

혼합치열기 어린이에서 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*의 분포도 조사

이명성* · 최성철 · 박재홍

경희대학교 치과대학 소아치과학교실 및 구강생물학연구소, *가이드치과병원

국문초록

본 연구는 125명의 6-11세 혼합치열기 아동을 대상으로 연령에 따라 초기 혼합치열기 A군(6-8세: 62명)과 후기 혼합치열기 B군(9-11세: 63명)으로 분류하고 유치의 dfs, 영구치의 DFS를 기록한 후 자극성 타액을 채취하여 TYCSB 배지에 배양해서 *S. mutans*와 *S. sobrinus*를 구분하였으며 PCR을 시행하여 확인하였다. *S. mutans*와 *S. sobrinus*의 분포도와 치아우식증과의 상관관계를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *S. mutans*와 *S. sobrinus*의 상관계수는 A군 0.70, B군 0.50로 두 군 모두에서 높은 상관관계를 보였다.
2. *S. mutans*와 치아우식증과의 관계는 A군($r=0.25$)과 B군($r=0.34$) 모두에서 약간의 관련성이 나타났다.
3. A군에서 *S. sobrinus*와 치아우식증간에 상관관계가 없는 것으로 나타났으며, B군($r=0.21$)에서는 미약한 상관관계가 성립되었다.
4. *S. mutans*와 나이의 상관관계는 A군과 B군 모두에서 관련성이 없는 것으로 나타났다.
5. *S. sobrinus*와 나이의 상관관계는 A군($r=0.32$)에서는 약간의 관련성이 나타났고, B군에서는 관련성이 없는 것으로 나타났다.

주요어 : 혼합치열기, *S. mutans*, *S. sobrinus*, 치아우식증, 자극성 타액

I. 서 론

치아우식증은 석회화 조직의 일부가 용해되고 파괴되는 감염성 세균 질환이다. 또한 치아우식증은 여러 가지 요소들이 동시에 작용하여 일어나는 다인성 질환이다. 치아우식증을 유발하는 주요원인균은 mutans streptococci로 알려져 있으며 lactobacilli와 일부 다른 세균들은 치아우식증의 진행에 관여하는 것으로 알려져 있다. Mutans streptococci는 여러 동물실험과 역학조사에서 치아우식증의 개시에 중요한 역할을 하며^{1,2)}, 치아우식증이 많이 진행된 우식부위 내 치태에서도 많이 나타나는

것으로 미루어 우식의 진행에도 중요한 세균으로 인식되고 있다^{3,4)}. 어린이에서는 치아면에 mutans streptococci의 집락이 빨리 나타날수록 나중에 치아우식증의 위험도가 높은 것으로 보이며, 치아우식증의 시작 시기가 빨라지고 우식정도도 심하며, 특히 인접면 우식이 심하게 나타나는 것으로 알려져 있다^{5,6)}.

Mutans streptococci는 현재 치아우식증의 유발에 관여하는 것으로 알려진 연쇄상구균을 말하며 생리·생화학적 성상이 서로 다른 이종성 세균군으로, 사람에서 주로 분리되는 *S. mutans*와 *S. sobrinus*, 원숭이에서 나타나는 *S. downei*, 흰쥐에서 분리되는 *S. rattus*, 햄스터에서 분리된 *S. cricetus* 등이 포함되는데⁷⁾, 현재는 생화학적, 혈청학적, 유전적 차이에 따라 *S. cricetus*, *S. rattus*, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. downei*, *S. macacae*, *S. ferus* 등 7개의 세균종으로 분류된다⁸⁾. Mutans streptococci 중에서도 *S. mutans*와 *S. sobrinus*가 인간의 구강 내에서 가장 많이 발견되고, 사람의 치

