치아우식경험과 *Streptococcus mutans*의 관련성

김설희 · 서동원¹

호원대학교 치위생학과 · ¹전북대학교 생물학과

Relationship between *Streptococcus mutans* levels and dental caries experience

Seol-Hee Kim · Dong-won Seo¹

Department of Dental hygiene, Howon university · ¹Biological sciences Chonbuk National University.

Received : 15 October, 2012
Revised : 18 December, 2012
Accepted : 18 December, 2012

Corresponding Author

Seol-Hee Kim
Department of Dental Hygiene, Howon University,
64 Howon-dae(St) 3gil(Rd),
Impi-myeon, Gunsan, Jeonbuk,
573-718, Korea.
Tel : +82-63-450-7771 +82-10-2637-2385
Fax : +82-63-450-7779
E-mail : yfami@hanmail.net

ABSTRACT

Objectives : The aim of the present study was to measure the level of *Streptococcus mutans*(*S. mutans*), the major causative agent in dental caries, and to examine the relationship between *S. mutans* level and dental caries experience.

Methods : The present study was carried out in 41 university students. *S. mutans* plaque was detected in the saliva using Dentocult[®]-SM and was measured in absorbance. The data were analyzed in the relevance for number of dental caries experience.

Results : The group of *S. mutans* value has progressive caries, which was higher than that of non-suffering caries($p < 0.05$). More caries experience showed higher value of *S. mutans*($p > 0.05$). According to the relationship with DMFT, level of *S. mutans* and absorbance, correlation with the level of salivary *S. mutans* is shown statistically highly significant ($p < 0.01$). The level of *S. mutans* in saliva and plaque and absorbance is statistically significant($p < 0.05$).

Conclusions : The levels of *S. mutans* in both group of high caries experience and progressive caries was highly detected, continuous oral health management should be carried out to prevent the possible dental caries.

Keyword : absorbance, DMFT, *streptococcus mutans*

색인 : 뮤탄스 연쇄상구균, 우식경험연구치아, 흡광도

1. 서론

흔한 구강병인 치아우식증과 치주질환은 20대 연령층에서 영구치 우식경험율은 91%, 치주질환자 유병율은 62.5%로 높게 나타났으며¹⁾ 치아우식증은 치면세균막에 축적된 산이 치질을 탈회하여 발생하는 것으로 특히 *Streptococcus mutans*(*S. mutans*)로 인한 산생성과 탈회작용이 주요 원인이다²⁾. 그러므로 치아우식증의 원인균인 *S. mutans*가 타액과 치면세균막에 다량 존재할수록 우식발생율과 유병율은 더욱 높아지고 많은 수의 *S. mutans*를 가진 대상자들은 우식경험영구치수가 더 높다고 조사되었다³⁾.

기존의 많은 연구에서 *S. mutans*가 치아우식증에 어떤 영향을 주는 지를 조사하였으며^{2,3)}, *S. mutans*와 치아우식증의 관련성을 평가하기 위해 구강내 타액과 치면세균막에 존재하는 *S. mutans* 수준을 평가하고, 선택적으로 배양하는 방법이 주로 사용된다.

배지를 이용한 배양, 세균의 DNA 분석을 통한 식별, 세균의 특이 단백질을 동정하여 평가하는 연구들이 시행되어지고 있으며⁴⁾. 그 중 배지를 이용한 배양법으로 Dentocult®-SM을 통한 *S. mutans* 수준 평가가 단시간에 전문장비 없이 간단하게 측정할 수 있어 주로 활용된다. Dentocult®-SM 검사는 타액과 치면세균막의 *S. mutans*를 선택적으로 배양하여 세균의 양을 검사판정표에 의해 추정하여 *S. mutans*의 수준을 평가하는 것이다. 그러나 Dentocult®-SM을 이용한 *S. mutans*의 측정은 다수의 세균이 strip에서 떨어져 나와 액체 배지상태에서 성장 할 수 있기 때문에 기존의 Dentocult®-SM의 Screening strip 검사 이외 배지 용액의 흡광도를 측정하여 Screening strip 검사결과와 비교 분석할 필요성이 있다. 흡광도 원리는 광원에서의 회절각자로 빛을 단색화 하여 시료용액에 투과시키고 투과된 빛의 강도를 전기신호로 변환하여 흡광도를 측정할 수 있으며, 용액의 빛을 흡수하는 정도를 나타내는 것으로 분광광도계를 이용한다. 그러므로 Screening strip 검사와 배지의 세균 성장결과 측정을 위한 흡광도 결과의 상관성을 검토 한다면 기존의 Screening strip 검사법의 효용성을 더욱 입증할 수 있을 것이다.

