로 血清型 抗原을 抽出하였다.

3. 分離菌株의 serotyping

寒天免疫擴散法에 의해 分離菌株의 血清型을 決定하였다. 즉, Tris-HCl buffer(pH 8.6)에 agarose(Sigma Chemical Co.)를 0.8% 溶解시켜 slide 上에서 gel을 단든 다음 well을 直徑 3mm, 깊이 2mm, well 間의 距離를 4mm로 cut한 後 中央 well에는 抗血清, 周圍 well에는 分離菌株로 부터 抽出한 抗原을 各各 8 μ l씩 分注하였다. 以後에 室溫에서 3日間 1日 1回씩 沈降線을 觀察하여 血清型을 決定하였다.

成 績

1. *S. mutans* 分離率

總 105名의 檢體 中 82名에서 *S. mutans*가 分離되어 78.1%의 分離率을 보였다(Table 1). 이 가운데 齒牙齶蝕症患者 65名의 境遇, 51名(78.5%)에서 *S. mutans*가 分離되었고, 40名의 正常人 中에서 *S. mutans*가 分離된 사람은 31名(77.5%)이었다.

2. 檢體의 血清型 分布

*S. mutans*가 分離된 總 82名의 檢體 中에서 1가지 血清型만이 나타난 境遇는 50名으로 61%. 2가지 以上

Table 1. Isolation frequency of *Streptococcus mutans* from dental plaques of caries-active and caries-free subjects

考 擦

Subject	<i>S. mutans</i> detected	<i>S. mutans</i> not detected	Total N
	N(%)	N(%)	
Caries-active	51(78.5)	14(21.5)	65
Caries-free	31(77.5)	9(22.5)	40
Total	82(78.1)	23(21.9)	105

의 血清型을 보인 境遇는 32명으로 39%였다(Table 2). 82명 가운데 c형이 나타난 사람은 57명(69.5%)으로 가장 많았고, d가 19명(23.2%), f가 15명(18.3%), e가 12명(14.6%), g가 10명(12.2%), a와 b형은 少數 發見되었다.

齶蝕罹患部 檢體에서 *S. mutans*가 分離된 51명 가운데 30명(58.8%)이 1가지 血清型 만을 보였고, 21명(41.2%)은 2가지 以上の 血清型을 보였다. c형은 51명 中 33명(64.7%)에서 나타나 가장 많았고, d형이 그 다음으로 14명(27.5%)에서 發見되었다.

*S. mutans*가 分離된 31명의 正常人 檢體 가운데 1가지 血清型 만이 나타난 사람은 20명(64.5%)이었고, 2가지 以上の 血清型이 나타난 사람은 11명(35.5%)이었다. c형이 가장 많은 24명(77.4%)에서 나타났고, f가 6명(19.4%), d가 5명(16.1%)에서 發見되었다.

3. 分離菌株의 血清型 分布

82명으로 부터 分離된 總 109個 菌株 中에서 가장 많이 나타난 血清型은 c형으로 63個 菌株(48.8%), 그 다음이 d형으로 21個 菌株(16.3%), f가 17個 菌株(13.2%), e가 12個 菌株(9.3%), g가 10個 菌株(7.8%), a가 3個 菌株(2.3%), b는 1個 菌株(0.8%)였다. 2個 菌株(1.6%)는 型을 決定할 수 없었다(Table 3).

齶蝕罹患部 檢體에서 分離된 81個 菌株 中에서 c형은 35個 菌株(43.2%), d 16個 菌株(19.8%), e와 f가 各各 10個 菌株(12.3%), g가 6個 菌株(7.4%), a가 2個 菌株(2.5%), b가 1個 菌株(1.2%)發見되었다.

正常人 檢體에서 分離된 48個 菌株 가운데 c가 28個 菌株(58.3%), f가 7個 菌株(14.6%), d가 5個 菌株(10.4%), g가 4個 菌株(8.3%), e가 2個 菌株(4.2%), a가 1個 菌株(2.1%)였다. b형은 나타나지 않았다.

