

## Antibacterial Activity and Inhibitory Effect of Biofilm Formation by *Actinidia polygama* against *S. mutans* and *P. gingivalis*

Chung Mu Park<sup>1,3,\*</sup> and Hyun-Seo Yoon<sup>2,3,†,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory Science, Dong-Eui University, Busan 47340, Korea

<sup>2</sup>Department of Dental Hygiene, Dong-Eui University, Busan 47340, Korea

<sup>3</sup>Research Institute for Health Functional Materials, Dong-Eui University, Busan 47340, Korea

In oriental medicine, the fruit of *Actinidia polygama* has long been used to alleviate the symptoms of gout, arthritis, and inflammation. In this study, it was designed to analyze the antibacterial activity of *A. polygama* ethanol extract (APEE) against *Streptococcus mutans*, one of the major strains for dental caries, and *Porphyromonas gingivalis*, one of the critical strains for periodontal disease. The antibacterial activity of APEE was analyzed by disk diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) assays. In addition, it was also analyzed the inhibitory effect of APEE on bacterial growth and biofilm formation against both oral pathogens. APEE exhibited its antibacterial effect through the inhibited bacterial diffusion as well as low concentration of MIC and MBC. In addition, APEE significantly inhibited not only bacterial growth but also biofilm formation in a dose-dependent manner. Consequently, APEE showed potent antibacterial activity against both *S. mutans* and *P. gingivalis*, which indicates that APEE might be used as a potential antibacterial material for the improvement of oral healthcare.

**Key Words:** *Actinidia polygama*, Antibacterial, Biofilm, *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*

### 서론

치아우식증과 치주질환은 양대 구강병으로, 이 질환을 예방하기 위하여 아동 대상의 치면열구전색과 불소도포 사업, 양치교실 설치 등 다양한 국가 정책 사업을 진행해왔다(Eom et al., 2021). 또 치주질환을 예방하기 위하여 노인 구강보건 사업과 스케일링 사업을 실시하고 있음에도 불구하고 2020년 치과 외래 다빈도 질병 결과에 따르면 치주질환이 31.4%(1,627만명)로 가장 많고, 치아우식이 11.8%(613만명), 치수염이 7.5%(389만명) 순으로 나타났고, 만성적이고 누적되는 치과진료의 특성상 총 진료비에서 차지하는 비중 또한 점차 증가하는 추세에 있다(Chun

and Choi, 2022).

양대 구강병은 유아에서부터 노인에 이르기까지 전 생애 주기에서 지속적이고 만성적으로 발생하는 질환으로 구강 내 여러 종류의 세균들이 집락을 형성하여 구강질환을 유발하게 된다(Ten Cate, 2006). 이러한 세균이 부착하는 치면세균막을 효과적으로 관리하기 위한 물리적 방법으로 올바른 칫솔질, 치실 및 치간 칫솔 사용 등이 있고, 화학적 방법으로 구강 내 세균 수의 감소를 위한 소독약품의 사용 등이 있다(Kim et al., 2015). 치아우식증과 치주질환의 주원인은 치면세균막 형성이고 이는 구강 내 존재하는 세균의 밀도가 증가하며 형성하는 당단백질 성분의 얇은 막의 형태인 바이오 필름의 생성으로 더욱 가속화된다(Kim et al., 2017). 특히, 바이오 필름 내 상재하는

Received: May 16, 2023 / Revised: June 22, 2023 / Accepted: June 26, 2023

\*Professor.

†Corresponding author: Hyun-Seo Yoon. Department of Dental Hygiene, Dong-Eui University, 179 Eomgwangro, Busan 47340, Korea. Tel: +82-51-890-2688, Fax: +82-0505-2600-9256, e-mail: yoonhs@deu.ac.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

*Streptococcus mutans*는 젖산을 생성하여 치아 내부의 무기질을 탈회시키거나 치아우식 등을 유발하고, *Porphyromonas gingivalis*는 숙주의 면역 반응을 조절하는 다양한 독성인자를 분비하고, 특히 조골세포 및 치은 섬유아세포에서 receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL)의 발현을 유도함으로써 파골과 골 재흡수를 촉진하여 치주염을 일으킨다(Hamada et al., 1984; Kang et al., 2015; Reddi et al., 2008). 오랜 기간 치면세균막을 방치하게 되면 치태에서 치석의 형태로 침착되고 치은의 부종 및 출혈을 동반할 뿐만 아니라, 구취 및 치아의 동요도 증가 등을 유발하기도 한다(Han et al., 2016).