본 연구에서는 우식경험영구치수 분포와 현재 우식유병자의 *S. mutans* 관련성을 평가하기 위해 대학생을 대상으로 과거 우식경험영구치수 분포와 현재 우식유병자의 *S. mutans* 수준을 치면세균막과 타액에서 측정하여 우식과 *S. mutans*의 관련성을 평가하였고, Dentocult®-SM을 이용한 세균의 정량화 및 흡광도를 측정하여 그 상관성을 분석하였

다. 이는 우식활성 검사를 통해 추후 치아우식증 발생 가능한 구강환경을 예측하고 개인의 구강환경에 맞는 예방처치를 시행할 수 있는 구강건강관리 자료로 활용하고자 하는데 있다.

2. 연구대상 및 방법

2.1. 연구대상

본 연구는 2012년 5월 H 대학교 구강보건센터를 이용한 총 135명의 재학생 중 41명을 무작위 추출하여 최종 대상으로 선정하였다. 대상자의 평균연령은 24세이며 남성 31명, 여성 10명이었다. 구강검사 결과 우식경험영구치면수(DMFS)가 0인 경우를 비우식군으로, DMFS가 9 이하인 경우 우식군으로, DMFS가 10 이상이면 고도우식군으로 분류하였다.

2.2. 연구방법

2.2.1. 구강검사

구강검사는 치위생학과 교수 1인이 인공조명하에서 시행하였으며 WHO 기준에 의거하여 실린트 경험, 우식경험영구치수(DMFT), 우식경험영구치면수(DMFS)를 조사하였으며, DMFS 집단간의 분류는 통계분석결과 집단간 유의한 차이가 나타나는 9를 기준으로 하였다.

2.2.2. *S. mutans* 검사

1) 타액(saliva)의 *S. mutans* 검사

연구대상자에게 paraffin pallet을 1분 동안 씹게 하여 침의 분비를 자극하고 치면에 존재하는 *S. mutans*균을 묻어 나오게 한 후 Dentocult®-SM round-tipped strip을 혀 위에 위치시키고 입을 다물게 한 다음 타액이 묻도록 10초간 유지하였다. bacitracin disc를 녹인 배지에 strip을 넣고 마개를 느슨하게 닫은 후 37℃ 항온배양기에 48시간 배양하여 screening strip 검사 기준에 의해 우식활성도 음성(0), 경도활성도(1), 중등도활성도(2), 고도 활성도(3)로 평가하였다.

2) 치면세균막(Plaque) *S. mutans* 검사

연구대상 학생의 상악 설면에 멸균된 면봉을 이용하여 수차례 치면에 문질러 치면세균막을 채취하였으며, Dentocult®-SM (Orion diagnostica, Finland) square-tipped strip에 채취된 시료를 면봉을 이용하여 도말하였다. 이후 37℃ 배양기에서 48시간동안 배양하였으며 *S. mutans* 콜로니(colony, 집락)(colony-forming units, CFU)를 계수화하였다.