*S. mutans*는 大部分의 齶蝕罹患部에서 分離되고²⁹⁾, 分布率도 正常部位보다 齶蝕罹患部에서 높게 나타나고 있다²⁹⁾. 本 調査에서 *S. mutans*는 齶蝕罹患部 檢體中 78.5%에서 分離되었다. 한편, 正常人에서도 77.5%의 分離率을 보여 兩群 間에 差異는 나타나지 않았다 (Table 1). *S. mutans*는 齶蝕罹患部에서 뿐만 아니라 分布率은 낮지만 正常部位에서도 大部分의 境遇 *S. mutans*가 나타나는 것으로 報告되고 있다²⁹⁾.

Bratthall¹⁴⁾과 Perch 等²¹⁾이 *S. mutans*의 血清型을 提示한 以後, 여러 國家에서 血清型 分布에 對한 調査가 이루어졌다. Europe과 美洲地域에서는 大部分 c 血清型이 優勢하게 나타나고 있고, 分布率도 分離菌株 中 70~90% 程度로 높게 나타나고 있다^{4, 5, 6, 8, 26, 31, 32, 37)}. 共通의으로 이들 地域에서는 d, e, f와 g 血清型은 少數, a와 b형은 거의 發見되지 않았다. 그러나 같은 美國 內에서도 Duany 等^{10, 11)}이 報告한 Miami 地域에서는 b형이 가장 많이 나타났고, Grenier 等¹³⁾이 調査한 Michigan의 14~16歲 어린이의 齒苔에서도 a와 d형은 100%, b형도 74%에서 發見되었으나 c형은 8%에서만 나타났다. 한편, Cairo⁹⁾에서는 a와 b형이 優勢하게 나타났고, New Guinea⁸⁾의 境遇 b와 c형이 비슷한 頻度로 分離되었고(各各 22%, 25%), d형은 14%의 分布率을 보였다. 生物型으로 調査한 Keene 等¹⁵⁾의 경우, Saudi Arabia 人에서는 c형이 75.5%, d는 53.1%, e는 28.6%에서 나타난다고 報告하였다. 가까운 日本의 境遇, 螢光抗體法으로 調査한 3~7歲 어린이의 齒苔에서는 血清型 c/(f型 包含)가 80.3%, d/g가 6.74%, e가 1.6%로 나타났고, a와 b형은 나타나지 않았다¹⁶⁾. 또한 寒天免疫擴散法으로 調査한 4~9歲 어린이의 齒苔에서는 c형이 65.7%, f는 16.9%, e는 12.7%, g는 2.8%, d는 2.0%였고 a와 b형은 亦是 發見되지 않는 것으로 報告되었다¹⁷⁾. 本 著者들의 調査에서도 c형이 가장 많이 나타났다. *S. mutans*가 分離된 82명 가운데 57명(69.5%)에서 c형이 發見되었고 (Table 2), 總 129個 分離菌株에 對한 c형의 分布率은 48.8%로 나타났다 (Table 3). 그러나 Europe과 美洲地域의 c형 分布率에 比해선 낮은 것이다. 한편 d형은 16.3%의 分布率을 보였고, f가 13.2%, e와 g는 8% 內외의 分布率을 보였으며, a는 2.3%, b는 0.8%로 나타났다.

著者들이 調査한 129個 菌株 全體, 또는 齶蝕罹患部에서 分離한 81個 菌株에 對한 血清型 分布는 外國에

Table 2. Prevalence of single and multiple isolations of *S. mutans* serotypes in caries-active and caries-free subjects who were known to harbor of *S. mutans*