교신저자 : 박재홍

서울시 동대문구 회기동1

경희대학교 치과대학 소아치과학교실

Tel: 02-958-9371(2) Fax: 02-965-7247

E-mail: pedopjh@khu.ac.kr

아우식증과 가장 깊은 관련성을 갖고 우식부위의 치태 내에 나타나는 것으로 보고되고 있다^{3,4)}. 또한 어린이에서도 마찬가지로 치아우식증과 가장 관련이 깊은 세균으로 알려져 있다^{5,6)}. 많은 역학조사에 따르면 두 세균 중에서 *S. mutans*가 *S. sobrinus* 보다 우식부위에서 더 많이 출현한다고 보고되고 있고³⁻⁶⁾, 다른 연구에 의하면 *S. sobrinus*는 높은 우식활성과 연관성이 있다고 알려져 있다⁹⁻¹³⁾. 한편 치아우식증이 거의 없는 어린이에게도 mutans streptococci가 높은 출현빈도를 보이고 있고¹¹⁾, mutans streptococci 이외에 다른 세균종들도 치아우식증과 연관성이 있기 때문에¹⁴⁾ 우리나라 어린이의 치아우식증에서 우선 mutans streptococci의 중요성을 관찰하고 확인하는 것은 중요한 과제이다. 특히 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 중 어느 것이 치아우식증과 밀접하게 관여되어 있는지를 밝히는 것은 치아우식증 발생기전과 어린이에서 치아우식증의 발현시기를 예측하고 예방하는데 매우 중요하다.

*S. mutans*와 *S. sobrinus*를 각각 관찰하기 위해서는 신뢰성있는 분리 배양법이 필요하다. Mutans streptococci의 분리는 주로 mitis-salivarius(MS)배지에서 시행되어왔다. 이 배지상에 형성된 mutans streptococci의 집락은 다른 구강 streptococci와는 구별되지만 7개의 mutans streptococci 세균종 간의 구별은 어렵다. MS 배지 외에 mitis salivarius with bacitracin(MSB), mitis salivarius with bacitracin and kanamycin(MSKB), glucose-sucrose-tellurite-bacitracin(GSTB), trypticase soy with sucrose and bacitracin(TYS20B) 등이 사용되어 왔다. 그러나 이들 배지는 *S. mutans*와 *S. sobrinus*의 균락을 시각적으로 구별해내기는 어렵다. 이에 반해 tryptone-yeast extract-cysteine with sucrose and bacitracin(TYCSB) 배지는 *S. mutans*와 *S. sobrinus*의 균락사이의 시각적인 구별을 가능하게 한다^{10,15)}.

세균종의 정확한 동정을 위해서는 일반적으로 추가검사가 필수적이다¹⁶⁾. 집락을 보다 자세히 구별하기 위한 해부현미경의 사용⁵⁾이나 일반적으로 많이 사용하는 생화학 검사^{10,13)}, membrane fatty acid spectra와 peroxidase 반응법 등은 mutans streptococci 세균종을 동정하는데 있어서 부정확하다¹⁷⁻¹⁹⁾. 그 외에 특이항체를 이용한 면역형광법^{6,11)}, 면역확산법¹³⁾, immunoblot법¹⁸⁾이나 DNA-DNA hybridization 방법^{20,21)}으로 보

다 정확한 동정이 가능해 졌으나 여전히 균을 먼저 분리해야 하는 불편이 있고, 그 과정이 까다롭고 시간이 오래 걸리는 단점이 있다. 이 같은 단점을 극복하기 위해, 최근 들어 세균종-특이 primer를 사용한 polymerase chain reaction(PCR)을 이용하여 정확하게 mutans streptococci에 속한 세균종을 동정하는 연구가 활발하게 진행되고 있다^{19,22-26)}. 이 PCR 방법은 mutans streptococci를 동정함에 있어 시간이 절약되고 특이성, 정확성, 효율성이 높다²⁷⁾.

우리나라에서도 우식부위에서의 mutans streptococci 세균종 분포를 조사한 연구가 있으나^{28,29)}, 아직은 치아우식증과 특정 세균종과의 관계를 결론내리기에는 부족함이 있고, 어린이의 경우에는 더 많은 조사연구가 있어야 할 것으로 생각된다. 따라서 본 연구에서는 초기 혼합치열기 어린이와 후기 혼합치열기 어린이에서 자극성 타액을 채취한 다음 TYCSB 배지를 사용하여 *S. mutans*와 *S. sobrinus*의 타액 내 출현을 조사함으로써 이들 세균과 치아우식증과의 관계를 관찰하였다.

II. 실험대상 및 방법

1. 실험대상

경희대학교 치과대학 소아치과에 내원한 6세에서 11세 사이의 혼합치열기 어린이 중 최근 1개월 이내에 항생제를 복용하지 않고 48시간 이내에 항균 양치액이나 전문가 불소도포를 받지 않은 어린이 125명을 연령에 따라 초기 혼합치열기 A군(6세-8세; 62명)과 후기 혼합치열기 B군(9세-11세; 63명)으로 나누었다.