Dentocult®-SM level	
0 : CFU/mL < 104	
1 : 104 < CFU/mL < 105	
2 : 105 < CFU/mL < 106	
3 : CFU/mL > 106	

Figure 1. proportion of *S. mutans* counts in the caries free and high caries group unit : frequency(%)

3) 흡광도(Absorbance) 측정

액체 배지의 특성상 strip에 존재하는 집락에서 *S. mutans* 균이 떨어져 나와 배지에서 성장 할 수 있기 때문에 이를 평가하고자 흡광도를 측정하였다. 흡광도는 용액의 빛을 흡수하는 정도를 나타내는 양으로 흡광도 측정은 분광광도계(Agilent UV-Vis spectrophotometer 8453, USA 1997)를 이용하였다. 분광광도계는 광원에서의 회절격자(diffraction grating)로 빛을 단색화하여 시료 용액에 투과시키고 투과된 빛의 강도를 전기신호로 변환하여 흡광도를 측정하는 장치이다. *S. mutans*가 자라서 혼탁해진 배지를 1mL 채취하여 cuvette에 넣고 550nm 파장에서 흡광도를 측정하였고 흡광도 측정 결과는 광학밀도(optical density, O.D.)로 표기하였다.

2.3. 통계분석

연구자료는 통계분석용 소프트웨어인 SPSS 18.0 프로그램(SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다. *S. mutans*의 집락수는 카이검정과 Mann-Whitney 검정을 수행하였으며, *S. mutans*의 집락수 그룹에 따른 우식경험치면수의 차이는 Kruskal-Wallis 검정을 이용하여 분석하였다.

3. 연구성적

3.1. 우식경험영구치 집단별 DMFS

연구대상자의 우식경험집단별 DMFS 평균과 표준편차를 비교분석하기 위해 group 1은 우식비경험군, group 2는 DMFS 9개 이하, group 3는 DMFS 10개 이상으로 분류하였으며 그 결과 group 2의 DMFS는 평균 4.57개, group 3의 DMFS는 평균 11.2개였다($p < 0.05$) (Table 1)

3.2. 우식경험영구치 집단별 *S. mutans*의 평균과 표준편차

현재 우식치아가 있는 집단은 우식치아가 없는 집단보다 *S. mutans*의 수치가 높게 나타났으며 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.01$).

우식경험영구치 집단별 *S. mutans*의 평균과 표준편차는 (table 2)과 같이 우식경험이 높을수록 *S. mutans*의 평균수치가 높게 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p > 0.05$) (Table 2).

Figure 2. Absorbance measurement

Table 1. mean value and standard deviation of DMFS

DMFT group	DMFS mean	p value
group 1 (DMFS = 0)	0,00 ± 0,00	0,000
group 2 (DMFS < 9)	4,57 ± 2,70	
group 3 (DMFS ≥10)	11,20 ± 4,22	
post hoc – Duncan		

Table 2. mean value and standard deviation of *S. mutans* count

<i>S. Mutans</i> (CFU/mL)	p value
DT group	
group 1 (DT = 0)	0.003
group 2 (DT ≥ 1)	
DMFS group	
group 1 (DMFS = 0)	0.758
group 2 (DMFS < 9)	
group 3 (DMFS ≥ 10)	

3.3. 우식경험영구치 집단별 흡광도

액체 배지의 특성상 집락에서 *S. mutans* 균이 떨어져 나와 배지에서 성장할 수 있기 때문에 이를 평가하고자 흡광도를 측정하고 현재 우식치아가 있는 집단은 우식치아가 없는 집단보다 흡광도 측정 수치가 높게 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p > 0.05$) (Table 3).

3.4. 우식경험영구치, 타액과 치면세균막에서의 *S. mutans*, 흡광도 사이의 상관관계

우식경험영구치, 타액과 치면세균막에서의 *S. mutans*, 흡광도 사이의 상관관계를 분석한 결과 타액에서의 *S. mutans*와 plaque에서의 *S. mutans* 사이에는 매우 높은 상관관계를 나타내었으며($p < 0.01$), 타액과 치면세균막에서의 *S. mutans*와 흡광도 사이에서 통계적으로 유의한 상관관계를

나타내었다($p < 0.05$).

