

赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌黏附的影响

杨秀娟 姚军

(福建医科大学口腔医学院 福州 350004)

[摘要] 目的 对比赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌黏附的影响。方法 变异链球菌分别在阴性对照组以及含质量分数 2%、4%、6%、8%赤藓糖醇和木糖醇的 TPY 液体培养基试管内厌氧培养 24 h,用磷酸缓冲盐溶液(PBS)冲洗含变异链球菌生物膜的试管 3 次,加入 PBS 超声震荡。分别收集各组原液并将其稀释至 10%,各取 50 μ L 分别接种于 TPY 固体培养基中,厌氧培养 48 h,行平皿菌落计数并绘制变异链球菌集落生成单位(CFU)计数曲线图。结果 赤藓糖醇组和木糖醇组的变异链球菌 CFU 计数低于阴性对照组,且差异有统计学意义;随着赤藓糖醇和木糖醇质量分数的增加,变异链球菌的 CFU 计数逐渐降低,且差异有统计学意义。在同一质量分数下,木糖醇组变异链球菌的 CFU 计数少于赤藓糖醇组。在质量分数为 2%和 4%时,组间差异无统计学意义;在质量分数为 6%和 8%时,组间差异有统计学意义。结论 赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌的黏附有抑制作用,随其质量分数的增加,抑制效果增强。在质量分数为 2%和 4%时,赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌黏附的抑制作用没有明显的差异,在质量分数为 6%和 8%时,木糖醇对变异链球菌黏附抑制效果优于赤藓糖醇。

[关键词] 赤藓糖醇; 木糖醇; 变异链球菌; 黏附

[中图分类号] Q 53 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1673-5749.2012.02.005

Effects of erythritol and xylitol on the adherence of *Streptococcus mutans* Yang Xiujuan, Yao Jun. (College of Stomatology, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China)

[Abstract] **Objective** To study the inhibitory effect of erythritol by contrast to xylitol on the adherence of *Streptococcus mutans* (*S.mutans*). **Methods** *S.mutans* were incubated respectively in mass fraction of 2%, 4%, 6%, 8% erythritol or xylitol culture medium and the negative control group in TPY liquid medium tubes under anaerobic conditions for 24 hours. Wash the tubes in which there were *S.mutans* biofilms with phosphate buffer solution (PBS) for 3 times. Add PBS into the tubes, then put them on ultrasonic oscillator. Collect stock solutions in the tubes and dilute them in the ratio of 10%, then take 50 μ L and anaerobic culture on TPY solid medium for 48 hours. Compare the inhibitory effect of erythritol and xylitol through colony-forming unit(CFU) value which was got by colony counting method. The *S.mutans* CFU value curves of erythritol, xylitol and negative control group were made. **Results** The CFU values of erythritol group and xylitol group were significantly lower than that of the negative control group. The CFU values gradually decreased while the mass fraction of erythritol and xylitol increased. The two results mentioned above both had statistical significance. The CFU values of xylitol group were lower than that of erythritol group in the same mass fraction of 2%, 4%, 6%, 8%. But the CFU values of erythritol group and xylitol group in mass fraction of 2% and 4% did not have significant difference. **Conclusion** Erythritol and xylitol have inhibitory effects on the adherence of *S.mutans*. And the effects enhance as mass fraction increase. The inhibitory effects of erythritol and xylitol have no significant difference in mass fraction of 2% and 4%, while the inhibitory effect of xylitol are better than that of erythritol in mass fraction of 6% and 8%.

[Key words] erythritol; xylitol; *Streptococcus mutans*; adherence

近年来,国内外的不少学者在研究了木糖醇与龋病间的关系后发现,木糖醇除了具有与蔗糖相似的理化性质外,还具有良好的防龋作用。赤

藓糖醇则具有甜度高、热量低、耐受量高、不良反应小、结晶性好、口感好和无致龋性以及糖尿病患者安全、在自然界分布广泛等特点,常以稀释剂的形式广泛用于食品、药品、化妆品及其他化工产品等许多方面^[1]。赤藓糖醇在食品工业领域的研究和应用已经比较成熟,但其作为糖的代用

[收稿日期] 2011-07-26; **[修回日期]** 2011-12-15

[作者简介] 杨秀娟(1987—),女,福建人,硕士

[通讯作者] 姚军, Tel: 18606025903

品在人们的日常饮食中是否同木糖醇一样具有相似的防龋特性，是否对降低龋病的发病率有着重要的作用，国内外研究甚少。本研究比较了赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌黏附抑制的影响，以此来评价赤藓糖醇的防龋作用，为进一步研究和应用赤藓糖醇提供试验依据。