2. 타액 시료 채취 및 세균배양

각각의 어린이들을 한명의 연구자가 구강검사를 통해 dfs와 DFS를 기록한 후에 paraffin wax를 약 1분간 씹게 한 후 자극성타액을 2-3ml 정도 채취하였다. 채취된 타액은 약 10초간 vortexing을 시행하였으며 Westergren과 Krasse³⁰⁾의 방법에 따라 생리식염수에 순차적으로 희석(1:10)하여 TYCSB 배지에 도말한 후 10%의 CO₂가 함유된 37℃ 배양기에서 72시간

Table 1. Specific primer for *S. mutans* and *S. sobrinus* used in the present study

Primer set	Sequence (5' to 3')	Size(bp)	Reference
Universal primers	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG(F*)	3,480	31
	GGC TAC CTT GTT ACG ACT T(R)		
<i>S. mutans</i>	TAT GCT GCT ATT GGA GGT TC(F)	1,272	24
	AAG GTT GAG CAA TTG AAT CG(R)		
<i>S. sobrinus</i>	TGC TAT CTT TCC CTA GCA TG(F)	1,610	25
	GGT ATT CGG TTT GAC TGC(R)		

* F and R denote forward and reverse primers, respectively

배양하였다.

타액이 담긴 용기를 균락의 형태로 *S. mutans*와 *S. sobrinus*를 구별하여 각각의 colony forming units(CFU)를 세어 CFU/ml로 표기하였다.

3. Polymerase chain reaction(PCR)

시각적으로 구별한 균락이 각각 *S. mutans*와 *S. sobrinus*에 일치하는지 알아보기 위하여 각각의 균락을 PCR 방법을 이용하여 동정하였다. TYCSB에서 배양한 *S. mutans*와 *S. sobrinus*로 생각되는 colony를 brain heart infusion(BHI; Difco) agar plate에 도말하여 배양한 후 다시 BHI broth에 배양하여 DNA를 추출하였다. *S. mutans*와 *S. sobrinus*의 universal primer와 specific primer를 제작한 후(Table 1), PCR amplification을 시행하였다. PCR 산물은 2% agarose gel 상에서 전기영동하였고, gel은 ethidium bromide (0.5ug/ul)로 염색한 후 Gel Doc™ EQ Bio-Rad)에서 PCR 산물을 관찰하고 사진을 촬영하여 기록하였다.

4. 통계

각 군에 대하여 나이, dfs와 DFS에 대한 평균과 표준편차를 구했다. 자극성 타액 1ml 당 *S. mutans*와 *S. sobrinus*의 CFU 값은 log 값으로 변환하여 통계처리 하였다.

Ⅲ. 실험성적

총 127명의 어린이가 실험에 참가하였으며, 나이에 따라 6-8세를 A군, 9-11세를 B군으로 분류하였다. 실험에 참여한 각 군의 나이와 dfs 및 DFS의 평균 및 표준편차는 Table 2에 기록되었다.

1. Polymerase chain reaction (PCR)

TYCSB 배지에서 시각적으로 구별된 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 균락을 동정하기 위해 PCR을 시행한 결과, 이전 연구에서 보고된 것처럼 dexA primer를 이용한 *S. mutans*의 PCR 산물은 1,272bp, *S. sobrinus*의 PCR 산물은 1,610bp로 나타남으로서 각각의 균락이 *S. mutans*와 *S. sobrinus*에 일치함을 확인하였다(Fig. 1).

2. 타액 내 mutans streptococci의 분포도

A군에서 mutans streptococci의 CFU/ml가 10⁴미만인 어린이는 2명(3.2%)이고, 10⁴이상 10⁵이하인 어린이는 30명(48.4%)이었으며 10⁵이상 10⁶이하인 어린이는 30명(48.4%)이었다. CFU/ml가 10⁶ 보다 많은 어린이는 없었다.