Single isolations	Caries-active subjects				Caries-free subjects				Caries-active + Caries-free subjects								
	Multiple isolations		Combined*		Multiple isolations		Combined		Multiple isolations		Combined						
	ST	N (%)	ST	N (%)	ST	N (%)	ST	N (%)	ST	N (%)	ST	N (%)					
<i>a</i>	0 (0.0)	<i>ad</i>	1 (2.0)	<i>a</i>	2 (3.9)	<i>a</i>	0 (0.0)	<i>ag</i>	1 (2.2)	<i>a</i>	1 (3.2)	<i>a</i>	0 (0.0)	<i>ad</i>	1 (1.2)	<i>a</i>	3 (3.7)
<i>b</i>	0 (0.0)	<i>bc</i>	1 (2.0)	<i>b</i>	1 (2.0)	<i>b</i>	0 (0.0)	<i>cd</i>	2 (6.5)	<i>b</i>	0 (0.0)	<i>b</i>	0 (0.0)	<i>ag</i>	1 (1.2)	<i>b</i>	1 (1.2)
<i>c</i>	19 (37.3)	<i>cd</i>	4 (7.8)	<i>c</i>	33 (64.7)	<i>c</i>	17 (54.8)	<i>ce</i>	1 (3.2)	<i>c</i>	24 (77.4)	<i>c</i>	36 (43.9)	<i>bc</i>	1 (1.2)	<i>c</i>	57 (69.5)
<i>d</i>	3 (5.9)	<i>cf</i>	3 (5.9)	<i>d</i>	14 (27.5)	<i>d</i>	0 (0.0)	<i>cf</i>	2 (6.5)	<i>d</i>	5 (16.1)	<i>d</i>	3 (3.7)	<i>cd</i>	6 (7.3)	<i>d</i>	19 (23.2)
<i>e</i>	4 (7.8)	<i>cg</i>	2 (3.9)	<i>e</i>	10 (19.6)	<i>e</i>	0 (0.0)	<i>cg</i>	1 (3.2)	<i>e</i>	2 (6.5)	<i>e</i>	4 (4.9)	<i>ce</i>	1 (1.2)	<i>e</i>	12 (14.6)
<i>f</i>	3 (5.9)	<i>de</i>	2 (3.9)	<i>f</i>	9 (17.6)	<i>f</i>	1 (3.2)	<i>df</i>	1 (3.2)	<i>f</i>	6 (19.4)	<i>f</i>	4 (4.9)	<i>cf</i>	5 (6.1)	<i>f</i>	15 (18.3)
<i>g</i>	0 (0.0)	<i>dg</i>	2 (3.9)	<i>g</i>	6 (11.8)	<i>g</i>	1 (3.2)	<i>dg</i>	1 (3.2)	<i>g</i>	4 (12.9)	<i>g</i>	1 (1.2)	<i>cg</i>	3 (3.7)	<i>g</i>	10 (12.2)
NT*	1 (2.0)	<i>ef</i>	1 (2.0)	NT	1 (2.0)	NT	1 (3.2)	<i>ef</i>	1 (3.2)	NT	1 (3.2)	NT	2 (2.4)	<i>de</i>	2 (2.4)	NT	2 (2.4)
		<i>eg</i>	1 (2.0)					<i>cdf</i>	1 (3.2)					<i>df</i>	1 (1.2)		
		<i>acf</i>	1 (2.0)											<i>dg</i>	3 (3.7)		
		<i>cde</i>	1 (2.0)											<i>ef</i>	2 (2.4)		
		<i>cdg</i>	1 (2.0)											<i>cg</i>	1 (1.2)		
		<i>cef</i>	1 (2.0)											<i>acf</i>	1 (1.2)		
														<i>cde</i>	1 (1.2)		
														<i>cdf</i>	1 (1.2)		
														<i>cdg</i>	1 (1.2)		
														<i>cef</i>	1 (1.2)		
Total:30(58.8)		21(41.2)		51(100.0)		Total:20(64.5)		11(35.5)		31(100.0)		Total:50(61.0)		32(39.0)		82(100.0)	

a frequency of serotypes occurring single or in combination with other serotypes.
b serotype.
c not typable.

Table 3. Serotype distribution of isolated *S. mutans* strains

Serotype	Caries-active subjects	Caries-free subjects	Total
	N (%)	N (%)	
a	2 (2.5)	1 (2.1)	3 (2.3)
b	1 (1.2)	0 (0.0)	1 (0.8)
c	35 (43.2)	28 (58.3)	63 (48.8)
d	16 (19.8)	5 (10.4)	21 (16.3)
e	10 (12.3)	2 (4.2)	12 (9.3)
f	10 (12.3)	7 (14.6)	17 (13.2)
g	6 (7.4)	4 (8.3)	10 (7.8)
NT*	1 (1.2)	1 (2.1)	2 (1.6)
Total	81(100.0)	48(100.0)	129(100.0)

* not typable

시 報告된 것과는 다른 樣相을 보여주고 있음을 알 수 있다.