이러한 구강병을 예방하기 위해서는 구강 내 세균 수를 감소시킴으로써 치면세균막 형성을 억제하는 것이고, chlorhexidine과 같은 구중 청량제를 사용하는 것이 대표적 화학요법이다(Han et al., 2016; Lee, 2011). 그러나 chlorhexidine을 장기간 사용할 경우 치아착색과 미각 장애, 작열감 등의 부작용을 유발하기 때문에 부작용이 적고 항균 효과가 높은 물질에 대한 관심이 높아지고 있고 cetylpyridinium chloride, 허브와 같은 항균 효과를 가진 천연추출물을 활용한 구중 청량제가 늘어나고 있다(Bames et al., 1976; Fardal and Tumbull, 1986).

항균 효과를 보이는 천연물 중 가장 대표적인 것은 허브로 잎, 꽃, 줄기 등을 다양한 형태의 추출물로 활용하고 있고, 섭취가 가능한 식용식물에 대한 관심도 증가하고 있는 추세이다(Ju et al., 2016). 최근 연구에서는 치아우식증의 대표 원인균인 *S. mutans*에 대한 박하 추출물, 녹차 추출물, 솔잎과 새싹보리 추출물의 항균 효과가 입증되었고, 치주질환의 대표 원인균인 *P. gingivalis*에 대한 노각나무 추출물과 레몬글라스 에탄올 추출물, 단산 에탄올 추출물 등에서 항균 효과가 입증되었다(Kim et al., 2021; Yoon and Park, 2023; Lee et al., 2021).

개다래열매(*Actinidia polygama*)는 우리나라 전 지역과 일본, 중국 등에서 자생하는 덩굴식물로 산속 나무 밑이나 계곡에서 주로 서식한다(Kang et al., 2003). 개다래열매는 단백질과 유기산, 비타민 A, C, P, tanin 등의 성분을 함유하고 있어 통증 조절, 안면신경마비, 관절염 완화, 중풍, 기관지염, 고혈압, 알레르기 염증, 수족냉증 개선의 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Yu et al., 2010). 특히, 최근 연구에서는 항산화 효과와 함께 암세포의 증식억제 효과가 보고되기도 하였다(Lee and Lee, 2021).

본 연구에서는 개다래열매 에탄올 추출물(A. polygama ethanol extract, APEE)의 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 항

균 효과를 분석하여 구강질환 예방을 위한 항균 후보 물질로서의 활용성을 검증하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

개다래 에탄올 추출물(APEE)은 천일한약방에서 구입한 국내산 말린 개다래 100 g을 분쇄하고 원물과 식용 에탄올을 1:4 (v/v)의 비율로 섞은 후 초음파추출기(Powersonic 410, Hwashin Tech., Busan, Korea)로 30분간 추출한 후, 80°C에서 3시간씩 2회 반복 추출하였다. 여과된 추출액은 진공농축기(N-110, Eylea Co., Tokyo, Japan)로 완전히 농축시킨 후 desiccator에 24시간 보관 후 무게를 측정하여 16.7 g을 회수하였다. APEE는 미생물에 독성을 미치지 않는 1% dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 희석하여 실험에 사용하였다(Herrera Herrera et al., 2014; Park et al., 2005).

### 균주 배양

치아우식증의 대표균주인 *S. mutans* KCTC 3065와 치주질환의 대표균주인 *P. gingivalis* KCTC 5352를 한국생명공학연구원 생물자원센터(Daejeon, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 균주는 brain heart infusion (Difco Laboratories Inc., Detroit, MI, USA) broth 배지에 접종하여 37°C shaking incubator (200 rpm, Daehan Lab. Science, Namyangju, Korea)에서 24시간 배양하여 사용하였다.

