

表面活性剂对 *S. sobrinus* 6715 在实验性获得性膜粘附影响的体外研究

华西医科大学口腔医学院 刘天佳
美国波士顿福赛牙科研究中心 Vera Caslavka

摘要 通过细菌对羟磷灰石(HA)表面形成的实验性获得性膜粘附的实验模式,比较了 5 种表面活性剂(surface active agents,简称 SAA)对 *S. sobrinus* 6715 粘附的影响。结果表明,所实验的 5 种 SAA 对 *S. sobrinus* 6715 对原位形成的葡聚糖的粘附无明显影响,而阳离子含氟表面活性剂 Zonyl FSC 在 0.1%~0.2% 浓度时对粘附的菌细胞有明显的解吸作用。

关键词 表面活性剂 获得性膜 羟磷灰石 粘附 解吸

表面活性剂(SAA)能解低表面自由能,已被广泛地用来控制菌斑和龋^[1,2],阳离子含氟 SAA 与 NaF 联合作用,能加强 NaF 的抑制菌斑和抗龋作用^[3~5]。

龋病的发生与牙菌斑密切相关,减少细菌对牙面的粘附是抗菌斑制剂的主要作用之一。一些实验已证明 SAA 可减少与龋病关系密切的变链球菌和粘性放线菌在牙面的粘附^[6]。本实验旨在了解和比较 5 种 SAA 对 *S. sobrinus* 6715 在实验性获得性膜粘附的影响,探讨其防龋和控制菌斑的可能机制。

1 材料和方法

1.1 实验菌的培养和培养条件

实验菌株 *S. sobrinus* 6715 由福赛牙科研究中心提供。菌株贮存在 50% 的甘油内,置于 -20℃ 冰箱中保存,以避免反复的转种培养,接种菌液于 Todd Hewitt 液体培养基中,35℃,厌氧培养过夜。培养基中加入 10 μCi/ml³H-胸苷以标记细菌。离心收集培养过夜的细菌,KCl 缓冲液洗涤 3 次,悬浮于含 5mg/ml 牛血清白

蛋白的 KCl 缓冲液中,调节细菌悬液的浓度至 5×10⁷ 个细菌/ml。

1.2 唾液的收集

用特制的颌下腺及舌下腺唾液收集装置,从一健康人收集唾液,同时用酸性糖刺激唾液分泌,收集的唾液置于 -20℃ 冰箱中备用。

1.3 细菌对实验性获得性膜的粘附

S. sobrinus 6715 对吸附于羟磷灰石(HA)的唾液成分粘附很少^[7]而葡聚糖明显促进了它的粘附^[8],故本实验细菌对实验性获得性膜粘附的设计是细菌对 HA 表面形成的葡聚糖的粘附。

5 mg HA 加 125 μl 唾液与葡糖基转移酶(GTF)的混合液(1:1),室温下旋转(6 次/分)1 小时,然后加入 125 μl 5% 蔗糖,在 35℃ 旋转 1 小时(6 次/分),以在 HA 表面形成葡聚糖。KCl 缓冲液中洗 2 次,牛血清白蛋白(5 mg/ml)处理 30 分钟,以阻塞 HA 表面的裸露部分,洗涤后加入 125 μl³H-胸苷标记的细菌(6.25×10⁶ 个细菌),室温旋转 1 小时,洗涤 3 次,转 HA 到闪烁液中,Tricarb 460 CD 闪烁计数器计数,确定粘附到 HA 表面的细菌数。所有实验均重复 2 次,取其均数。

1.4 表面活性剂对细菌粘附的影响

disc displacements in recent years. Six healthy adult sheep were selected for this study. Bilateral TMJ disc perforations were made experimentally and high condylectomys were made in one side of them. From comparing observation, authors investigated the effections of healing of disc perforations following high condylectomy and provided the scientific evidence for this new design surgical method.

