*Streptococcus*에 대한 chlorhexidine dihydrochloride와 불화나트륨의 효과

강인성 · 양규호 · 최남기 · 김선미* · 오종석**

전남대학교 치과대학 소아치과학교실 및 치의학 연구소,
광주보건대학 치위생과*, 전남대학교 의과대학 미생물학교실**

국문초록

Chlorhexidine dihydrochloride와 불화나트륨은 구강 내 세균을 억제하고 치태의 형성을 억제하기 위하여 많이 사용되고 있는 물질이다. 그러나 구강에는 여러 종류의 세균들이 상주하며 이들 물질에 대한 감수성도 다르다. 본 연구에서는 chlorhexidine dihydrochloride와 불화나트륨에 의해 *Streptococcus mutans*의 인공치태 형성이 억제되었을 때 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*의 증식에 미치는 이들 물질의 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

*Streptococcus mutans*를 8시간 배양하면 와이어에 형성된 인공치태 무게는 106.1±18.1mg이었으나, 1.0 μM chlorhexidine dihydrochloride를 첨가하면 5.1±1.5 mg으로 감소되었다($p<0.05$). 이 때 배양액의 흡광도도 감소되었다. *Streptococcus sobrinus*의 배양액 흡광도는 약간 감소되었으나 *Streptococcus oralis*에서는 감소되지 않았고 *Streptococcus salivarius*에서는 배양 8시간에 감소되었다가 배양 24시간에 대조군과 차이가 없었다. 배지에 3.0mM 불화나트륨을 첨가하여 *Streptococcus mutans*를 8시간 배양하면 와이어에 형성된 인공치태 무게는 26.7±8.3mg으로 감소되었다($p<0.05$). 이 때 배양액의 흡광도도 감소되었다. *Streptococcus sobrinus*와 *Streptococcus oralis*에서의 배양액의 흡광도도 감소되었으나 *Streptococcus salivarius*에서는 거의 감소되지 않았다.

이상의 결과는 *Streptococcus mutans*의 인공치태 형성을 억제하는 chlorhexidine dihydrochloride와 불화나트륨 농도에서 *Streptococcus*의 여러 종의 감수성이 각각 다르다는 것을 시사하였다.

주요어 : *Streptococcus*, Chlorhexidine dihydrochloride, 불화나트륨

Ⅰ. 서 론

치아우식증은 구강내 만성 감염성 질환이다. 치아우식증 발생에 치태가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 이는 치태에 존재하는 세균들이 여러 가지 해로운 대사산물을 만들기 때문이다[1]. 치아우식증 발생에 있어서 가장 중요한 원인으로 작용하는 *Streptococcus mutans*군은 항원성에 따라 8개의 혈청형(a-h)으로 나눌 수 있는데, *Streptococcus mutans*는 혈청형 c로 전세계적으로 가장 많이 분리되고 있다[2-4]. *Streptococcus mutans*는 세균 외부로 glucosyltransferase를 분비하여 자당으로부터 점착성의 비수용성 다당류인 글루캔(glucan)을 합성한다. 이 글루캔은 치태의 기본물질로 *Streptococcus mutans*의 글루캔 수용체와 결합되어 치아 표면에 세균이 부착되도록 도와준다. 치태의 *Streptococcus mutans*는 탄수화물의 대사과정에서 다량의 유산을 생성하여 치아 표면을 탈회시킴으로써 치아우식증을 유발한다[5]. *Streptococcus mutans*군에 속하는 세균으로 치태형성에 있어서 *Streptococcus mutans* 다음으로 중요한 *Streptococcus sobrinus*는 혈청형 d로 *Streptococcus mutans*에 비하여 비수용성 글루캔을 적게 만든다.

구강에 상주하는 중요한 *Streptococcus*인 *Streptococcus oralis*와 *Streptococcus salivarius*는 정상 세균들로 *Strept-*

교신저자 : 양 규 호

광주광역시 동구 학동 8번지
전남대학교 치과대학 소아치과학교실
Tel : 062-220-5476
E-mail : hellopedo@hanmail.net

*ococcus mutans*의 증식을 억제하여 치태형성을 억제하기 때문에 구강 위생에 이로운 역할을 하고 있다[6,7].

*Streptococcus mutans*의 구강 내 숫자는 음식물의 종류, 불소 및 전신적 항생제의 사용여부, 가족 내 구성원의 *Streptococcus mutans* 숫자, 구강위생, 타액작용 그리고 치태 미생물의 상호작용 등에 의해 영향을 받을 수 있을 것이다. *Streptococcus mutans*를 억제하기 위하여 chlorhexidine[8,9], iodine[10], penicillin[11], vancomycin[12-15], kanamycin[16], 불소[17] 등을 사용하고 있는데, 이 중 chlorhexidine과 불소가 가장 흔하게 사용되고 있다. Chlorhexidine은 bis-biguanide 계통의 양이온제제로 그람 양성균의 teichoic acid와 그람 음성균의 lipopolysaccharide의 인산과 결합하여 세균의 세포질을 유출시키며, 고농도에서는 세포질의 단백질을 침전시켜 살균작용을 나타낸다. 불소화합물은 *Streptococcus mutans*의 치아 부착을 방해하거나 산생성균의 대사나 성장을 억제한다. 이렇게 구강내 세균을 억제하든가 *Streptococcus mutans*의 치태 형성을 억제할 목적으로 사용되는 chlorhexidine과 불소를 투여하였을 때, *Streptococcus mutans* 뿐만 아니라 다른 구강내 상주균 특히 같은 *Streptococcus*에 속하는 세균도 영향을 받을 것으로 사료된다.