### 디스크 확산법을 통한 APEE의 항균 활성

*S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 APEE의 항균 활성은 디스크 확산법을 이용하여 측정하였고, 두 균주 모두 NCCLS Guide Line M11-A6에 준하여 실험하였다. 균들을 평판배지에 20  $\mu$ L 도말 접종한 다음, 직경 8 mm의 멸균된 paper disk (Advantec, Toyo Roshi, Ltd., Tokyo, Japan)를 평판배지의 표면에 밀착시킨 후 APEE를 50, 100, 250, 500 mg/mL 농도별로 각각 30  $\mu$ L씩 점적하고 37°C로 유지된 배양기에서 24시간 동안 배양 후 생성된 clear zone의 직경을 digital caliper (DC150/200-2, CAS, yangju, Korea)로 측정하여 항균 활성을 분석하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 시행하였다.

### APEE의 최소억제농도(MIC)와 최소살균농도(MBC) 측정

*S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 APEE의 농도에 따른 최

**Table 1.** The anti-microbial effect of APEE against *S. mutans* and *P. gingivalis*

(unit; mm)

| Strains              | Treatment conc. (mg/mL) | Inhibition zone diameter | t/F     | P                     |
|----------------------|-------------------------|--------------------------|---------|-----------------------|
| <i>S. mutans</i>     | 50                      | 9.80±0.16 <sup>a</sup>   | 145.017 | <0.001 <sup>***</sup> |
|                      | 100                     | 12.25±0.43 <sup>b</sup>  |         |                       |
|                      | 250                     | 13.78±0.33 <sup>c</sup>  |         |                       |
|                      | 500                     | 16.49±0.56 <sup>d</sup>  |         |                       |
| <i>P. gingivalis</i> | 50                      | 11.76±0.35 <sup>a</sup>  | 85.440  | <0.001 <sup>***</sup> |
|                      | 100                     | 12.65±0.63 <sup>a</sup>  |         |                       |
|                      | 250                     | 15.19±0.43 <sup>b</sup>  |         |                       |
|                      | 500                     | 18.95±0.88 <sup>c</sup>  |         |                       |

Values with the same letter are not significant different by Scheffe multiple range test (\*\* $P < 0.001$ )

소역제농도(minimum inhibition concentration, MIC)을 측정하기 위하여 25%, 18%, 12.5%, 9.0%, 6.25%, 3.0%, 1.5%, 0.75%까지 희석한 APEE를 96 well plate에 100  $\mu$ L씩 분주하고 각 균주는 37°C에서 24시간 배양한 후 OD<sub>600</sub> 값이 0.3이 되도록 희석한 후 100  $\mu$ L씩 분주하였다. 37°C 24시간 동안 배양 후 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 최소 살균농도(minimum bactericidal concentration, MBC)를 측정하기 위해서 MIC 측정이 끝난 plate에서 각 농도별 well에서 100  $\mu$ L씩 취하여 고체배지에 접종하고 37°C에서 24시간, 72시간 동안 배양하여 집락형성 유무를 판독하였다.

#### APEE의 성장억제 효과

APEE를 액체배지희석법을 이용하여 성장억제 효과를 검증하였다. *S. mutans*와 *P. gingivalis*를 BHI broth에서 37°C, 24시간 동안 배양한 후 OD<sub>600</sub> 값이 0.3이 되도록 희석하여 사용하였다. 또한 액체배지에 APEE의 최종 농도를 0.5, 1, 2, 4 mg/mL이 되도록 희석하고 *S. mutans*와 *P. gingivalis* 20  $\mu$ L씩을 접종한 후 37°C shaking incubator (200x rpm)에서 배양하였다. 접종 후 3, 6, 12, 24시간에 microplate reader (BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 각각 600 nm에서 흡광도를 측정하고 기록하였다.