B군에서 mutans streptococci의 CFU/ml가 10⁴미만인 어린이는 1명(1.6%)이고, 10⁴이상 10⁵이하인 어린이는 32명

Table 2. Descriptive Data of Children

	Total	Group A	Group B
Number	125	62	63
Age(month)	108.1(±17.3)	93.7(±9.3)	122.3(±10.2)
dfs+DFS	8.5(±6.8)	10.1(±7.4)	7.0(±5.7)

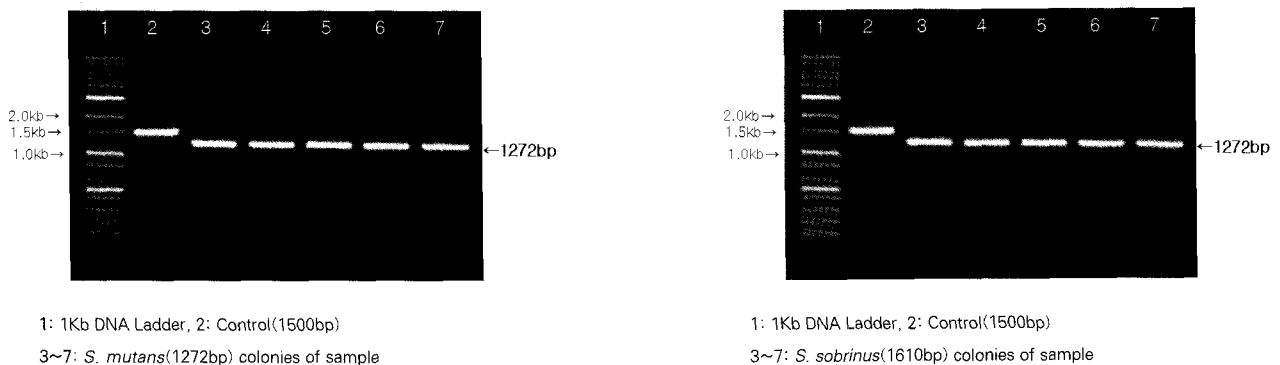


Fig. 3. PCR products of *S. mutans* and *S. sobrinus*.

Table 3. Number of Children Harboring Mutans streptococci In Their Saliva

	Group A	Group B
CFU/ml<10 ⁴	2 (3.2%)	1 (1.6%)
10 ⁴ ≤CFU/ml<10 ⁵	30 (48.4%)	32 (50.8%)
10 ⁵ ≤CFU/ml<10 ⁶	30 (48.4%)	30 (47.6%)
10 ⁶ <CFU/ml	0 (0%)	0 (0%)

Table 4. Correlation Coefficient Between Different Factors

	Group A	Group B
SM and SS	0.70**	0.50**
SM and caries	0.25*	0.34*
SS and caries	0.12	0.21*
age and caries	-0.11	-0.08
SM and age	0.19	0.06
SS and age	0.32*	-0.02

** : moderate positive linear correlation, * : weak positive linear correlation

(50.8%)이었으며 10⁵이상 10⁶이하인 어린이는 30명(47.6%)이었다. CFU/ml가 10⁶ 보다 많은 어린이는 없었다(Table 3).

3. *S. mutans*, *S. sobrinus*와 치아우식증과의 상관관계

A군에서 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 상관관계($r=0.70$)는 매우 강한 관련성이 나타났다. *S. mutans*와 치아우식증의 상관관계($r=0.25$)는 약간의 관련성이 나타났다. *S. sobrinus*와 치아우식증의 상관관계($r=0.12$)는 관련성이 없었다.

B군에서 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 상관관계($r=0.50$)는 상당한 관련성이 나타났다. *S. mutans*와 치아우식증의 상관관계($r=0.34$)는 약간의 관련성이 나타났다. *S. sobrinus*와 치아우식증의 상관관계($r=0.21$)는 약간의 관련성이 나타났다(Table 4).

4. *S. mutans*, *S. sobrinus*, 치아우식증과 나이의 상관관계

A군에서 치아우식증과 나이의 상관관계($r=-0.11$)는 관련성이 없었다. *S. mutans*와 나이의 상관관계($r=0.19$)는 관련성이 없었다. *S. sobrinus*와 나이의 상관관계($r=0.32$)는 약간의 관련성이 나타났다.

B군에서 치아우식증과 나이의 상관관계($r=-0.08$)는 관련성이 없었다. *S. mutans*와 나이의 상관관계($r=0.06$)는 관련성이 없었다. *S. sobrinus*와 나이의 상관관계($r=-0.02$)는 관련성이 없었다(Table 4).