본 연구는 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus* salivarius의 증식에 대하여 chlorhexidine과 불소의 영향을 비교하고자 시행되었다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 공시세균 및 배양

Streptococcus mutans Ingbritt strain, *Streptococcus sobrinus* B-13, *Streptococcus oralis*(ATCC 35037, Rockville, MA, USA), *Streptococcus salivarius*는 전남의대 미생물학교실에 보관중인 것을 공시하였으며, 공시세균의 배양은 동결 건조로 보관중인 것을 M17 액체배지(Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하여 37℃에서 18시간 배양하였다.

2. *Streptococcus mutans*의 인공치태 형성에 미치는 chlorhexidine dihydrochloride와 불화나트륨의 영향

McCabe 등[18]의 방법을 변형하여 시행하였다. 약술하면 M17 액체배지에 5% 자당과 0.1 M MOPS(Sigma, St. Louis, MO, USA) buffer를 첨가하여 pH 7로 조정하였다. 배지에 0.125μM, 0.25μM, 0.5μM, 1.0μM chlorhexidine dihydrochloride(Sigma, St. Louis, MO, USA)와 0.375mM, 0.75mM, 1.5mM, 3.0mM 불화나트륨(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 첨가하여 비커에 40ml 씩 준비하였다. 여기에 2×10^8의 *Streptococcus mutans*를 접종하고 0.016inch 스테인레스 스틸 재질의 와이어(Ormco, Glendora, CA, USA)를 50mg 내외가 되게 준비하여 3개씩 비커에 매달아 배지에 잠기도록 하였다. 37℃ 배양기에서 회전시키면서 8시간과 24시간 배양한 후, 3개의 와이어에 형성된 인공치태 무게를 평균하였다.

3. *Streptococcus mutans*의 증식에 미치는 chlorhexidine dihydrochloride와 불화나트륨의 영향

M17 액체배지에 5% 자당과 0.1M MOPS buffer를 첨가하여 pH 7로 조정한 다음, 0.125μM, 0.25μM, 0.5μM, 1.0μM chlorhexidine dihydrochloride와 0.375mM, 0.75mM, 1.5 mM, 3.0mM 불화나트륨을 첨가하였다. 배지 10ml에 5×10^7 *Streptococcus mutans*를 접종하여 37℃에서 0, 4, 8, 24시간 배양하였다. 배양액의 흡광도(optical density)를 분광광도계(spectrophotometer, Hitachi, Tokyo, Japan) 660nm 파장에서 측정하였으며 실험을 3회 반복하여 시행한 후 평균을 구하였다.

4. *Streptococcus sobrinus, Streptococcus oralis, Streptococcus salivarius*의 증식에 미치는 chlorhexidine dihydrochloride와 불화나트륨의 영향

M17 액체배지에 5% 자당과 0.1M MOPS buffer를 첨가하여 pH 7로 조정한 다음, 0.125μM, 0.25μM, 0.5μM, 1.0μM chlorhexidine dihydrochloride와 0.375mM, 0.75mM, 1.5mM, 3.0mM 불화나트륨을 첨가하였다. 배지 10ml에 5×10^7 *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*를 접종하여 37℃ 배양기에서 0, 4, 8, 24시간 배양하였다. 위의 방법과 같이 배양액의 흡광도를 측정하였으며 실험을 3회 반복하여 시행한 후 평균을 구하였다.

5. 통계적 처리

모든 수치는 평균±표준편차로 표시하였고 각군의 인공치태 무게 차이는 Mann-Whitney test를 이용하여 비교하였으며 통계학적인 유의성은 p value가 0.05 이하인 경우로 하였다.

Ⅲ. 연구 성적

1. *Streptococcus mutans*의 인공치태 형성에 미치는 chlorhexidine dihydrochloride의 영향

M17 액체배지에서 *Streptococcus mutans*를 8시간 배양하였을 때 Fig. 2에서와 같이 대조군의 와이어에 형성된 인공치태 무게는 106.1±18.1mg이었다. Chlorhexidine dihydrochlo-

ride를 0.125μM이 되도록 배지에 첨가하여 배양하였을 경우 와이어상에 형성된 인공치태 무게는 98.7±24.8mg, 0.25μM인 경우는 88.0±23.8mg, 0.5μM인 경우는 69.4±7.6mg이었으며, 1.0μM인 경우는 5.1±1.5mg으로 현저히 감소되어 ($p<0.05$) Fig. 1의 B와 같이 와이어에 인공치태가 형성되지 않았다. *Streptococcus mutans*를 24 시간 배양한 대조군에서 형성된 인공치태 무게는 129.8±43.9mg이었다. Chlorhexidine dihydrochloride를 0.125μM이 되도록 배지에 첨가하여 배양하였을 경우 와이어에 형성된 인공치태 무게는 169.0±23.2mg이었고 0.25μM인 경우는 114.1±25.7mg, 0.5μM인 경우는 90.8±11.3mg, 1.0μM인 경우는 50.4±3.4mg이었다(Fig. 2).

2. *Streptococcus mutans*의 증식에 미치는 chlorhexidine dihydrochloride의 영향

M17 액체배지에 *Streptococcus mutans*를 접종한 대조군에서 배양액의 흡광도가 배양 8시간에 0.487±0.001, 배양 24시간에 1.073±0.002로 증가되었다. 여기에 chlorhexidine dihydrochloride가 0.125μM이 되도록 첨가시 배양 8시간에 0.247±0.002, 배양 24시간에 0.782±0.003으로, 0.25μM인 경우는 배양 8시간에 0.241±0.001, 배양 24시간에 0.778±0.027로, 0.5μM인 경우는 배양 8시간에 0.146±0.010, 배양 24시간에 0.593±0.002로, 1.0μM인 경우는 배양 8시간에 0.056, 배양 24시간에 0.306±0.020으로 대조군과 비교하여 감소되었다(Fig. 3).