#### APEE의 Biofilm 형성억제 효과

APEE의 *S. mutans*와 *P. gingivalis*의 생물막 형성에 주는 효과를 판별하기 위해 생물막 형성 측정법을 이용하였다. 37°C에서 24시간 배양한 *S. mutans*와 *P. gingivalis*를 BHI broth에 OD<sub>575</sub> 0.1이 되도록 희석 후 사용하였다. 24-well plate에 BHI broth 2 mL를 주입하고 추출물 농도 변화에 따른 영향을 측정하기 위해 추출물 농도별로 각 well에 첨

가하여 48시간 동안 37°C에서 배양하였다. BHI 상층을 제거하고 3차 증류수로 2회 세척 후 24-well plate에 형성된 생물막을 0.1% crystal violet 1 mL를 분주하고 15분간 염색한 후 3차 증류수로 2회 세척 후 자연 건조하였다. 그리고 1 mL의 33% acetic acid solution를 분주하여 crystal violet을 용출한 후 96-well plate에 200  $\mu$ L씩 분주하고 microplate reader (BioTek Instruments Inc.)를 이용하여 575 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 통계분석

통계분석은 SPSS ver. 26.0 (Chicago, IL, USA)을 이용하였으며, 평균 효과를 확인하기 위하여 억제대의 평균  $\pm$  표준편차를 비교 분석하기 위하여 일원배치분산분석(One-way ANOVA)를 실시하였고, Scheffe 기법을 통해 사후분석을 실시하였으며, 통계적 유의수준은 0.05로 하였다.

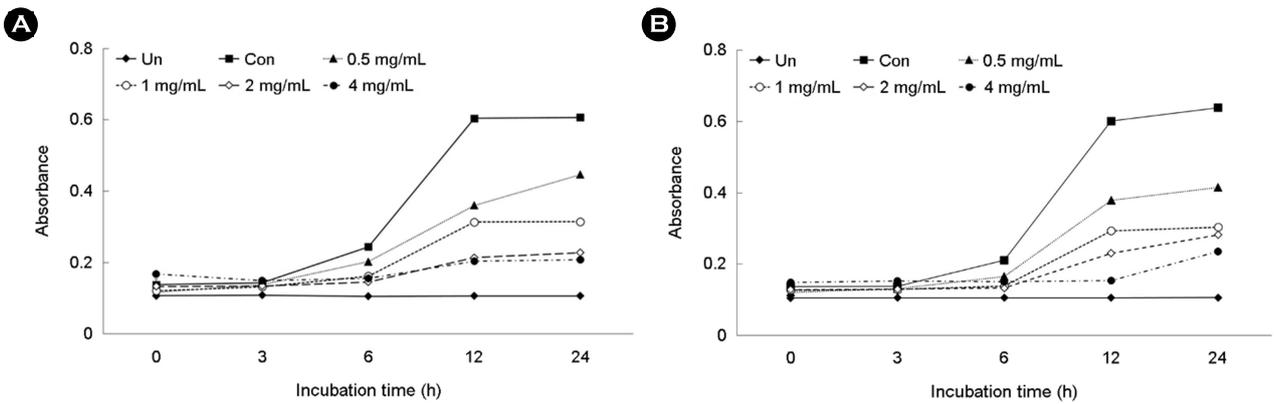
## 결 과

#### 디스크 확산법을 이용한 APEE의 항균 효과

APEE의 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 항균 효과는 디스크 확산법을 이용하여 측정하였다. *S. mutans*에서는 50 mg/mL에서 9.80 mm로 항균 효과가 나타나기 시작하여 500 mg/mL에서 16.49 mm으로 가장 효과가 커 농도 의존적으로 항균 효과가 나타났다. *P. gingivalis*는 50 mg/mL에서 11.76 mm로 항균 효과가 나타났으며, 500 mg/mL에서 18.95 mm로 농도 의존적으로 항균 효과가 나타났다. APEE의 항균 효과는 *P. gingivalis*에서 효과가 더 우수하였다(Table 1).