그러나 우식경험영구치에 따른 상관분석 결과 우식경험영구치와 plaque *S. mutans*를 제외하고는 통계적으로 낮은 상관관계를 나타내었다 (Table 4).

4. 총괄 및 고안

2010년 국민구강건강실태조사¹⁾에 의하면 8세 우식경험영구치지수(DMFT index)는 0.57개, 10세 우식경험영구치지수는 1.16개, 12세 우식경험영구치지수는 2.08개, 15세 우식경험영구치지수는 3.57개로 연령이 증가하면서 우식경험영구치지수는 지속적으로 증가되고 있다.

치아우식증의 발생은 구강환경, 식습관, 우식원인균 등 여러 가지 원인이 복합적으로 작용되나 그 중 치아우식증

Table 3. mean value and standard deviation of absorbance test

<i>S. Mutans</i> (O.D. 550nm)	p value
DT group	
group 1 (DT = 0)	.155
group 2 (DT ≥ 1)	
DMFS group	
group 1 (DMFT = 0)	.694
group 2 (DMFT < 9)	
group 3 (DMFT ≥ 10)	

※ 흡광도 표기시 광학밀도(optical density, O.D.) 550nm 파장 기준 측정 결과임.

Table 4. spearman correlation among DMFT, saliva SM test, plaque SM test, Absorbance

	DMFT	saliva SM test	plaque SM test	Absorbance
DMFT	1,000			
saliva SM test	.199 p=.253	1,000		
plaque SM test	.407* p=.015	.777** p=.000	1,000	
Absorbance	.299 p=0.76	.483** p=.003	.438** p=.008	1,000

Kendall's rank correlation coefficient

** correlation is significant at $p < 0.01$ * correlation is significant at $p < 0.05$

을 유발하는 원인균인 *S. mutans*는 우식에 중요한 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다. *S. mutans*는 자당을 분해하여 글루칸과 프럭탄과 같은 다당류를 형성하게 되는데 이들은 점성을 가지고 있어 접착성이 강해 세균의 부착 및 응집, 세균이 필요로 하는 에너지 저장소 역할을 하며 세균이 만드는 독소와 염증을 일으키는 물질을 포함하고 있다^{3,5)}.

우식 발생의 원인균인 *S. mutans*는 유치가 맹출하기 전에는 구강내에서 잘 관찰되지 않지만 유치가 맹출하는 시기인 생후 8개월에서 3세 이후부터는 구강내에서 관찰 가능하다는 보고가 있으며 영구치 우식 경험지수의 증가와 유의한 상관관계가 있다²⁾고 연구되었다. 치아우식증 발생을 예측하는데 있어 가장 중요한 요인은 치아우식 경험도와 우식 원인균이 증식되는 정도이다⁶⁾. 그러므로 연령이 증가됨에 따라 지속적으로 증가되는 치아우식증의 발생에 대한 원인균의 구강내 수준 평가를 통해 그 관련성을 분석하고 활용할 수 있다.

본 연구에서는 치아우식발생 가능성이 높은 시기를 보낸 대학생들을 대상으로 과거 우식경험영구치 집단과 현재 우식치아 집단에서의 *S. mutans*의 수준을 평가하여 관련성을 분석하고자 집단간의 통계적인 유의성 검정을 선행한 결과 유의한 차이가 있었다(Table 1).

현재 우식치아가 있는 집단은 비우식집단보다 *S. mutans* 수준이 통계적으로 유의하게 높았으나($p < 0.05$) 과거 우식 경험영구치면수에 따른 *S. mutans* 수준은 통계적으로 유의한 차이가 없는 것($p > 0.05$)으로 조사되어 과거 우식경험이 많은 대상자의 구강내에서 *S. mutans*의 수준이 높게 나타나지는 않는 것으로 조사되었다(Table 2). 김⁴⁾의 연구에서는 우식에 이환된 대상과 우식에 이환되지 않은 대상 사이 세균적 차이점을 비교하고 세균 이외에 우식 이환을 방지해주는 요소를 분석한 결과 우식활성 그룹에 비해 우식 비활성 그룹에서 더 다양한 구강 미생물 분포를 보였고, 우식발