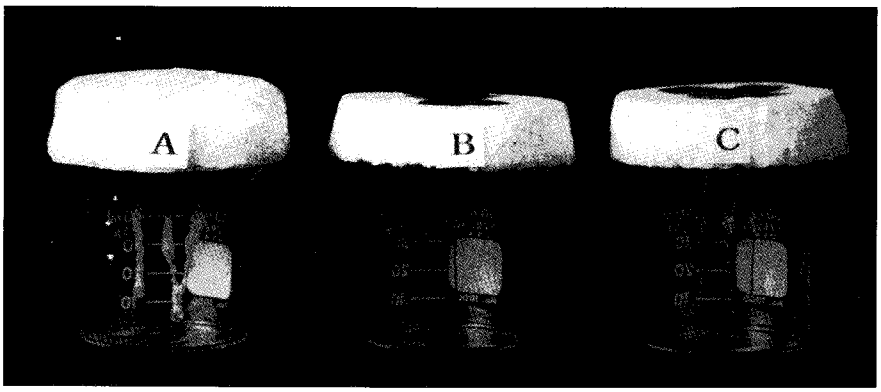

Fig. 1. Effect of chlorhexidine dihydrochloride and sodium fluoride on the formation of artificial plaque on the wires by *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* was cultured for 8 hours in M17 broth (A), M17 broth added with 1μM chlorhexidine dihydrochloride (B), and M17 broth added with 3mM sodium fluoride (C). The formation of artificial plaque was decreased in groups containing chlorhexidine dihydrochloride and sodium fluoride compared with the control group.

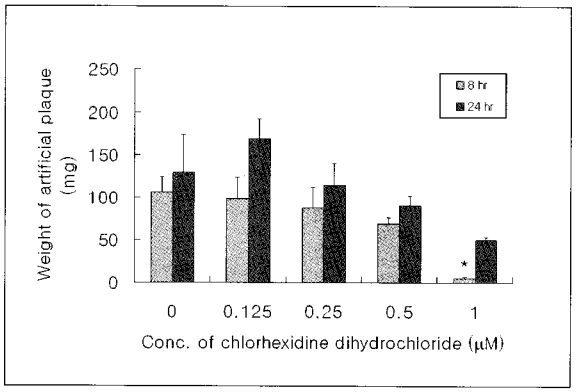

Fig. 2. Effect of chlorhexidine dihydrochloride on the formation of artificial plaque on the wires by *Streptococcus mutans*. The mean weight of artificial plaque was measured on the balance. Mean plaque weight was significantly decreased in 1.0μM chlorhexidine dihydrochloride-added group compared with the control group when *Streptococcus mutans* was cultured for 8 hours($p<0.05$).

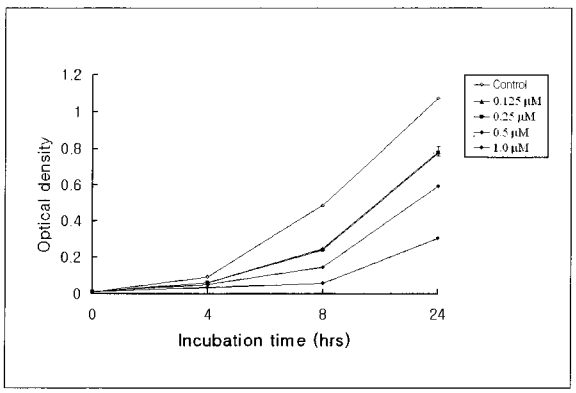

Fig. 3. Effect of chlorhexidine dihydrochloride on the replication of *Streptococcus mutans*. The optical density was measured at 660nm in the spectrophotometer.

3. *Streptococcus sobrinus*의 증식에 미치는 chlorhexidine dihydrochloride의 영향

M17 액체배지에 *Streptococcus sobrinus*를 접종한 대조군에서 배양액의 흡광도가 배양 8시간에 1.194±0.020, 배양 24시간에 1.587±0.046으로 증가되었다. 여기에 chlorhexidine dihydrochloride가 0.125μM이 되도록 첨가시 배양 8시간에 1.225±0.172, 배양 24시간에 1.672±0.120으로, 0.25μM인 경우는 배양 8시간에 1.117±0.203, 배양 24시간에 1.679±0.084로 대조군과 비슷하였으며, 0.5μM인 경우는 배양 8시간에 0.902±0.087, 배양 24시간에 1.580±0.055로, 1.0μM인 경우는 배양 8시간에 0.448±0.041, 배양 24시간에 1.344±0.047로 대조군과 비교하여 낮아졌다(Fig. 4).

4. *Streptococcus oralis*의 증식에 미치는 chlorhexidine dihydrochloride의 영향

M17 액체배지에 *Streptococcus oralis*를 접종한 대조군에서 배양액의 흡광도가 배양 8시간에 1.911±0.001, 배양 24시간에 2.054±0.004로 증가되었다. 여기에 chlorhexidine dihydrochloride가 0.125μM에서 1.0μM이 첨가되어도 배양액의 흡광도는 대조군과 비슷하게 증가하였다(Fig. 5).