齶蝕罹患部에서 分離한 菌株와 正常人에서 分離한 菌株 間의 血清型 分布를 比較했을 때 齶蝕罹患部の 菌株보다 正常人的 菌株에서 c型이 더 많이 나타났고, d와 e型的 境遇는 反對로 齶蝕罹患部 菌株에서 더 높은 分布率을 보였다(Table 3). 이와같은 樣相이 나타나는 理由는 分明하지 않다. 다만, 最近에 Huis in't Veld 等²²⁾이 硯에서 *S. mutans*의 定着實驗을 통해 c型 菌株는 恒常 優勢하게 나타나고, c型 菌株가 있을 때 d型 菌株는 蔗糖이 存在할 境遇에만 齒牙에 定着할 수 있다고 報告한 事實과 蔗糖의 攝取와 齒牙齶蝕症間에는 密接한 聯關性이 있음³⁰⁾을 볼 때, d型이 正常人보다 齶蝕罹患部에서 더 많이 發見될 可能性은 있는 것으로 생각된다.

또한 Huis in't Veld 等²³⁾은 齶蝕罹患部에서는 c와 d型이 함께 나타나는 境遇가 많다고 報告하였다. c型 菌株는 血清型 分布에 一部 影響을 미칠 수 있는 bacteriocin(mutacin)을 다른 血清型 菌株보다 더 많이 生成하기 때문에 生態적으로 有利함을 갖고 있다¹⁸⁾. 그러나 蔗糖이 있는 境遇는 d型은 c型보다 많은 glucan을 合成하고³⁰⁾, 이 glucan은 bacteriocin에 抵抗한다고 알려져 있다³³⁾. 또한 Ikeda 等²⁴⁾이 *S. mutans* C3603 (c)의 bacteriocin은 b, c, e, f 菌株에 對해서는 抑制效果가 크고 a, d, g 菌株에 對해선 抑制效果가 적었다고 報告하는 것으로 미루어, c와 d型이 함께 나타날 可能性이 增加된다고 豫見할 수는 있다. 그러나 本 調査에서 c와 d型이 같이 나타난 境遇는 正常人 31名 中 3名

(9.7%), 齒牙齶蝕症患者 51名 中 6名(11.8%)으로 差異가 나타나지 않았다(Table 2). 또한, 한 사람에게서 여러가지 血清型이 發見되었고, 血清型的 組合이 多樣하게 나타났기 때문에 bacteriocin만으로 本 調査結果를 說明하긴 어려운 것으로 생각된다. 같은 血清型이라도 菌株에 따라 bacteriocin의 作用力이 다르거나, 動物 또는 試驗管內 實驗結果가 實際 사람에게 適用할 때는 다른 結果를 보일 可能性도 있다.

外國에서 發表된 大部分의 調査에서 뿐만 아니라 本 調査에서도 a와 b型 菌株는 極히 적은 比率로 分離되었다(Table 3). 이들 a와 b型은 사람보다는 各各 hamster와 쥐에 주로 나타나는 動物起原의 血清型으로 알려져 있다^{2,36)}.

最近에 Beighton 等^{2,3)}을 硯에서 많이 發見되는 새로운 血清型 h 菌株를 報告하였다. 앞으로도 繼續해서 새로운 血清型이 發見될 可能性이 있고, 報告된 調査結果^{3,31,37)} 中에서 아직까지 血清型을 決定할 수 없었던 菌株들이 새로운 血清型에 屬한 可能性도 있다. 아울러 本 調査結果, 現在까지 報告된 外國의 血清型 分布와는 다른 樣相을 보이고 있고, 齶蝕罹患部와 正常人的 健全齒面에서 分離한 菌株들 間에 血清型 分布가 다르게 나타났으나 아직까지 이와같은 比較調査가 된 바가 없어 이 結果를 確證하기 爲해 보다 廣範圍한 追跡調査가 必要한 것으로 思料된다.