**Table 2.** MIC and MBC of APEE against *S. mutans* and *P. gingivalis*

| Oral bacteria        |            | Concentration (% v/v) |     |     |     |   |      |   |      |    |    |
|----------------------|------------|-----------------------|-----|-----|-----|---|------|---|------|----|----|
|                      |            | 0                     | 0.3 | 0.7 | 1.5 | 3 | 6.25 | 9 | 12.5 | 18 | 25 |
| <i>S. mutans</i>     | MIC        | +                     | +   | +   | +   | + | -    | - | -    | -  | -  |
|                      | MBC (24 h) |                       |     |     |     |   | -    | - | -    | -  | -  |
|                      | MBC (72 h) |                       |     |     |     |   | +    | + | +    | +  | +  |
| <i>P. gingivalis</i> | MIC        | +                     | +   | +   | +   | + | -    | - | -    | -  | -  |
|                      | MBC (24 h) |                       |     |     |     |   | -    | - | -    | -  | -  |
|                      | MBC (72 h) |                       |     |     |     |   | +    | - | -    | -  | -  |



**Fig. 1.** Growth inhibition curves of *S. mutans* and *P. gingivalis*. Both strains (panel A, *S. mutans*; panel B, *P. gingivalis*) were treated with indicated concentrations of APEE followed by time to analyze the antibacterial activity of APEE. Each value shows the average of three times independent experiments.

#### APEE의 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 MIC와 MBC

APEE는 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대해 높은 항균 활성을 보였고, *S. mutans*와 *P. gingivalis* 모두에서 6.25% (v/v)의 최소성장억제 농도를 보였고, 추출물의 처리 농도는 0.3~25%로 두 균주 모두 농도 의존적으로 증가하였다. *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 최소성장억제 농도를 확인 후 그 이상의 농도 배양액을 *S. mutans*는 BHI plate, *P. gingivalis*는 BAP에 도말 후 6.25% 및 그 이상의 농도에서 colony 형성 여부를 확인한 결과, Table 2에서 보는 것과 같이 24시간에는 관찰되지 않았으나, 72시간 후에는 *S. mutans*는 6.25~25% 농도에서 모두 관찰되었고, *P. gingivalis*는 6.25%에서만 관찰되었다.

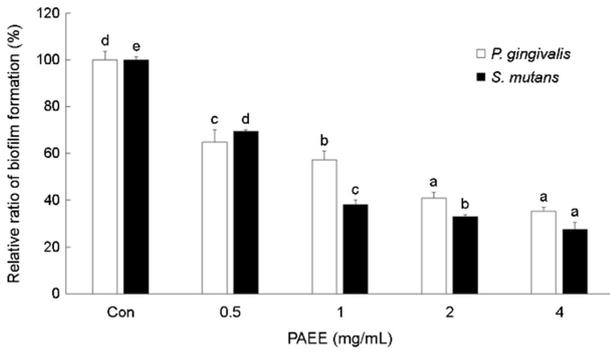
#### APEE의 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 성장억제 효과

APEE를 농도별로 *S. mutans*와 *P. gingivalis*를 접종하고 3시간, 6시간, 12시간, 24시간 배양한 후 시간별로 600 nm

흡광도에서 측정하였다. *S. mutans*에 대한 APEE의 성장억제 효과는 0.5 mg/mL 농도에서부터 나타났고 24시간 후 양성대조군 0.607 대비 0.5 mg/mL에서 0.446, 1 mg/mL에서 0.315, 2 mg/mL에서 0.228, 4 mg/mL에서 0.208로 농도 의존적으로 성장억제 효과가 나타났다(Fig. 1 panel A). *P. gingivalis*에 대한 APEE의 성장억제 효과는 0.5 mg/mL에서부터 효과를 나타내었고 24시간 후 양성대조군 0.639 대비 0.5 mg/mL에서 0.415, 1 mg/mL에서 0.304, 2 mg/mL에서 0.282, 4 mg/mL에서 0.235로 농도 의존적으로 성장억제 효과가 나타났다(Fig. 1 panel B).

#### APEE의 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 biofilm 형성억제 효과

APEE의 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 biofilm 형성억제 효과를 확인하였다. 0.5, 1, 2, 4 mg/mL 농도의 추출물을 배양액에서 *S. mutans*의 생물막 생성율은  $69.47 \pm 0.69\%$ ,  $38.17 \pm 1.88\%$ ,  $33.02 \pm 0.83\%$ ,  $27.54 \pm 2.93\%$ 로 농도가 높을



**Fig. 2. Biofilm inhibitory effect of PAEE against *P. gingivalis* and *S. mutans* for 24 h.** Data represent each group's relative ratio of biofilm formation compared with the control group. Each bar exhibits the mean  $\pm$  SD of three independent experiments.