5. *Streptococcus salivarius*의 증식에 미치는 chlorhexidine dihydrochloride의 영향

M17 액체배지에 *Streptococcus salivarius*를 접종한 대조군에서 배양액의 흡광도가 배양 4시간에 0.989±0.079, 배양 8시간에 2.044±0.003으로 증가되었다. 여기에 chlorhexidine dihydrochloride가 0.125μM이 되도록 첨가시 배양 4시간에 0.703±0.026, 배양 8시간에 2.039±0.007로, 0.25μM인 경우는 배양 4시간에 0.519±0.092, 배양 8시간에 2.012±0.010으로, 0.5μM인 경우는 배양 4시간에 0.363±0.030, 배양 8시간에 1.984±0.011로 대조군과 비교하여 배양 4시간에는 감소하였으나 배양 8시간에는 비슷하였다. Chlorhexidine dihydrochloride 1.0μM이 되도록 첨가시 배양 4시간에 0.095±0.009, 배양 8시간에 0.613±0.145로 대조군과 비교하여 감소되었다(Fig. 6).

6. *Streptococcus mutans*의 인공치태 형성에 미치는 불화나트륨의 영향

M17 액체배지에서 *Streptococcus mutans*를 8시간 배양하였을 때 Fig. 7에서와 같이 대조군의 와이어에 형성된 인공치태 무게는 106.1±18.1mg이었다. 불화나트륨을 0.375mM이 되도록 배지에 첨가하여 배양하였을 경우 와이어상에 형성된 인공치태 무게는 83.7±16.3mg이었고 0.75mM인 경우는

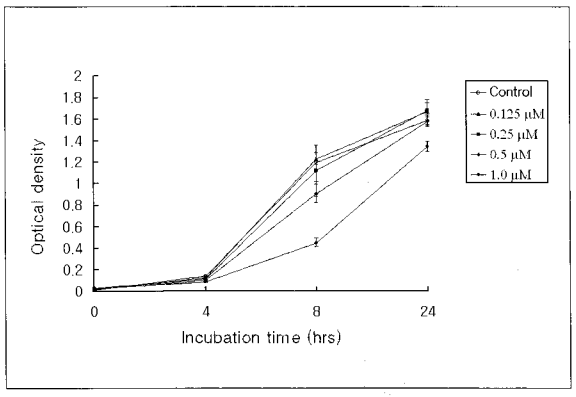

Fig. 4. Effect of chlorhexidine dihydrochloride on the replication of *Streptococcus sobrinus*. The optical density was measured at 660nm in the spectrophotometer.

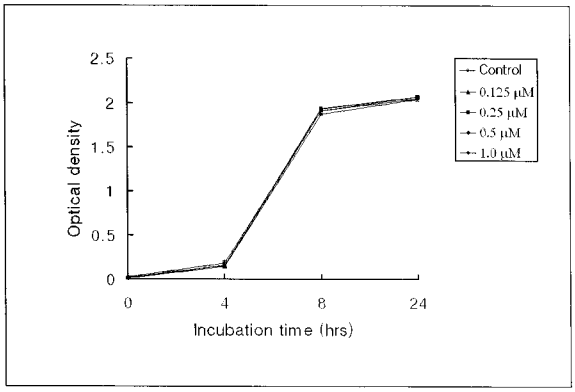

Fig. 5. Effect of chlorhexidine dihydrochloride on the replication of *Streptococcus oralis*. The optical density was measured at 660nm in the spectrophotometer.

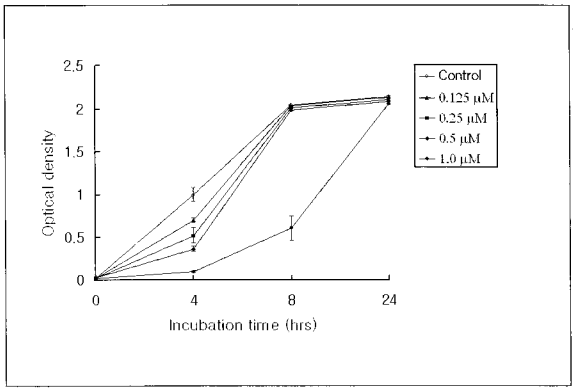

Fig. 6. Effect of chlorhexidine dihydrochloride on the replication of *Streptococcus salivarius*. The optical density was measured at 660nm in the spectrophotometer.

121.8±32.6mg, 1.5mM인 경우는 89.1±13.7mg이었으며, 3.0mM인 경우는 26.7±8.3mg로 현저히 감소되어($p<0.05$) Fig. 1의 C와 같이 와이어에 인공치태가 거의 형성되지 않았다. *Streptococcus mutans*를 24시간 배양한 대조군에서 형성된 인공치태 무게는 129.8±43.9mg이었다. 불화나트륨을 0.375mM이 되도록 배지에 첨가하여 배양하였을 경우 와이어에 형성된 인공치태 무게는 144.7±35.4mg이었고 0.75mM인 경우는 246.4±42.3mg, 1.5mM인 경우는 155.4±37.0mg, 3.0mM인 경우는 76.4±16.4mg이었다(Fig. 7).

7. *Streptococcus mutans*의 증식에 미치는 불화나트륨의 영향

M17 액체배지에 *Streptococcus mutans*를 접종한 대조군에서 배양 시간에 따라 배양액의 흡광도가 증가하여 배양 8시간에 0.487±0.001, 배양 24시간에 1.073±0.002가 되었다. 여기에 불화나트륨 0.375mM이 되도록 첨가시 배양 8시간에 0.470±0.002, 배양 24시간에 1.137±0.001로, 0.75mM인 경우는 배양 8시간에 0.409±0.001, 배양 24시간에 1.123±0.002로 대조군과 비슷하였다. 불화나트륨 1.5mM인 경우는 배양 8시간에 0.300±0.002, 배양 24시간에 0.949±0.010으로, 3.0mM인 경우는 배양 8시간에 0.123±0.001, 배양 24시간에 0.491로 대조군과 비교하여 감소되었다(Fig. 8).