結 論

齒牙齶蝕症患者 65名の 齶蝕罹患部와 齒牙正常人的 發表健全齒面 40名으로 부터 *Streptococcus mutans*를 分離하여, 分離菌株에서 抽出한 高壓蒸氣滅菌抗原에 對해 寒天免疫擴散法으로 血清型을 調査한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 齒牙齶蝕症患者와 正常人的 *S. mutans* 分離率은 78%로 兩群 間에 差異는 있었다.
2. *S. mutans* 血清型 中 1가지만 分離된 사람은 61%, 2가지 以上の 血清型이 分離된 사람은 39%였다.
3. 齒牙齶蝕症患者 中에서 2가지 以上の 血清型이 나타난 사람은 41.2%, 正常人에서는 35.5%로 兩群間에 差異는 없었다.
4. *S. mutans*가 分離된 사람들 中에서 c 血清型이 가장 많은 69.5%에서 나타났고, 그 다음이 d 血清型으로 23.2%에서 나타났다.
5. 齒牙齶蝕症患者 中 c 血清型이 나타난 사람은 64.7%, 正常人에서는 77.4%로, 正常人에서 c 血清型이 多少 많이 나타났다.

6. 分離된 全體菌株 中에서 가장 많이 나타난 血清型은 c型으로 48.8%있고, 그 다음이 d型으로 16.3%, f型이 13.2%, e型이 9.3%, g型이 7.8%, a와 b型은 極히 少數 나타났다.

7. c 血清型의 分布率은 正常人(58.3%)에서 齒牙齶 蝕患者(43.2%)보다 높게 나타났고, d와 e型은 齒牙齶 蝕症患者(各各 19.8%, 12.3%)에서 正常人(10.4%, 4.2%)보다 높게 나타났다.

REFERENCES

- 1) 浜田茂幸, 増田典男, 鳥居光男: ウ蝕原性レンサ球菌의分離・同定法. 日本齒科評論, 415: 125, 1977.
- 2) Beighton, D., Hayday, H. and Wajker, J.: *The acquisition of Streptococcus mutans by infant monkeys(Macaca fascicularis) and its relationship to the initiation of dental caries.* J. Gen. Microbiol., 128: 1881, 1982.
- 3) Beighton, D., Russell, R.R.B. and Hayday, H.: *The isolation and characterization of Streptococcus mutans serotype h from dental plaque of monkeys(Macaca fascicularis).* J. Gen. Microbiol., 124: 271, 1981.
- 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: 401, 1972.
- 6) Bratthall, D. and Kohler B.: *Streptococcus mutans serotypes: Some aspects of their identification, distribution, antigenic shifts, and relationship to caries.* J. Dent. Res., 55: C15, 1976.
- 7) Bratthall, D. and Pettersson, B.—M.: *Common and unique antigens of Streptococcus mutans.* J. Dent. Res., 55: A60, 1976.
- 8) 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.
- 9) Coykendall, A.L.: *Four types of Streptococcus mutans based on their genetic, antigenic and biochemical characteristics.* J. Gen. Microbiol., 83: 327, 1974.
- 10) Duany, L.F., Joblon, J.M. and Zinner, D.D.: *Epidemiologic studies of caries-free and caries-active stuolents: I. Prevalence of potentially cariogenic streptococci.* J. Dent. Res., 51: 723, 1972.
- 11) Duany, L.F., Zinner, D.D. and Joblon, J.M.: *Identification of types of potentially cariogenic streptococci on human tooth surfaces by the fluorescent antibody technique.* J. Dent. Res., 49: 1527, 1970.
- 12) Gold, O.G., Jordan, H.V. and van Houte, J.: *A selective medium for Streptococcus mutans.* Archs. Oral Biol., 18: 1357, 1973.
- 13) Grenier, E.M., Eveland, W.C. and Loesche, W.J.: *Identification of Streptococcus mutans serotypes in dental plaque by fluorescent antibody techniques.* Archs. Oral Biol., 18: 707, 1973.
- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) Hamada, S., Masuda, N., Ooshima, T., Sodue, 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.
- 17) Hamada, S. and Ooshima, T.: *Production and properties of bacteriocins(mutacins) from Streptococcus mutans.* Archs. Oral Biol., 20: 641, 1975.
- 18) Hamada, S. and Slade, H.D.: *Biology, immunology, and cariogenicity of Streptococcus mutans.* Microbiol. Rev., 44: 331, 1980.
- 19) Hamada, S. and Slade, H.D.: *Mechanisms of adherence of Streptococcus mutans to smooth surfaces in vitro. In "Bacterial adherence (Receptors and recognition, Series B, Vol. 6)".*