为了确定 SAA 对细菌粘附的影响,在 HA 表面形成葡聚糖后,用 SAA 处理 HA 10 分钟,然后加入 ³H-胸苷标记的细菌、孵育,计算经 SAA 处理后 HA 表面粘附的细菌数,与未经 SAA 处理的对照组比较。

1.5 表面活性剂对粘附细菌的解吸

为了确定 SAA 是否能移去已粘附到 HA 表面的细菌,在细菌粘附到 HA 上后,用 SAA 处理 10 分钟,然后同位素计数,计算经 SAA 处理后仍留在 HA 上的细菌数,与未经处理的对照组比较。

1.6 表面活性剂对细菌生长的抑制作用

为了了解 SAA 对细菌生长是否有直接抑制作用,作者测定了 SAA 对 *S. sobrinus* 6715 的最低抑制浓度 (MIC),在细菌培养液中,系列稀释 SAA,每 10 ml 培养液中加入 0.1 ml 早期对数生长期的菌液,35℃ 厌氧孵育 48 小时,无细菌生长的最低 SAA 浓度定为 MIC。同时,测定培养液的 pH,以帮助了解细菌的生长情况。

1.7 主要制剂

本实验选择了阳离子含氟 SAA Zonyl FSC (DuPont de Nemous Co., Wilmington DE) 和 Lodyne S-106 (Ciba-Geigy Co., Ardsley, NY), 阴离子含氟 SAA Zonyl FSA (Dapont de Nemous Co.), 烃类阳离子 SAA Carsoquat "51-28" (Lonza Co., Long Beach, CA) 和醋酸洗必太 (Nolvasan, Fort Dodge Lab., IOWA)。

Zonyl FSC 产品含 50% 的活性成分,其活性成分的主要组成是 $F(CF_2CF_2)_3-8 CH_2CH_2SCH_2CH_2N+(CH_3)_3CH_3SO_4^-$, 平均分子量约为 680。

Lodyne S-106 含 30% 的活性成分,主要活性成分是氯化氟铵盐 (Fluoroalkylammonium Chlorides), 平均分子量为 650。

Zonyl FSA 约含 50% 的活性成分,其主要组成是 $F(CF_2CF_2)_3-8 CH_2CH_2SCH_2CH_2COO^-Li^+$, 平均分子量为 500。

Carsoquat 含 56% 的活性成分,主要由硫酸十二烷基 (70~75%) 和十四烷基 (25%) 三甲胺组成。

2 结 果

2.1 表面活性剂对细菌粘附的影响

实验的 5 种 SAA 处理 HA 表面形成的实验性获得性膜都没有明显影响随后 *S. sobrinus* 6715 的粘附 (图 1)。0.2% 浓度的 Zonyl FSC、Lodyne S-106 和洗必太略增加了 *S. sobrinus* 6715 的粘附,但统计学上与对照组的差异无显著性 (表 1)。

表 1 SAA 对 *S. sobrinus* 6715 粘附的影响

SAA (0.2%)	5mg HA 上粘附的细菌数 $\bar{x} \pm s (\times 10^6)$	相对百分比 (%)
Zonyl FSC	1.96 ± 0.04	123
Zonyl FSA	1.84 ± 0.08	115
Lodyne S-106	2.02 ± 0.01	126
Carsquat	1.66 ± 0.04	104
洗必太	2.01 ± 0.02	126
KCl	1.60 ± 0.03	100

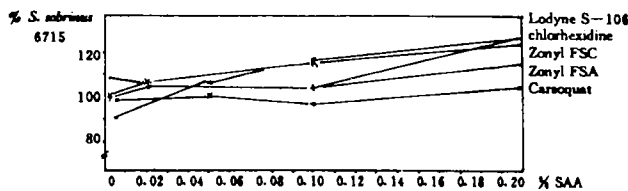


图 1 SAA 对 *S. sobrinus* 6715 粘附的影响

* 系相对百分比,以用 KCl 缓冲液处理的对照组的粘附细菌数为 100%

2.2 表面活性剂对粘附细菌的解吸

实验的 5 种 SAA 中,Zonyl FSC 有效地移去了粘附在实验性获得性膜上的 *S. sobrinus* 6715 菌细胞。在 0.1%、0.2% 浓度时分别移去了粘附菌细胞的 51%、54%,经统计学分析,与对照组和其余 4 种 SAA 的差异有显著性 ($P < 0.05$),其余 4 种 SAA 对 *S. sobrinus* 6715 的解吸作用较小,在 0.2% 浓度时仅解吸 11%~25%,切差异无显著性 (图 2, 表 2)。