8. *Streptococcus sobrinus*의 증식에 미치는 불화나트륨의 영향

M17 액체배지에 *Streptococcus sobrinus*를 접종한 대조군에서 배양 시간에 따라 배양액의 흡광도가 증가하여 배양 8시간에 1.194±0.020, 배양 24시간에 1.587±0.046이 되었다. 여기에 불화나트륨 0.375mM이 되도록 첨가시 배양 8시간에 1.206±0.023, 배양 24시간에 1.554±0.029로, 0.75mM인 경우는 배양 8시간에 1.139±0.028, 배양 24시간에 1.448±0.025로 대조군과 비슷하였으며, 1.5mM인 경우는 배양 8시간에 0.932±0.031, 배양 24시간에 1.230±0.062로, 3.0mM인 경우는 배양 8시간에 0.504±0.004, 배양 24시간에 0.812±0.121로 대조군과 비교하여 감소되었다(Fig. 9).

9. *Streptococcus oralis*의 증식에 미치는 불화나트륨의 영향

M17 액체배지에 *Streptococcus oralis*를 접종한 대조군에서 배양 시간에 따라 배양액의 흡광도가 증가하여 배양 8시간에 1.911±0.001, 배양 24시간에 2.054±0.004가 되었다. 여기에 불화나트륨이 0.375mM이 되도록 첨가 시 배양 8시간에 1.758±0.012, 배양 24시간에 1.959±0.018, 0.75mM인 경우는 배양 8시간에 0.828±0.042, 배양 24시간에 1.819±0.022로, 1.5mM인 경우는 배양 8시간에 0.191±0.049, 배양 24시간에 1.386±0.014로, 3.0mM인 경우는 배양 8시간에 0.035±0.002, 배양 24시간에 0.505±0.008로 대조군과 비교하여 감소되었다(Fig. 10).

10. *Streptococcus salivarius*의 증식에 미치는 불화나트륨의 영향

M17 액체배지에 *Streptococcus salivarius*를 접종한 대조군에서 배양액의 흡광도가 배양 4시간에 0.989±0.079, 배양 8시간에 2.044±0.003로 증가되었다. 여기에 불화나트륨이

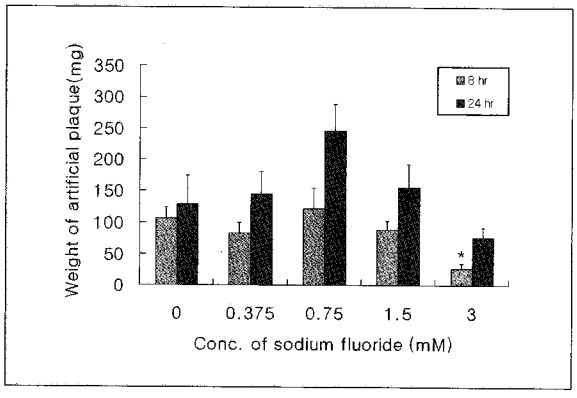

Fig. 7. Effect of sodium fluoride on the formation of artificial plaque on the wires by *Streptococcus mutans*. The mean weight of artificial plaque was measured on the balance. Mean plaque weight was significantly decreased in the 3.0mM sodium fluoride-added group compared with the control group when *Streptococcus mutans* was cultured for 8 hours($p<0.05$).

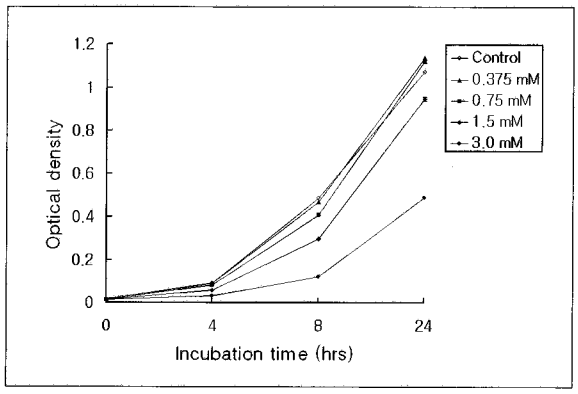

Fig. 8. Effect of sodium fluoride on the replication of *Streptococcus mutans*. The optical density was measured at 660nm in the spectrophotometer.

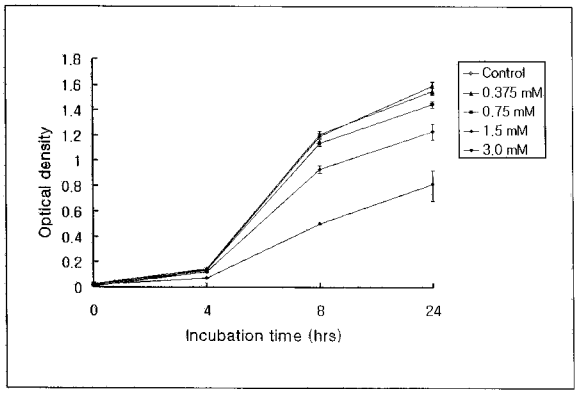

Fig. 9. Effect of sodium fluoride on the replication of *Streptococcus sobrinus*. The optical density was measured at 660 nm in the spectrophotometer.