생 가능한 타액 내 *S. mutans* 수준은 1mL 당 105 이상 500CFU/mL 이상이라고 하였다. 신 등⁶⁾의 연구에서는 *S. mutans* 수준은 치아우식증과도 높은 상관관계를 가져야 하지만 현재 구강내에 우식증이 많이 발생되어 추후에도 우식증이 많이 발생되리라는 것은 단면적 연구로는 정확히 예견할 수 없다고 하였다. 그러나 Martinez 등⁷⁾의 연구와 같이 비우식 그룹에 비해 우식그룹에서 *S. mutans* 영향은 치아우식 발생의 높은 위험을 나타내었고, Hughes 등⁸⁾은 심각한 그리고 재발성 유아 우식의 경우 내산균보다 *S. mutans*의 영향이 크다고 했으며, Ito 등⁹⁾의 연구와 같이 *S. mutans*는 우식의 발생에 중요한 역할을 하고 집중적인 예방 치료는 우식위험도가 높은 환자에서 고려되어야 한다는 기존의 연구결과 *S. mutans*가 치아우식발생에 주요 원인으로 작용되는 것과 과거의 우식경험 보다는 현재 우식치아 집단에서의 *S. mutans* 수준이 높게 나타난 결과 구강관리를 통해 *S. mutans*의 수준을 낮춘다면 치아우식증 발생을 저하시킬 수 있다고 할 수 있다.

Dentocult[®]-SM Screening strip 검사 평가표에 의한 *S. mutans* 수준 평가를 보완하기 위해 흡광도를 측정한 결과 현재 우식치아가 있는 집단에서 흡광도 측정 수치가 높게 나타나 Screening strip 검사 평가표의 *S. mutans* 수준 평가 결과와 동일하였으나 통계적으로 유의한 차이를 나타내지는 않았다($p > 0.05$) (Table 3).

세균을 배양하거나 조사해야 할 시료의 배양액 흡광도를 측정하여 세균의 생장을 측정해 볼 수 있는 방법을 활용해 본 연구에서는 배양액에서 세균의 생장곡선을 흡광도 측정 방법으로 구해보고 또 정확한 균체수의 측정을 위해서 집락 계수법을 병행했다. 그리고 흡광도와 기존의 Dentocult[®]-SM Screening strip 검사결과와 관련성을 확인하고자 하였다. 우식경험치와 타액과 치면세균막에서의 *S. mutans*, 흡광도 사이의 상관관계를 측정한 결과 타액과 치면세균막에

서의 *S. mutans*와 흡광도 사이에서 통계적으로 유의한 상관 관계를 나타냈다($p < 0.05$) (Table 4). 타액과 치면세균막에서의 *S. mutans*, 흡광도 수준은 우식발생의 위험도를 의미한다. 김 등¹⁰⁾의 연구에서는 Alaluusua와 Renkonen¹¹⁾은 *S. mutans*가 타액보다 치태 내에서 현저히 높게 분리됨으로서 어린이의 타액에서 *S. mutans*를 측정하는 것이 치아우식증을 예측하는데 바람직하지 못하다고 보고하였으나 본 연구 결과로 볼 때 우식발생과 타액 내 존재하는 *S. mutans* 수준은 상관관계가 있음을 나타내고 있으며 김 등¹⁰⁾과 Chosack 등¹²⁾의 연구에서 보고된 바와 같이 타액내의 *S. mutans* 수준이 우식 발생에 영향을 줄 수 있다.

예방치과치료는 우식 및 치주질환의 개인 위험에 따라 시행되어야 하지만 지금까지 일반적으로 개인의 우식 위험에 대한 지식의 부족으로 적절한 우식 위험 평가 없이 시행되어졌다. 치아우식증이 발생하는 여러 요인 중 *S. mutans* 수준에 따른 영향은 예방치과치료 측면에서 평가할 때, 주요한 원인이므로 기존의 다양한 평가방법을 통해 우식 위험도가 높은 성인 환자를 식별하고 예방프로그램의 효과를 모색할 필요가 있다.