1 材料和方法

1.1 试验菌株

变异链球菌标准株 ATCC 25175，由四川大学华西口腔医学院龋病研究室惠赠。

1.2 主要试验仪器

超净工作台(江苏苏州净化设备有限公司)、LDZX-50KBS 立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂)、YQX- 厌氧培养箱(上海新苗医疗器械制造有限公司)、KQ-400DB 超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司)、酶标仪(Heraeus 公司, 德国)和微量加样枪。

1.3 主要试剂

TPY 液体培养基(200 mL 液体中含有 3.0 g 胰蛋白胨、0.8 g 酵母提取物、2.0 g 蔗糖、1.2 g 磷酸二氢钾、0.4 g 三水磷酸氢二钾、0.4 g 碳酸钠、0.4 g 氯化钠)，TPY 固体培养基(200 mL 的 TPY 液体培养基中加入 2.5 g 琼脂)，磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer solution, PBS)，赤藓糖醇和木糖醇(山东宝龄宝生物股份有限公司)。

1.4 试验方法

1.4.1 赤藓糖醇和木糖醇试验溶液的配制 将赤藓糖醇和木糖醇分别溶于蒸馏水中，将其配成质量分数分别为 2%、4%、6%和 8%的赤藓糖醇和木糖醇溶液，121 °C 高温高压蒸汽消毒 20 min，备用。

1.4.2 变异链球菌菌悬液的制备 接种冻干的变异链球菌标准株至 TPY 固体培养基的表面，在 37 °C，含体积分数 80%N₂、10%CO₂ 和 10%H₂ 的环境中厌氧培养 24 h。经形态学检查为纯培养物后将其接种于 TPY 固体培养基表面，再于 37 °C，同样的环境中厌氧培养 24 h，形态学检查为纯培

养物后纳入试验。用无菌接种环刮取上述细菌并将其接种于 TPY 液体培养基中，于 37 °C，同样的环境中厌氧培养 18 h，涂片镜检为纯培养物后，将菌液分散到 PBS 中，振荡均匀后在酶标仪上调节细菌的光密度为 1.0(D₆₃₀)。此菌液即为本试验所需的工作菌悬液。

1.4.3 细菌黏附试验 将准备好的菌液 3 mL 接种于内径 1.0 cm 的试管中，分别加入等体积 2%、4%、6%、8%质量分数的赤藓糖醇和木糖醇试验溶液，以 3 mL 的 PBS 与 3 mL 的试验菌液混合作为阴性对照，以 6 mL 的 PBS 作为空白对照。每组溶液准备 5 个平行样本。将试管置于 37 °C，含体积分数 80%N₂、10%CO₂ 和 10%H₂ 的厌氧培养箱中培养 24 h。

1.4.4 集落生成单位的测定 用移液管将试管中的液体吸出，用 PBS 冲洗含变异链球菌生物膜的试管 3 次，加入 6 mL 的 PBS，将试管放入超声清洗仪中震荡 30 min(温度 21 °C、功率 280 W、频率 25 kHz)，分别收集各原液并将其稀释至 10%。用微量加样枪各取菌液 50 μL 分别接种于 TPY 固体培养基表面，将其置于 37 °C，含体积分数 80% N₂、10%CO₂ 和 10%H₂ 的环境中厌氧培养 48 h，经形态学鉴定为纯培养物后，行菌落计数并计算其集落生成单位(colony-forming unit, CFU)每毫升。以 5 组均值作为变异链球菌的 CFU 计数值。

1.5 结果分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析，比较赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌 CFU 的影响。行方差分析最小显著性差异法组间两两比较。P<0.05 为组间差异有统计学意义。

2 结果

赤藓糖醇组和木糖醇组的变异链球菌 CFU 计数均小于阴性对照组。随着赤藓糖醇和木糖醇质量分数的增加，变异链球菌 CFU 计数值逐渐减小。赤藓糖醇和木糖醇作用后的变异链球菌 CFU 计数值(1×10⁵个每毫升)见表 1 和图 1。

表 1 赤藓糖醇和木糖醇作用后的变异链球菌 CFU 值

Tab 1 The CFU value of *S.mutans* after treated with erythritol and xylitol

组别	质量分数组				阴性对照组	空白对照组
	2%	4%	6%	8%		
赤藓糖醇	0.79±0.03	0.51±0.02	0.34±0.04	0.23±0.01	1.88±0.12	0.00±0.00
木糖醇	0.73±0.02	0.49±0.03	0.24±0.02	0.15±0.02