表 2 SAA 对粘附细菌的解吸

SAA (0.2%)	5mg HA 上存留的细菌数 $\bar{x} \pm s (\times 10^6)$	相对百分比 (%)
Zonyl FSC	0.68 ± 0.03	46
Zonyl FSA	1.19 ± 0.04	81
Lodyne S-106	1.11 ± 0.04	76
Carsquat	1.10 ± 0.03	75
洗必太	1.31 ± 0.02	89
KCl	1.47 ± 0.07	100

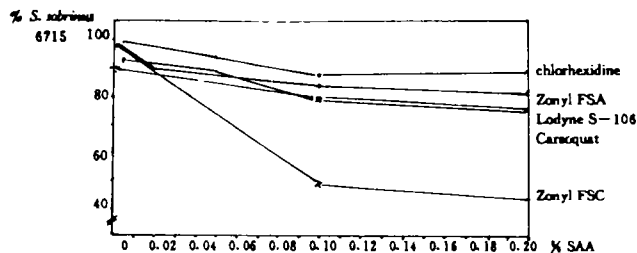


图 2 SAA 对粘附细菌的解吸

* 系相对百分比,以用 KCl 缓冲液处理的对照组的细菌数为 100%

2.3 表面活性剂的抑菌作用

5 种 SAA 对 *S. sobrinus* 6715 都有明显抑菌作用, 其 MIC 见表 3。从表 3 可看出, 洗必太的抑菌作用最强, Zonyl FSA 最弱, 其余三种作用相似。

表 3 SAA 对 *S. sobrinus* 6715 抑菌作用

SAA	MIC(%)
Zonyl FSC	0.02
Zonyl FSA	0.125
Lodyne S-106	0.002
Carsquat	0.002
洗必太	0.0001

3 讨 论

本实验结果表明, 实验的 5 种 SAA 都不能明显抑制 *S. sobrinus* 6715 对实验性获得性膜的粘附, 有的实际上略增加了 *S. sobrinus* 6715 的粘附。唾液中加入 GTF 和蔗糖, 使 HA 表面形成足够量的葡聚糖。Gibbons 等^[8]的研究表明, *S. sobrinus* 与葡聚糖能很好结合, 葡聚糖明显促进了 *S. sobrinus* 6715 对牙面的粘附。葡聚糖是 *S. sobrinus* 6715 在牙面的受体。本实验结果提示, SAA 并不能阻塞 *S. sobrinus* 6715 在牙面的结合位。

SAA 对粘附细菌解吸的实验结果表明, Zonyl FSC 能明显地移去粘附于获得膜的菌细胞, 其它 4 种 SAA 的解吸作用较小, 其中以洗必太的作用最小。而从 SAA 的抑菌作用而言, 洗必太是最强的。由此看出, SAA 对 *S. sobrinus* 6715 的解吸作用与其抗菌作用关系不大。同时, 实验证明(数据未列出)SAA 处理 *S. sobrinus* 后, 细菌的放射性并没有减小, 且电镜观察显示菌细胞的外形并未发生改变。这提示, Zonyl FSC 处理后, 同位素计数的减少是 SAA

对粘附细菌解吸的结果。SAA 对粘附细菌解吸的机制较复杂, 尚不清楚, 而不同 SAA 对粘附 *S. sobrinus* 6715 菌细胞解吸作用的差异提示, SAA 对菌细胞的解吸作用可能与其分子的构型和所带的电荷有关, 这可能影响 SAA 与菌细胞间的相互作用。