수록 생물막 형성이 억제되었고( $P < 0.001$ ), *P. gingivalis*에 대한 biofilm 생성율은  $64.76 \pm 5.26\%$ ,  $57.15 \pm 3.86\%$ ,  $40.88 \pm 2.48\%$ ,  $35.36 \pm 1.57\%$ 로 농도가 높을수록 생물막 형성이 억제되었다( $P < 0.001$ ) (Fig. 2).

## 고 찰

구강질환은 감염성 질환으로 구강에 상재하는 700여 종이 넘는 세균들 중 30여종이 병원성을 보유한 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2017). 그 중에서도 *S. mutans*와 *P. gingivalis*는 치아우식증과 치주질환을 유발하는 대표균주로 알려져 있고 이를 효율적으로 관리하기 위한 방안으로 물리적 요법과 화학적 요법에 대한 연구들이 꾸준히 이루어지고 있다(Kim et al., 2015). 그러나 여전히 치아우식증과 치주질환은 지속적으로 발생하고 있고 이를 관리하기 위한 구중 청량제에 대한 관심이 높아지고 있다. 대표적인 구중 청량제로 chlorhexidine이 있으나 착색, 작열감, 점막동통 등의 부작용을 유발하기 때문에 장기간의 사용을 제한하고 있고 이를 해결하기 위한 방안으로 천연물이나 식용 물질에서의 항균활성 물질의 탐색이 꾸준히 이루어지고 있다(Poppolo Deus and Ouanounou, 2022).

이에 본 연구에서는 우리나라 전 지역에서 서식하며 단백질과 비타민이 풍부하여 염증과 통증 완화, 항산화, 항암 효과 등이 있는 것으로 알려진 개다래열매(*A. polygama*) 에탄올 추출물을 활용하여 *S. mutans*, *P. gingivalis*에 대한 항균 활성 및 바이오 필름 생성 억제능을 분석하였다(Kang et al., 2003; Yu et al., 2010; Lee and Lee, 2021). APEE는 50 mg/mL에서 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 항

균 효과가 나타나기 시작하여 농도 의존적으로 항균 효과가 강해졌고, 두 균주에 대한 활성을 비교했을 때 APEE는 *S. mutans*보다 *P. gingivalis*에서 더 뛰어난 항균 효과를 보였다. 이러한 결과는 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 박하 추출물의 항균 효과를 검증한 연구에서 시료 1 mg/mL의 농도부터 *S. mutans*의 항균 효과가 나타났고 *P. gingivalis*는 4 mg/mL에서 항균 효과를 보였으며 두 균주 모두에서 시료의 농도가 높을수록 강한 항균 효과를 보인 결과와 유사한 경향을 보였다(Choi et al., 2020). 다만 본 연구에서는 30  $\mu$ L 고농도에서 paper disc에 점적한 반면 박하 추출물은 낮은 농도에서 150  $\mu$ L를 점적하여 차이를 보였으며 APEE는 *P. gingivalis*에 항균 효과가 높은 반면 박하 추출물은 *S. mutans*에서 항균효과가 더 높게 나타나 차이를 보였다.

APEE는 *S. mutans*와 *P. gingivalis* 모두에서 최소성장억제 농도는 6.25%였고, 추출물의 처리 농도는 0.3~25%로 두 균주 모두 농도 의존적으로 증가하였고 최소살균농도는 24시간 배양에서는 두 균주 모두 colony가 생성되지 않았고 72시간 배양 시 *S. mutans*는 적용한 전체 농도에서 모두 관찰되었으나, *P. gingivalis*는 6.25%에서만 관찰되었다. 이는 *S. mutans*에 대한 최소성장억제 농도가 0.39%에서 효과가 나타난 매실 추출물을 이용한 연구와, *P. gingivalis*에 대해 0.4 mg/mL 최소성장억제 농도와 2 mg/mL의 최소살균농도에서도 colony 형성이 관찰된 노각나무 추출물의 연구와 비슷한 양상이 나타나는 것을 볼 수 있었다(Kim et al., 2021; Jang et al., 2014). 이는 최소성장억제 농도와 최소살균농도를 측정함에 있어 균주의 희석배수에 따라 차이를 보이고, 농도의 단위도 차이가 있어 직접 비교가 어려우므로 추가 연구 시 이를 고려한 실험의 설계가 필요할 것으로 생각된다.