IV. 고 찰

Mutans streptococci는 유치가 맹출하기 전에는 구강 내에서 거의 발견되지 않는다³¹⁾. 그러나 맹출한 치아수가 증가하고 나이가 들어감에 따라 mutans streptococci가 출현하는 어린이의 비율도 증가하고 구강세균 중 mutans streptococci가 차지하는 비율도 증가하게 된다. Cauffield 등³¹⁾은 대부분의 어린이들에서 mutans streptococci가 나타나기 시작하는 시기는 유치가 맹출하는 생후 8개월에서 3세라고 보고하였고, Matsuda 등³²⁾은 생후 13-24개월 사이에 약 40% 어린이에서 mutans streptococci가 발견된다고 보고하였다. 일반적으로 mutans streptococci의 출현시기와 치태 내 분포율은 치아우식증의 발생과 정도에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다³⁻⁶⁾. 그러나 모든 치아우식증에 반드시 mutans streptococci만이 관련되어 있는 것은 아니라는 연구보고도 많이 있다^{4,33)}.

이와 같이 mutans streptococci가 치아우식증과 관련성이 있는 지에 대한 논리가 정립되지 않은 것은 종족이나 개인의 차이, 이에 따른 음식이나 음식섭취방법등과 같은 근본적인 차이 때문에 나타나는 현상에 기인한 것일 수도 있다^{3,34-36)}. 그렇다면 우리나라에서도 mutans streptococci와 치아우식증과의 연관성을 정확히 살펴보는 것은 향후 우리나라에서 치아우식증에 대한 예측과 예방에 중요한 일이라 생각된다.

Mutans streptococci가 치아우식증에 중요하다고 가정했을 때 mutans streptococci 중에서 인간에서 많이 나타나는 것으로 알려진 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 두 세균종 중 어느 것이 더 치아우식증과 연관성을 갖는 중요한 것인지에 대해서도 아직까지는 분명하지 않다^{3,4,6,7,10-13)} 이에 대한 조사와 연구가 필요

하다. Loesche³⁾는 우식부위에서 *S. sobrinus*보다 *S. mutans*가 더 많이 나타난다고 보고하였으나 Hirose¹³⁾은 타액 내 존재하는 *S. sobrinus*와 평활면 우식 간에 깊은 연관성이 있다고 하였고 Igarashi 등²³⁾은 *S. sobrinus*도 치아우식증에 중요한 세균이라고 보고하였다. 그러나 Becker 등¹⁴⁾은 *S. sobrinus*는 치아우식증과 관계가 없다고 보고하였다. *S. sobrinus*는 대부분의 경우 *S. mutans*와 같이 나타나고, 이 두 세균종이 같이 나타날 경우 단독으로 나타날 때보다 치아우식증이 심한 것으로 알려지고 있다³⁾. 또한 *S. mutans*가 단독으로 나타나는 경우보다 *S. mutans*와 *S. sobrinus*가 함께 나타날 경우에 타액 내 mutans streptococci의 수가 더 높게 나타나는 경향이 있다⁶⁾.

본 연구에서는 125명의 6-11세 혼합치열기 아동을 대상으로 유치의 dfs, 영구치의 DFS를 기록한 후 자극성 타액을 채취하여 TYCSB 배지에 배양해서 PCR을 시행하여 *S. mutans*와 *S. sobrinus*의 분포도와 치아우식증과의 상관관계를 조사하였다. 또한 나이에 따라 초기 혼합치열기인 A군(6-8세)과 후기 혼합치열기인 B군(9-11세)으로 분류하여 나이와 치아우식증과의 상관관계를 조사하였다.

본 연구에서 사용한 TYCSB 배지는 *S. mutans*와 *S. sobrinus*의 시각적인 구분을 가능하게 하는 방법으로서 *S. mutans*는 투명한 외층이 있는 작은 흰색의 군락을 형성하며 *S. sobrinus*는 경계가 불명확한 외층이 있거나 또는 외층이 없는 황백색의 군락을 형성한다^{10,15)}. 이와 같이 배양된 두 군락의 정확한 동정을 위해서 본 연구에서는 PCR 방법을 사용하였다. PCR 방법은 DNA 또는 RNA의 특정 영역을 시험관내에서 대량으로 증폭하여 확인하는 방법으로 세균배양 방법이나 세균배양 후 시행하는 생화학적, 면역학적, 유전학적 방법에 비해 쉽고 시간이 절약되며 특이성, 정확성, 효율성이 높기²⁷⁾ 치아우식증에서 mutans streptococci를 동정하는데 현재 가장 많이 사용하고 있는 방법이다.