$\bar{x} \pm s$

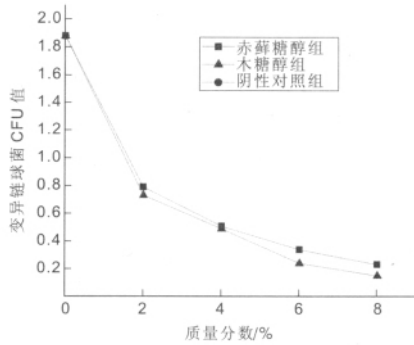


图 1 赤藓糖醇和木糖醇作用后的变异链球菌 CFU 值对比图
Fig 1 The comparison of CFU value of *S.mutans* after treated with erythritol and xylitol

质量分数分别为 2%、4%、6%、8% 的赤藓糖醇组和木糖醇组与阴性对照组变异链球菌 CFU 计数经方差分析可知, 各组间变异链球菌在试管内壁黏附量的差异有统计学意义。

进一步比较各质量分数间的差异, 结果在不同质量分数的赤藓糖醇影响下, 各组间变异链球菌在试管内壁黏附量的差异有统计学意义, 即变异链球菌的黏附量与赤藓糖醇质量分数呈负相关(表2); 在不同质量分数的木糖醇影响下, 各组间变异链球菌在试管内壁黏附量的差异有统计学意义, 即变异链球菌的黏附量与木糖醇的质量分数呈负相关(表3)。

表 2 不同质量分数的赤藓糖醇对变异链球菌 CFU 计数影响的两两比较

Tab 2 Comparisons of *S.mutans* CFU value among different groups after treated with erythritol

赤藓糖醇质量分数组	赤藓糖醇质量分数组				阴性对照组
	2%	4%	6%	8%	
2%	...	*	*	*	*
4%	*	...	*	*	*
6%	*	*	...	*	*
8%	*	*	*	...	*

注: * 示 $P < 0.01$ 。

对同一质量分数的赤藓糖醇和木糖醇作用下的变异链球菌菌落计数值进行比较, 其分析结果见表 4。

当质量分数为 2% 和 4% 时, 赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌在试管内壁黏附的影响差异没有统计学意义, 即在 2% 和 4% 的质量分数下, 赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌黏附的抑制效果没有明显的差异; 当质量分数为 6% 和 8% 时, 赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌在试管内壁黏附的影响

差异有统计学意义($P < 0.01$), 即在 6% 和 8% 质量分数下, 木糖醇对变异链球菌黏附抑制效果优于赤藓糖醇。

表 3 不同质量分数的木糖醇对变异链球菌 CFU 计数影响的两两比较

Tab 3 Comparisons of *S.mutans* CFU value among different groups after treated with xylitol

木糖醇质量分数组	木糖醇质量分数组				阴性对照组
	2%	4%	6%	8%	
2%	...	*	*	*	*
4%	*	...	*	*	*
6%	*	*	...	*	*
8%	*	*	*	...	*

注: * 示 $P < 0.01$ 。

表 4 同一质量分数的赤藓糖醇和木糖醇作用下变异链球菌 CFU 计数的两两比较

Tab 4 Comparisons of *S.mutans* CFU value after treated with the same concentration between erythritol and xylitol

组别	赤藓糖醇质量分数组				阴性对照组
	2%	4%	6%	8%	
2%木糖醇	**	*
4%木糖醇	...	**	*
6%木糖醇	*	...	*
8%木糖醇	*	*
阴性对照	*	*	*	*	...

注: * 示 $P < 0.01$; ** 示 $P > 0.05$ 。

3 讨论

蔗糖是变异链球菌致龋过程所涉及的最重要的物质。变异链球菌产生的葡糖基转移酶可断裂蔗糖中的双糖链, 并利用其释放的能量合成水不溶性葡聚糖。这种水不溶性葡聚糖可高度促进变异链球菌在牙面的黏附和聚集^[2-3]。

研究^[4-6]证实, 木糖醇可减少牙菌斑生物膜和唾液中变异链球菌的数量, 影响变异链球菌在牙面的吸附, 促进唾液分泌, 促进再矿化, 影响变异链球菌在母子间的传播, 降低儿童龋病的发病率, 抑制变异链球菌生长和产酸。一些学者^[7-8]则证实, 赤藓糖醇与木糖醇均能有效地减少牙菌斑生物膜和唾液中的变异链球菌数量, 赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌的黏附均有抑制作用。姚军等^[9]发现, 低质量分数的赤藓糖醇对变异链球菌生长和产酸的抑制作用较木糖醇弱, 高质量分数的

赤藓糖醇的抑菌效果更强。

本研究对赤藓糖醇和木糖醇作用后的变异链球菌 CFU 计数进行对比,以比较赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌黏附的影响。结果显示,赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌黏附均有抑制作用,赤藓糖醇和木糖醇的质量分数逐渐增加,对变异链球菌黏附的抑制作用亦逐渐增强。在质量分数为 2%和 4%时,赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌黏附的抑制效果间的差异没有统计学意义;在质量分数为 6%和 8%时,赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌在试管内壁黏附量间的差异有统计学意义。这就说明在质量分数为 2%和 4%时,赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌黏附的抑制效果没有明显差异;而在质量分数为 6%和 8%时,木糖醇对变异链球菌黏附的抑制效果优于赤藓糖醇。由于本研究未对变异链球菌代谢后的多糖进行分析,因此,赤藓糖醇是否影响胞外多糖的产生,从而影响变异链球菌的黏附,还有待于进一步的研究。