APEE의 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 성장억제 효과는 6시간 이후 0.5 mg/mL 농도에서부터 억제 효과를 보였고 농도 의존적인 결과를 보였다. Lemongrass 에탄올 추출물의 *P. gingivalis*에 성장억제 효과를 분석한 실험에서는 12시간부터 성장 억제 효과가 나타난 것과는 달리 APEE는 저농도에서 빠른 성장억제 효과를 보였다(Yoon and Park, 2023). 그러나 *S. mutans*에 대한 매실 추출물의 성장억제 효과는 0.01~5 mg/mL의 농도 중 1 mg/mL에서 성장억제 효과를 보이기 시작하였고 6시간부터 농도의 증가에 따른 성장억제 효과를 보여 본 연구와 유사한 결과를 보였다(Lee and Chung, 2017).

APEE는 *S. mutans*와 *P. gingivalis*의 생물막 형성을 0.5 mg

/mL부터 억제하기 시작하였고 두 균주에서 모두 농도 의존적으로 biofilm 생성억제 효과를 확인하였다. 이는 노각 나무 잎 추출물을 이용한 *P. gingivalis*에 대한 생물막 형성억제 효과와 일치하였고, 단삼에탄올 추출물에 대한 *S. mutans*의 생물막 형성억제는 0.25 mg/mL에서부터 나타났고 농도 의존적인 억제 효과를 보여 본 연구의 결과와 유사한 경향을 보였다(Kim et al., 2021; Lee et al., 2021). 특히, APEE의 바이오 필름 형성억제 효과는 *P. gingivalis*보다 *S. mutans*에서 더 높게 나타났다. 이는 0.2~2.0 mg/mL의 인도감나무 줄기 추출물 처리시 *P. gingivalis*에서는 바이오 필름이 형성되었으나 *S. mutans*에서는 바이오 필름의 생성이 억제된 연구와 유사한 결과를 보였다(Kim et al., 2018). 본 연구에서는 APEE에 대한 구강질환 대표 원인균인 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 항균 효과를 균주의 성장 억제 효과, 생물막 형성 억제를 통해 검증하였고, 그 결과 구중 청량제를 비롯한 구강질환의 예방과 치료를 위한 소재로서의 활용 가능성을 보였다.

#### ACKNOWLEDGEMENT

None.

#### CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

#### REFERENCES

- Bames GP, Roberts DW, Katz RV, Woolridge ED. Effects of two cetylpyridinium chloride-containing mouthwashes on bacterial plaque. *J Periodontol.* 1976. 47: 419-422.
- Choi BBR, Yun SE, Park SR, Kim GC. Effectiveness of mentha extracts against oral microorganisms: an *in vitro* study. *J Korean Acad Oral Health.* 2020. 44: 67-72.
- Chun H, Choi KJ. A study on differentiation of dental insurance rates using national health insurance service big data: periodontal caries and disease. *J Insurance Finance.* 2022. 33: 119-147.
- Eom S, Choi YJ, Kwon SJ. Effects of preventive knowledge about two major oral diseases on the correct use of oral hygiene products and oral disease preventive practice of middle-aged class. *J Korean Soc Oral Health Sci.* 2021. 9: 62-69.
- Fardal O, Tumbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc.* 1986. 112: 863-869.
- Hamada S, Koga T, Ooshima T. Virulence factors of *Streptococcus mutans* and dental caries prevention. *J Dent Res.* 1984. 63: 407-411.
- Han SM, Hong IP, Woo SO, Park KK, Chang YC. Anticariogenic activity from purified bee venom (*Apis mellifera* L.) against four cariogenic bacteria. *Kor J Pharmacogn.* 2016. 47: 43-48.
- Herrera Herrera A, Franco Ospina L, Fang L, Díaz Caballero A. Susceptibility of *Porphyromonas gingivalis* and *Streptococcus mutans* to antibacterial effect from *Mammea americana*. 2014. *Adv Pharmacol Sci.* 2014: 384815.
- Jang JH, Kim YI, Lee H. Antimicrobial activity of *Punus mume* extract to oral microbes. *J Korean Soc Dent Hyg.* 2014. 14: 107-115.
- Ju T, Oh HS, Kim MJ, Kang ST. Quality characteristics of sponge cake with lemon grass powder. *Korean J Food Sci Technol.* 2016. 48: 347-353.
- Kang HJ, Kim UK, Choi JG, Chung SH. Hypouricemic activity of *Actinidia polygama*. *Yakhak Hoeji.* 2003. 47: 307-310.
- Kang SY, An SY, Lee MW, et al. Effects of *Aconitum koreanum* extract on the growth, acid production, adhesion and insoluble glucan synthesis of *Streptococcus mutans*. *J Physiol & Path Korean Med.* 2015. 29: 27-32.
- Kim HS, Kwon HS, Kim CH, et al. Effects of methanol extracts from *Diospyros malabarica* stems on growth and biofilm formation of oral bacteria. *J Life Sci.* 2018. 28: 110-115.
- Kim HS, Park MJ, Kim SJ, et al. Antibacterial and antibiofilm activities of leaf extracts of *Stewartia koreana* against *Porphyromonas gingivalis*. *J Life Sci.* 2021. 31: 330-337.
- Kim KE, Ahn ES, Han JH. Variation in the index of dental plaque removal and practice assessment after instruction on toothbrushing. *J Dent Hyg Sci.* 2015. 15: 220-225.
- Kim SY, Woo DH, Lee MA, Kim JS, Lee JH. Red fluorescence of oral bacteria interacting with *Porphyromonas gingivalis*. *J Kore Acad Oral Health.* 2017. 41: 22-27.
- Lee ES. Inhibitory effects of several commercial oral rinses on *Streptococcus mutans* biofilm formation. *J Korean Acad Dent Health.* 2011. 35: 289-296.
- Lee JH, Yim DS, Choi SS. Antibacterial activity and anti-inflammatory effect of methanol extracts of saliva multiorthiza against oral pathogenic bacteria. *Kor J Pharmacogn.* 2021. 52: 41-48.
- Lee JS, Chung KH. Antimicrobial effect of *Prunus mume* extracts against cariogenic bacteria. *J Korean Acad Oral Health.* 2017. 41: 65-70.
- Lee SJ, Lee JM. Antioxidant and anti-proliferation effects of water

- and ethanol extracts of *Actinidia polygama* fruit. Kor J Community Living Sci. 2021. 32: 19-27.
- Park KM, Choo JH, Sohn JH, Lee SH, Hwang JK. Antibacterial Activity of Panduratin A Isolated from *Kaempferia pandurata* against *Porphyromonas gingivalis*. 2005. Food Sci Biotechnol. 14: 286-289.
- Poppolo Deus F, Ouanounou A. Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. Int J Dent. 2022. 72: 269-277.
- Reddi D, Bostanci N, Hashim A, Aduse-Opoku J, Curtis MA, Hughes FJ, Belibasakis GN. *Porphyromonas gingivalis* regulates the RANKL-OPG system in bone marrow stromal cells. Microbes Infect. 2008. 10: 1459-1468.
- Ten Cate JM. Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. Odontology. 2006. 94: 1-9.
- Yoon HS, Park CM. Antibacterial activity of lemongrass oil and lemongrass ethanol extract against *Porphyromonas gingivalis*. J Kor Soc Oral Health Sci. 2023. 11: 107-113.
- Yu MH, Chae IG, Choi JH, et al. Effects of supercritical fluid marc extracts from *Actinidia polygama* max. on inflammation and atherosclerosis. Kor J Food Sci. 2010. 42: 475-480.

<https://doi.org/10.15616/BSL.2023.29.2.88>

**Cite this article as:** Park CM, Yoon HS. Antibacterial Activity and Inhibitory Effect of Biofilm Formation by *Actinidia polygama* against *S. mutans* and *P. gingivalis*. Biomedical Science Letters. 2023. 29: 88-94.