A군과 B군 모두에서 mutans streptococci의 분포도가 대부분 10^4 - 10^6 CFU/ml로 나타났으며 10^6 CFU/ml를 넘는 경우는 없었다. Duchin과 van Houte³⁷⁾는 타액 내 mutans streptococci의 분포도가 10^7 CFU/ml를 넘는 경우는 드물다고 보고한 바 있다.

*S. mutans*와 *S. sobrinus*의 상관관계에 있어 A군($r=0.70$)과 B군($r=0.50$) 모두에서 상당한 관련성이 나타났다. 이는 *S. sobrinus*가 단독으로 분포하는 경우보다는 대부분 *S. mutans*와 함께 분포한다고 보고한 Loesche³⁾의 연구와 부합한다.

A군과 B군 모두에서 *S. mutans*와 치아우식증의 상관관계(A군: $r=0.25$, B군: $r=0.34$)는 약간의 관련성이 있는 것으로 나타남으로서 *S. mutans*가 치아우식증의 개시와 진행에 밀접한 영향을 미친다는 기존의 연구¹⁻⁴⁾를 뒷받침하고 있다. *S. sobrinus*와 치아우식증의 상관관계는 A군에서는 관련성이 없는 것으로 나타났고 B군에서는 약간의 관련성이 있는 것으로 나타

났다. 이 결과에 따르면 A군은 *S. sobrinus*는 치아우식증과 관계없다는 Becker¹⁴⁾의 연구결과에 일치하며 B군에서 비록 약간의 관련성을 보였으나 그 정도가 크지 않으므로($r=0.21$), *S. sobrinus*와 치아우식증의 정도와 관련성이 있다고 판단하기는 어렵다. 따라서 *S. sobrinus*보다는 *S. mutans*가 혼합치열기 어린이의 치아우식증에 더 많은 관련성이 있을 것으로 추정된다. 그리고 본 연구에서는 우식부위의 치태를 채취하여 세균을 배양하지 않고 자극성 타액 내의 세균을 배양하였으므로 *S. sobrinus*와 우식활성의 관계를 명확히 규명하기 어려웠을 것으로 추정된다. 또한 B군에서는 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 모두 나이와는 관련성이 없는 것으로 나타났는데, A군에서는 *S. sobrinus*가 나이와 상관관계가 있는 것으로 나타났다. A군이 초기 혼합치열기이고 B군이 후기 혼합치열기임을 고려할 때 *S. sobrinus*의 분포가 유치와 영구치의 수에 따라 다르게 나타날 가능성이 있음을 암시한다. 이처럼 A군과 B군의 결과가 다르게 나타나는 점으로 보아 초기 혼합치열기와 후기 혼합치열기 간에 치아우식증과 관련 세균의 분포에 차이점이 있을 것으로 추정할 수도 있다. 이는 성장과 관련된 신체변화 또는 유치의 감소와 영구치의 증가에 따른 변화 등 여러 가지 요인을 고려해서 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

125명의 6-11세 혼합치열기 아동을 대상으로 연령에 따라 초기 혼합치열기 A군(6-8세; 62명)과 후기 혼합치열기 B군(9-11세; 63명)으로 분류하고 유치의 dfs, 영구치의 DFS를 기록한 후 자극성 타액을 채취하여 TYCSB 배지에 배양해서 PCR을 시행하여 *S. mutans*와 *S. sobrinus*의 분포도와 치아우식증과의 상관관계를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *S. mutans*와 *S. sobrinus*의 상관계수는 A군 0.70, B군 0.50로 두 군 모두에서 높은 상관관계를 보였다.
2. *S. mutans*와 치아우식증과의 관계는 A군($r=0.25$)과 B군($r=0.34$) 모두에서 약간의 관련성이 나타났다.
3. A군에서 *S. sobrinus*와 치아우식증간에 상관관계가 없는 것으로 나타났으며, B군($r=0.21$)에서는 미약한 상관관계가 성립되었다.
4. *S. mutans*와 나이의 상관관계는 A군과 B군 모두에서 관련성이 없는 것으로 나타났다.
5. *S. sobrinus*와 나이의 상관관계는 A군($r=0.32$)에서는 약간의 관련성이 나타났고, B군에서는 관련성이 없는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Beighton D, Hayday H, Walker J : The acquisition of *Streptococcus mutans* by infant monkeys (*Macaca fascicularis*) and its relationship to the initiation of