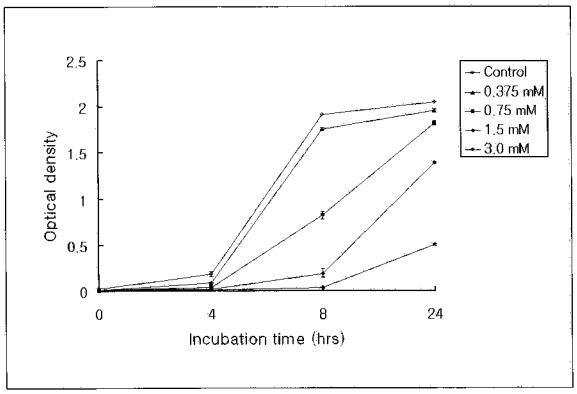

Fig. 10. Effect of sodium fluoride on the replication of *Streptococcus oralis*. The optical density was measured at 660 nm in the spectrophotometer.

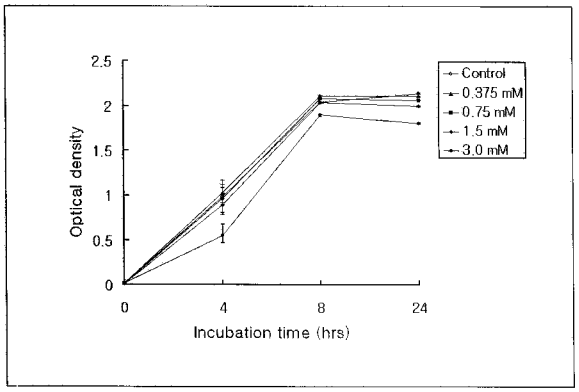

Fig. 11. Effect of sodium fluoride on the replication of *Streptococcus salivarius*. The optical density was measured at 660 nm in the spectrophotometer.

0.375mM에서 1.5mM이 첨가되어도 배양액의 흡광도는 대조군과 비슷하게 증가하였다. 불화나트륨 3.0mM이 되도록 첨가시 배양 4시간에 0.553±0.103, 배양 8시간에 1.900±0.015로 대조군과 비교하여 감소되었다(Fig. 11).

Ⅳ. 총괄 및 고찰

치아와 치주 질환의 발생에 중요한 역할을 하는 치태는 세균과 세균 간 물질로 구성되어 있다[19]. 치태 형성 초기에 타액으로부터 유래된 당단백에 의해 획득 피막이 형성되며 세균들은 이 피막과 비특이적으로 약하게 결합하다가 나중에 세포외 다당류를 합성하여 강하게 결합한다. 세포외 다당류는 치태에 존재하는 세균에 의해 자당으로부터 합성되는데 포도당의 중합체인 글루캔과 과당의 중합체인 프럭탄(fructan)으로 구분된다[20,21]. 세포외 다당류는 치아와 치주 건강에 중요한 역할을 하는데 이는 첫째, 세포외 다당류는 끈끈한 성질이 있어 접착성이 강하여 치태세균의 부착 및 응집을 조장하고, 둘째, 세균이 필요로 하는 에너지의 저장소가 되며, 셋째, 세균이 만드는 독소와 염증을 일으키는 물질을 포함하고 있기 때문이다. 글루캔은 *Streptococcus mutans* 외에도 다른 *Streptococcus*, *Lactobacillus*와 같은 구강세균에 의해 형성된다.

타액에서 일부 세균들의 증식이 억제되는 것은 구강 Streptococci에 의해 생성된 H_2O_2 때문이며[22], *Streptococcus oralis*와 *Streptococcus* sanguis 등과 같은 *Streptococcus*는 H_2O_2를 분비하여 *Streptococcus mutans*를 억제한다[7]. 임상적으로 H_2O_2를 분비하는 함수제를 매 식후 사용하였을 때 치태 내의 치주질환의 원인인 나선균, 사상균, 운동성 간균 등의 증식이 억제되었고 2 주간의 함수제 사용으로 치태지수와 치은염지수가 현저히 낮아졌다[23]. 치아에 chlorhexidine을 바른 후 *Streptococcus mutans*만 단독 배양한 쥐에서는 약 1주일후 *Streptococcus mutans*가 본래의 숫자로 돌아왔지만, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mitis biovar* I과 *Actinomyces naeslundii* 등을 혼합배양한 쥐에서 *Streptococcus mutans*는 수 주 동안 억제되었는데[24,25], 이는 *Streptococcus mutans*의 증식이 구강내 세균들에 의해 조절되고 있음을 의미한다. *Streptococcus oralis*는 주로 치면에 상주하는데 영아의 구강내 연쇄상구균을 조사한 결과, 영아의 1/3에서 발견할 수 있다[26]. *Streptococcus oralis*는 세균성 심내막염[27], Behcet's 질환[28], 호중구 결핍성 암환자[29]에서 분리되기도 하나, H_2O_2를 분비하여 *Streptococcus mutans*의 증식을 억제하고 치태 형성을 감소시킨다[30]. H_2O_2는 미생물에 매우 독성이 강하고 아울러 구강점막에도 해를 줄 수 있다. 그러나 타액에서 이 H_2O_2는 peroxidase, thiocyanate와 반응하여 hypothiocyante가 되어 구강점막에 해가 없으면서 정균효과를 가지게 된다[31]. 이러한 H_2O_2와 lactoperoxidase system과의 반응은 구강내 연쇄상구균의 대사 및 성장을 억제하는데 이는 H_2O_2 단독시보다 더 효과적임이 보고되고 있다[32].