Edited by E.H. Beachey, Chapman and Hall, London, p. 107 : 135, 1980.

- 20) Hardie, J.M. and Bowden, G.H.: *Cell wall and serological studies on Streptococcus mutans*. *Caries Res.*, 8 : 301, 1974.
- 21) 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*. *JADA*, 85 : 1349, 1972.
- 22) Huis in't Veld, J.H.J., Drost, J.S. and Havenaar, R.: *Establishment and localization of mixtures of Streptococcus mutans serotypes in the oral cavity of the rat*. *J. Dent. Res.*, 61 : 1199, 1982.
- 23) Huis in't Veld, J.H.J., Van Palenstein-Helderman, W. and Backer-Dirks, O.: *Streptococcus mutans and dental caries in humans: A bacteriological and immunological study*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 45 : 25, 1979.
- 24) Ikeda, T., Iwanami, T., Hirasawa, M., Watanabe, C., McGhee, J.R. and Shiota, T.: *Purification and certain properties of a bacteriocin from Streptococcus mutans*. *Infect. Immunity*, 35 : 861, 1982.
- 25) Keene, H.J., Shklair, I.L., Mickel, G.J. and Wirthlin, M.R.: *Distribution of Streptococcus mutans biotypes in five human populations*. *J. Dent. Res.*, 56 : 5, 1977.
- 26) Loesche, W.J. and Grenier, E.: *Detection of Streptococcus mutans in plaque samples by the direct fluorescent antibody test*. *J. Dent. Res.* 55 : A 87, 1976.
- 27) Loesche, W.J., Rowan, J., Straffon, L.H. and Loos, P.J.: *Association of Streptococcus mutans with human dental caries*. *Infect. Immunity*, 11 : 1252, 1975.
- 28) McGhee, J.R. and Michalek, S.M.: *Immunobiology of dental caries: Microbial aspects and local immunity*. *Ann. Rev. Microbiol.*, 35 : 595, 1981.
- 29) 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.
- 30) Newbrun, E.: *Sucrose, the arch criminal of dental caries*. *Odont. Revy*, 18 : 373, 1968.
- 31) 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.
- 32) Qurelhi, J.V., Goldner, M., le Riche, W.H. and Hargreaves, J.A.: *Streptococcus mutans serotype in young schoolchildren*. *Caries Res.*, 11 : 141, 1977.
- 33) Rogers, A.H.: *Bacteriocin production and susceptibility among strains of Streptococcus mutans grown in the presence of sucrose*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 6 : 547, 1974.
- 34) 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.
- 35) 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.
- 36) Thompson, L.A., Bowen, W.A., Little, W.A., Kuzmiak-Jones, H.M. and Gomer, I.M.: *Simultaneous implantation of five serotypes of Streptococcus mutans in gnotobiotic rats*. *Caries Res.*, 13 : 9, 1979.
- 37) Thompson, L.A., Little, W. and Hageage, G. J.: *Application of fluorescent antibody methods in the analysis of plaque samples*. *J. Dent. Res.*, 55 : A 80, 1976.
- 38) Trautner, K., Gehring, F. and Lohmann, D.: *Extracellular glucans synthesized by strains of two types of Streptococcus mutans in vitro*. *Archs. Oral Biol.*, 23 : 175, 1978.