- dental caries. *J Gen Microbiol*, 128:1881-1892, 1982.
2. de Stoppelaar J, van Houte J, Dirks OB : The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. *Caries Res*, 3:190-200, 1969.
 3. Loesche WJ : Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev*, 50:353-380, 1986.
 4. van Houte J : Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res*, 73:672-681, 1994.
 5. Alaluusua S, Renkonen O-V. *Streptococcus mutans* establishment and dental caries experience in children from 2 to 4 years old. *Scand J Dent Res*, 91:453-457, 1983.
 6. Köhler B, Andréén I, Jonsson B : The earlier the colonization by mutans streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age. *Oral Microbiol Immunol*, 3:14-17, 1988.
 7. Whiley RA, Beighton D : Current classification of the oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol*, 13:195-216, 1998.
 8. Coykendall AL : Classification and identification of the viridans streptococci. *Clin Microbiol Rev*, 2:315-328, 1989.
 9. Tanzer JM, Freedman ML, Fitzgerald RJ, et al. : Diminished virulence of glucan synthesis- mutants of *Streptococcus mutans*. *Infect Immun*, 10:197-203, 1974.
 10. Van Palenstein Helderma WH, Ijsseldijk M, Huis in't Veld JHJ : A selective medium for the two major subgroups of the bacterium *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and saliva. *Arch Oral Biol*, 28:599-603, 1983.
 11. Carlsson P, Gandour IA, Olsson B, et al. : High prevalence of mutans streptococci in a population with extremely low prevalence of dental caries. *Oral Microbiol Immunol*, 2:121-124, 1987.
 12. Fujiwara T, Sasada E, Mima N, et al. : Caries prevalence and salivary mutans streptococci in 0~2-year-old children of Japan. *Community Dent Oral Epidemiol*, 19:151-154, 1991.
 13. Hirose H, Hirose K, Isogai E, et al. : Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth-surface caries increment. *Caries Res*, 27:292-297, 1993.
 14. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, et al. : Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *Infect Immun*, 40:1001-1009, 2002.
 15. Svanberg M, Krasse B : Comparative recovery of mutans streptococci on two selective media. *Caries Res*, 24:36-38, 1990.
 16. Jordan HV : Cultural methods for the identification and quantitation of *Streptococcus mutans* and lactobacilli in oral samples. *Oral Microbiol Immunol*, 1:23-27, 1986.
 17. Rumpf S, Merte K, Eschrich K, et al. : Peroxidase reaction as a parameter for discrimination of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Caries Res*, 35:258-264, 2001.
 18. de Soet JJ, van Dalen PJ, Pavicic MJAMP, et al. : Enumeration of mutans streptococci in clinical samples by using monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol*, 28: 2467-2472, 1990.
 19. Wu H, Fan M, Zhou X, et al. : Detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* on the permanent first molars of the Mosuo people in China. *Caries Res*, 37:374-380, 2003.
 20. Smorawinska M, Kuramitsu HK : DNA probes for detection of cariogenic *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiol Immunol*, 7:177-181, 1992.
 21. Cangelosi GA, Iversen JM, Zuo Y, et al. : Oligonucleotide probes for mutans streptococci. *Mol Cell Probes*, 8:73-80, 1994.
 22. Igarashi T, Yamamoto A, Goto N : Direct detection of *Streptococcus mutans* in human dental plaque by polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol*, 5:294-298, 1996.
 23. Igarashi T, Yamamoto A, Goto N : PCR for detection and identification of *Streptococcus sobrinus*. *J Med Microbiol*, 49:1069-1074, 2000.
 24. Oho T, Yamashita Y, Shimazaki Y, et al. : Simple and rapid detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in human salivary polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol*, 15:258-262, 2000.
 25. Okada M, Soda Y, Hayashi F, et al. : PCR detection of *Streptococcus mutans* and *S. sobrinus* in dental plaque samples from Japanese pre-school children. *J Med Microbiol*, 51:4443-4447, 2002.
 26. Hoshino T, Kawaguchi M, Shinmizu N, et al. : PCR detection and identification of oral streptococci in saliva samples using *gtf* genes. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 48:195-199, 2004.
 27. Igarashi T, Yamamoto A, Goto N : Rapid identifica-