불소화합물은 종류에 따라 작용기전이 동일하지는 않지만 일

반적으로 치아표면에 침착되어 법랑질의 산에 대한 용해도를 낮추어 치면세균막에서 형성된 산에 의한 탈회를 억제하고, 법랑질 초기우식병소의 재석회화를 촉진시키며 미생물의 성장을 억제하는 등의 작용으로 우식 예방 효과를 나타낸다. 불소화합물로는 불화나트륨, sodium monofluorophosphate, amine fluoride, 불화주석 등 여러 종류가 있으나, 이중 불화나트륨이 많이 사용된다. Kay와 Wilson[33]은 amine fluoride가 치은연하 치태의 그람음성 세균보다 그람양성 세균에 더 효과적으로 작용한다고 하였으며, Bowden과 Hamilton[34]은 *Streptococcus mutans*와 *Lactobacillus casei*의 혼합배양하에서 고농도(20mM)의 불소가 *Streptococcus mutans*를 현저히 감소시켰으나 *Lactobacillus casei*에는 거의 영향을 미치지 않았다고 하였다. Emilson[35]은 chlorhexidine을 구강에 국소도포하였을 때 치면세균막과 타액의 *Streptococcus mutans*는 억제되었으나 lactobacilli는 억제되지 않았고 *Streptococcus* sanguis는 잠깐 증가하였다고 보고하였다.

본 연구에서는 비커에 *Streptococcus mutans*를 배양할 때 chlorhexidine dihydrochloride를 1.0μM 첨가시 와이어에 형성된 인공치태 무게는 배양 8시간에 5.1±1.5mg으로 현저히 감소하였으나 배양 24시간에는 50.4±3.4mg이 되었다. 이는 chlorhexidine dihydrochloride가 시간이 지남에 따라 파괴되어 *Streptococcus mutans*에 대한 증식 억제작용이 약화된 것으로 사료된다. Chlorhexidine dihydrochloride에 의한 인공치태 억제작용은 불화나트륨 3.0mM 첨가시 배양 8시간에 와이어에 형성된 인공치태 무게 26.7±8.3mg인 것과 비교하였을 때 chlorhexidine dihydrochloride가 더 낮은 농도에서 인공치태 형성을 억제하는 것으로 보아 구강에서의 치태 억제 효과가 chlorhexidine dihydrochloride가 불화나트륨보다 더 큰 것으로 생각된다. 배지에 *Streptococcus mutans*를 접종한 대조군에서의 배양액 흡광도와 비교하여 첨가된 chlorhexidine dihydrochloride의 농도가 높아질수록 배양액의 흡광도는 감소하여 chlorhexidine dihydrochloride 1.0μM을 첨가한 경우 배양 24시간에 0.306±0.020으로 현저히 감소되었다. *Streptococcus sobrinus* 경우에는 첨가한 chlorhexidine dihydrochloride가 1.0μM을 첨가한 경우 배양 24시간의 배양액 흡광도 1.344±0.047로 대조군과 비교하여 약간 낮은 것으로 나타나 *Streptococcus mutans*보다는 chlorhexidine dihydrochloride에 대한 감수성이 떨어지는 것으로 사료된다. *Streptococcus oralis* 경우에는 chlorhexidine dihydrochloride를 첨가하여도 배양액 흡광도가 대조군과 비슷한 것으로 나타나 chlorhexidine dihydrochloride에 대해 저항성이 있는 것으로 보인다. *Streptococcus salivarius* 경우에는 chlorhexidine dihydrochloride가 0.5μM 까지는 배양 8시간에, 1.0μM에서는 배양 24시간에 배양액 흡광도가 대조군과 비슷하게 나타나 chlorhexidine dihydrochloride에 저항성을 나타내는 *Streptococcus salivarius*의 출현이 빠른 것으로 사료된다. 배지에 첨가된 불화나트륨도 농도가 높아질수록 *Streptococcus mutans*의 배양액 흡광도는 감소되었으며, *Streptococcus sobrinus*와 *Streptococcus oralis*도 첨가된 불화나트륨의 농도가 증가할 수록 *Streptococcus mutans*와 비슷하게 배양액 흡광도가 감소되어 불화나트륨에 대한 감수성이 세 균주 모두 비슷한 것으로 사료된다. *Streptococcus salivarius* 경우에는 불화나트륨 농도가 3.0mM일 때의 배양액 흡광도는 대조군과 비교하여 약간 감소하여 다른 3종의 *Streptococcus*보다 불화나트륨에 대해 내성이 있는 것으로 생각된다. 이러한 결과는 소독제나 항생제를 구강이나 인체에 사용시 목적으로 하는 세균뿐만 아니라 다른 세균에 대한 영향도 검사하여야 할 뿐 아니라 좀 더 많은 종류의 세균에 대한 연구도 이루어져야 될 것으로 사료된다.

Ⅴ. 결 론

Chlorhexidine dihydrochloride와 불화나트륨에 의해 *Streptococcus mutans*의 인공치태 형성이 억제 되었을 때 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus* salivarius의 증식에 미치는 이들 물질의 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

*Streptococcus mutans*를 8시간 배양하면 와이어에 형성된 인공치태 무게는 106.1±18.1mg이었으나, 1.0μM chlorhexidine dihydrochloride를 첨가하면 5.1±1.5mg으로 감소되었다($p<0.05$). 이 때 배양액의 흡광도도 감소되었다. *Streptococcus sobrinus*의 배양액 흡광도는 약간 감소되었으나 *Streptococcus oralis*에서는 감소되지 않았고 *Streptococcus salivarius*에서는 배양 8시간에 감소되었다가 배양 24시간에 대조군과 차이가 없었다. 배지에 3.0mM 불화나트륨을 첨가하여 *Streptococcus mutans*를 8시간 배양하면 와이어에 형성된 인공치태 무게는 26.7±8.3mg으로 감소되었다($p<0.05$). 이 때 배양액의 흡광도도 감소되었다. *Streptococcus sobrinus*와 *Streptococcus oralis*에서의 배양액의 흡광도도 감소되었으나 *Streptococcus salivarius*에서는 거의 감소되지 않았다.