Zonyl FSC 能有效地移去粘附的 *S. sobrinus* 6715 菌细胞, 使形成的菌斑减少。这一作用与 Zonyl FSC 能明显抑制 *S. sobrinus* 6715 诱发鼠龋的实验结果是相符的^[2,4,5]。

4 参考文献

- 1 Quiryne M, et al. The influence of surface free energy on planimetric plaque growth in man. *J Dent Res*, 1989;68 : 796
- 2 Tamura T, et al. Effect of fluoride and selected cationic surfactants on caries in rodents. *Caries Res*, 1987;21 : 526
- 3 Caslavaska V, et al. Enhanced caries inhibition by certain NaF-surfactant combinations in animal models. *J Dent Res*, 1987;66 : 1159
- 4 Gron P, et al. The cariostatic effect of selected surfactants and NaF in hamsters. *J Dent Res*, 1987;66(Spec Issue 264 Abstr) : 1263
- 5 Caslavaska V, et al. Caries inhibition from topical application of Zonyl FSC in rats. *J Dent Res*, 1989;68(Spec Issue 887, Abstr) : 168
- 6 刘天佳, Caslavaska V. 含氟表面活性剂对变形链球菌和粘性放线菌对实验性唾液膜粘附的影响. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 1992;2(1) : 4
- 7 刘天佳. 变形链球菌唾液成分的选择性结合. *华西口腔医学杂志*, 1991;9(2) : 82
- 8 Gibbons RJ, et al. Strains of *Streptococcus mutants* and *Streptococcus sobrinus* attach to different pellicle receptors. *Infect Immun*, 1986;52 : 555

(1993-04-26 收稿)

我国著名的口腔修复学专家、全国三八红旗手

陈安玉教授逝世

我国著名的口腔修复学专家、全国三八红旗手、省劳动模范、优秀共产党员陈安玉教授因病不幸于 1993 年 12 月 7 日逝世,享年 70 岁。

陈安玉教授四川开江县人,1949 年毕业于华西协成大学,获博士学位,留校任教,在口腔医学教育、科研、医疗事业中奋斗了 44 年,历任口腔医学系主任、口腔医学院和口腔医院院长、口腔医学研究所所长、博士生导师、卫生部口腔种植科技中心主任等职务以及国务院学位委员会临床学科评审组成员、卫生部医学科学委员会口腔科学专题委员会委员、《华西口腔医学杂志》副主编、《中国口腔医学年鉴》副主编,及全国 8 种专业杂志的编委和统编教材、参考书、工具书的主编或副主编等多种社会学术职务。

陈安玉教授热爱党、热爱祖国,满腔热忱投身于改革开放,为发展、开拓我国的口腔医学事业作出了卓越的贡献。陈安玉教授学术造诣高深,有崇高的师德、医德和忘我的献身精神。她一贯重视学科的发展,精心培育了一批批硕士生和博士生。她潜心科研工作,近 6 年发表科研论文 30 多篇,获各级科技成果奖 4 次。她主持的人工种植牙及其应用技术的研究被列入国家 1992 年火炬计划、卫生部 1993 年科技成果十大推广项目之一。该项研究开发出国产人工骨、人工牙,探索出新型人工牙、种植体及其配套器械设备,已逐步形成医教科工贸一条龙的科技型经济实体,为我国口腔种植体的国产化、系列化、规范化、商品化作出了贡献,为建立中国第一个牙种植医院、中国口腔种植技术推向国际市场作出了巨大努力。

The Effect of Surfactants on the Attachment of *Streptococcus sobrinus* 6715 to Experimental Pellicle in Vitro

Liu Tianjia

College of Stomatology, West China University of Medical Sciences

Vera Caslavskaja

Forsyth Dental Center, Boston, MA, USA

Abstract

The effect of five surface active agents(SAA) on attachment of *Streptococcus sobrinus* 6715 to experimental pellicles was studied in vitro. The results show that the five SAA did not prevent 6715 from attachment, only cationic fluorosurfactant Zonyl FSC at 0.1~0.2% concentration caused a significant(50%) detachment of cells.