- tion of mutans streptococcal species. *Microbiol Immunol*, 40:867-871, 1996.
28. 이진용, 최유진, 하윤문 : 치아우식증환자와 치아정상인의 치태에서 분리한 *Streptococcus mutans*의 혈청형 분포에 관한 조사연구. *대한미생물학회지*, 18:23-29, 1983.
 29. 안승태, 박재홍, 이금호 : 6세 이하의 어린이에서 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*의 분포에 관한 연구. *대한소아치과학회지*, 32:207-216, 2005.
 30. Westergren G, Krasse B : Evaluation of a micro-method for determination of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* infection. *J Clin Microbiol*, 7:82-3, 1978.
 31. Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP : Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res*, 72:37-45, 1993.
 32. Matsuda N, Tsutsumi N, Sobue S, et al. : Longitudinal survey of the distribution of various serotypes of *Streptococcus mutans* in infants. *J Clin Microbiol*, 10:497-502, 1979.
 33. Carlsson J, Grahn H, Jonsson G : Lactobacilli and streptococci in the mouth of children. *Caries Res*, 9:333-339, 1975.
 34. Toi CS, Cleaton-Jones PE, Daya NP : Mutans streptococci and other caries-associated acidogenic bacteria in five-year-old children in South Africa. *Oral Microbiol Immunol*, 14:238-243, 1999.
 35. Grindefjord M, Dahillof G, Wikmer S, et al. : Prevalence of mutans streptococci in one-year-old children. *Oral Microbiol Immunol*, 6:280-283, 1991.
 36. Galaviz LAA, Medina M, DCA, Garcia ICE : Detection of potentially cariogenic strains of *Streptococcus mutans* using the polymerase chain reaction. *J Clin Pediatr Dent*, 27:47-52, 2002.
 37. Duchin, van Houte : Colonization of teeth in humans by *Streptococcus mutans* as related to its concentration in saliva and host age. *Infect Immunol*, 20:120-125, 1978.

Abstract

PREVALENCE OF *STREPTOCOCCUS MUTANS* AND *STREPTOCOCCUS SOBRINUS*
IN CHILDREN WITH MIXED DENTITION

Myung-Sung Lee*, Sung-Chul Choi, Jae-Hong Park

Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry and Institute of Oral Biology,
Kyung Hee University, * Guide Dental Hospital

Mutans streptococci have been reported to be implicated in dental caries. Of these streptococcal species, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* are most commonly found in human dental caries. Prevalence of these bacterial species in dental caries is found to be varied in different races and countries. Therefore, importance of these bacteria in dental caries remains to be determined. The present study was performed to find out correlation *S. mutans* and *S. sobrinus* with dental caries in 125 Korean children with mixed dentition between 6 to 11 years of age. They were classified as group A(6-8 years) and group B(9-11 years) by age. For the study, stimulated saliva samples were collected from each subject. The vials containing saliva specimens were serially diluted (1:10) in saline and plated in duplicate on tryptone-yeast extract-cysteine with sucrose and bacitracin (TYCSB) for *S. mutans* and *S. sobrinus*. After genomic DNA was extracted from the samples, polymerase chain reaction (PCR) amplification was performed for identification using universal primers and specific primers to *S. mutans* and *S. sobrinus*. Data of microbial variables were compared to caries status of the subjects.

According to this study, the result were as follows:

1. *S. mutans* versus *S. sobrinus* were moderate positive linear correlated in both group A($r=0.70$) and group B($r=0.50$).
2. Between *S. mutans* and dental caries, there were weak positive linear correlation in both group A($r=0.25$) and group B($r=0.34$).
3. *S. sobrinus* versus dental caries were not correlated in group A but slightly correlated in group B($r=0.21$).
4. Between *S. mutans* and age, there were not correlation in both group.
5. *S. sobrinus* versus age were weak correlated in group A($r=0.32$) but not correlated in group B.

Key words : Mixed dentition, *S. mutans*, *S. sobrinus*, Dental caries, Stimulated saliva