5. 결론

본 연구에서는 우식경험과 치아우식증의 주요 원인균인 *S. mutans*의 관련성을 평가하고자 대학생 41명을 대상으로 Dentocult[®]-SM을 이용하여 타액과 치면세균막의 *S. mutans* 수준을 측정하였고, 배지의 세균성장 측정을 위해 흡광도를 측정하여 상관성을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 현재 우식치아가 있는 집단은 우식치아가 없는 집단보다 *S. mutans*의 수치가 높게 나타났다($p < 0.05$).
2. 우식경험치아가 많을수록 *S. mutans*의 수치가 높게 나타났다($p > 0.05$).
3. 현재 우식치아가 있는 집단은 우식치아가 없는 집단보다 흡광도 측정 수치가 높게 나타났다($p > 0.05$).
4. 우식경험연구치, 타액과 치면세균막에서의 *S. mutans*, 흡광도 사이의 상관관계를 분석한 결과 타액과 치면세균막에서의 *S. mutans*와 흡광도 사이에서 통계적으로 유의한 상관관계를 나타내었다($p < 0.05$).

이상의 결과를 종합해 볼 때 우식경험이 높고 현재 우식이 발생되어 있는 경우 치아우식증의 원인균인 *S. mutans*의 수준이 높게 측정됨으로 이와 같은 대상자들은 추후 발생 가능한 치아우식증 예방을 위해 지속적인 구강관리가 시행되어야 한다.

6. 참고문헌

1. Ministry of health & welfare, The Korean National Oral Health Survey 2010, Seoul:Ministry of health & welfare, 2010, pp 200-226, 481-502.
2. Kim CS, Kim JG, Yang YM et al. Detection of salivary *Streptococcus mutans* levels using monoclonal antibodies. J Korean Acad Pediatr Dent 2010;37(2):186-192.
3. Kim JH, Jung EK, Choi YH, Song KB. The comparison of the characteristics of *Streptococcus mutans* isolated from caries free and high caries children. J Korean Acad Oral Health 2012;36(1):1-6.
4. Kim SY. The estimation of dental caries potentiality and prevention of dental caries by oral bacteria[master's thesis]. Gwang-Ju: The graduate school of Chonnam National University, 2011.
5. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev 1980;44:331-384.
6. Shin DK, Kim JY, Song KB, Nam SH. Relationship between dentocult-SM test, Microbial analysis and dental caries in the pre-school children. J Korean Acad Pediatr Dent 2003;30(2):254-262.
7. Martinez-Martinez RE, Fujiwara T, Pati o-Marin N, et al. Comparison of *Streptococcus mutans* biofilm in caries-free and caries-affected preschool Mexican children. Acta Odontol Latinoam 2012;25(1):27-32.
8. Hughes CV, Dahlan M, Papadopolou E, et al. Aciduric microbiota and *Streptococcus mutans* in severe and recurrent severe early childhood caries. Pediatr Dent 2012;34(2):16-23.
9. Ito A, Hayashi M, Hamasaki T, Ebisu S. How regular visits and preventive programs affect onset of adult caries. J Dent Res 2012 Jul;91(7 Suppl):52S-58S.
10. Kim JG, Kim YS, Baik BJ, Yang YM. Relationship

between salivary caries-related tests and dental caries experience in Korean dental college students. J Korean Acad Pediatr Dent 2005;32(1): 67-74

11. Alaluusua S, Renkonen OV. *Streptococcus mutans* establishment and dental caries experience in children from 2 to 4 years old. Scandinavian J Dent Res 1983;91:453-457.
12. Chosack A, Cleaton-Jones P, Woods A, et al. Caries prevalence and severity in the primary dentition and *Streptococcus mutans* levels in the saliva of preschool children in South Africa. Community Dent Oral Epidemiol. 1988;16:289-291.