4 参考文献

[1] 肖素荣,李京东.赤藓糖醇的特性及应用[J].中国食物

(上接第154页)

光固化复合树脂最突出的优点是美观、力学性能和耐磨性均较玻璃离子好,通过酸蚀粘接技术与釉质形成微机械固位,但其与牙本质的粘接性较差,并且有一定的聚合收缩。光敏树脂修复中,直接酸蚀牙本质的刺激和树脂直接放置于无保护的牙本质上,其聚合基质渗入牙本质小管这 2 个因素都可引起牙齿敏感和牙髓炎症。本次研究单独应用光敏复合树脂组出现了较多的过敏症状和牙髓炎症状即印证了这一点。

玻璃离子黏固剂有良好的生物相容性,对牙髓刺激极小,在有牙本质层存在的情况下应用玻璃离子,对牙髓基本无刺激作用。玻璃离子黏固剂由于对牙本质有较好的粘接性,可以减少光固化复合树脂聚合收缩对洞底密合度的影响。因此,用玻璃离子黏固剂作为光固化复合树脂基底材料修复窝洞时,与单纯用光固化复合树脂修复相比较,玻璃离子黏固剂与牙本质洞壁之间有良好的密封性,有效阻断复合树脂对牙髓的刺激作用。本组玻璃离子黏固剂修复组无 1 例发生牙髓炎和根尖周炎。此外,玻璃离子具有使牙体组织再矿化的能力。因为玻璃离子在固化初期和之后相当

与营养, 2008, 14(5) 26-28.

[2] Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process [J]. Community Dent Oral Epidemiol, 2005, 33(4) 248-255.

[3] Takahashi N, Nyvad B. Caries ecology revisited: Microbial dynamics and the caries process[J]. Caries Res, 2008, 42(6) 409-418.

[4] Ly KA, Milgrom P, Rothen M. Xylitol, sweeteners, and dental caries[J]. Pediatr Dent, 2006, 28(2) :154-163.

[5] Söderling EM. Xylitol, mutans streptococci, and dental plaque[J]. Adv Dent Res, 2009, 21(1) 74-78.

[6] 张辉伟,张风华,郭剑虹,等.木糖醇对变形链球菌母婴传播的影响[J].河北医药,2010,32(7) 818-819.

[7] Mäkinen KK, Saag M, Isotupa KP, et al. Similarity of the effects of erythritol and xylitol on some risk factors of dental caries[J]. Caries Res, 2005, 39(3) 207-215.

[8] Söderling EM, Hietala-Lenkkeri AM. Xylitol and erythritol decrease adherence of polysaccharide-producing oral streptococci[J]. Curr Microbiol, 2010, 60(1) 25-29.

[9] 姚军,张佳丽,吴玉琼,等.赤藓糖醇和木糖醇对变异链球菌生长和产酸作用的对比研究[J].华西口腔医学杂志,2009,27(6) 603-605.

(本文编辑 刘世平)

长的一段时间内能释放氟,氟离子渗入牙本质中,促进其对钙离子、磷离子的吸收,促进再矿化。但是,玻璃离子抗张强度、扭曲强度等力学强度不足,尤其是耐磨性差,因此玻璃离子的应用受到了一定的限制。夹层技术将玻璃离子作为光固化复合树脂的牙本质层垫底材料,玻璃离子经酸蚀后表面形成微孔层,可与树脂形成微机械嵌合,且玻璃离子的色泽与牙齿相似,作为衬底材料时,颜色可与复合树脂一致,两者联合应用,集中了两者的优点,克服了各自单独使用的缺点。

4 参考文献

[1] Smith BG, Knight JK. An index for measuring the wear of teeth[J]. Br Dent J, 1984, 156(12) 435-438.

[2] 李萍,张清,王嘉德,等.楔状缺损修复治疗的远期临床疗效及其影响因素[J].中华口腔医学杂志,2001,36(6) 437-439.

[3] 黄辉.玻璃离子水门汀与光固化复合树脂联合修复楔状缺损疗效观察[J].口腔医学,1997,17(3) :134-135.

[4] 岳玲,侯本祥,吴海波,等.玻璃离子水门汀修复牙颈部磨损和楔形缺损的临床疗效[J].牙体牙髓牙周病学杂志,1995,5(4) 228-229.

(本文编辑 王姝)