이상의 결과는 *Streptococcus mutans*의 인공치태 형성을 억제하는 chlorhexidine dihydrochloride와 불화나트륨 농도에서 *Streptococcus*의 여러 종의 감수성이 각각 다르다는 것을 시사하였다.

참고문헌

1. 박기철: 치아플랙(2). 치과연구, 43:23-30, 1998.
2. Gibbons RJ, van Houte J : Dental caries. Ann Rev Med, 26:121-136, 1975.
3. Loesche WJ : Chemotherapy of dental plaque infections. Oral Sci Rev, 9:65-107, 1976.
4. Hamada S, Slade HD : Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev,

44:331-384, 1980.
5. Tanzer JM : Contemporary oral microbiology and immunology. Microbiology of dental caries. Mosby St. Louis pp 377-424, 1992.
6. Lumikari M, Soukka T, Nurmio S, et al. : Inhibition of the growth of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and Lactobacillus casei by oral peroxidase system in human saliva. Arch Oral Biol, 36:155-160, 1991.
7. Van der Hoeven JS, Camp PJM : Mixed continuous cultures of *Streptococcus mutans* with *Streptococcus sanguis* or with *Streptococcus oralis* as a model to study the ecological effects of the lactoperoxidase system. Caries Res, 27:26-30, 1993.
8. Schaeken MJ, De Haan P : Effects of sustained-release chlorhexidine acetate on the human dental plaque flora. J Dent Res, 68:119-123, 1989.
9. Mikkelsen L, Jensen SB, Schiött CR, et al. : Classification and prevalences of plaque streptococci after two years oral use of chlorhexidine. J Periodont Res, 16:645-658, 1981.
10. Caufield PW, Gibbons RJ : Suppression of *Streptococcus mutans* in the mouths of humans by a dental prophylaxis and topically-applied iodine. J Dent Res, 58:1317-1326, 1979.
11. Maltz M, Zickert I : Effect of penicillin on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and lactobacilli in hamsters and in man. Scand J Dent Res, 90:193-199, 1982.
12. De Paola PF, Jordan HV, Berg J : Temporary suppression of *Streptococcus mutans* in humans through topical application of vancomycin. J Dent Res, 53:108-114, 1974.
13. Jordan HV, De Paola PF : Effect of a topically applied 3% vancomycin gel on *Streptococcus mutans* on different tooth surfaces. J Dent Res, 53:115-120, 1974.
14. Jordan HV, De Paola PF : Effect of prolonged topical application of vancomycin on human oral *Streptococcus mutans* populations. Arch Oral Biol, 22:193-197, 1977.
15. De Paola PF, Jordan HV, Soparkar PM : Inhibition of dental caries in school children by topically applied vancomycin. Arch Oral Biol, 22:187-191, 1977.
16. Loesche WJ, Bradbury DR, Woolfolk MP : Reduction of dental decay in rampant caries individuals following short-term kanamycin treatment. J Dent Res, 56:254-265, 1977.
17. Woods R : The short-term effect of topical fluoride applications on the concentration of *Streptococcus mutans* in dental plaque. Aust Dent J, 16:152-155, 1971.
18. McCabe RM, Keyes PH, Howell A Jr : An in vitro method for assessing the plaque forming ability of oral bacteria. Arch Oral Biol, 12:1653-1656, 1967.
19. McDougall WA : Studies on the dental plaque. I. The histology of the dental plaque and its attachment. Aust Dent J, 8:261-273, 1963.
20. Guggenheim B : Extracellular polysaccharides and microbial plaque. Int Dent J, 20:657-678, 1970.
21. Gibbons RJ, Banghart SS : Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human dental plaque. Arch Oral Biol, 12:11-24, 1967.
22. Thomson R, Johnson A : The inhibitory action of saliva on the diphtheria bacillus : hydrogen peroxide, the inhibitory agent produced by salivary *Streptococci*. J Infect Dis, 88:81-85, 1950.
23. Jan W, Jan L : Effect of hydrogen peroxide on developing plaque and gingivitis in man. J Clin Periodontol, 6:115-130, 1979.
24. Van der Hoeven JS, Schaeken MJ : *Streptococci* and Actinomyces inhibit regrowth of *Streptococcus mutans* on gnotobiotic rat molar teeth after chlorhexidine varnish treatment. Caries Res, 29:159-162, 1995.
25. Schaeken MJ, van der Hoeven JS, van den Kieboom CW : Effect of chlorhexidine varnish on *Streptococci* in dental plaque from occlusal fissures. Caries Res, 28:262-266, 1994.
26. Smith DJ, Anderson JM, King WF, et al. : Oral streptococcal colonization of infants. Oral Microbiol Immunol, 8:1-4, 1993.
27. Douglas CW, Heath J, Hampton KK, et al. : Identity of viridans *Streptococci* isolated from cases of infective endocarditis. J Med Microbiol, 39:179-82, 1993.
28. Narikawa S, Suzuki Y, Takahashi M, et al. : *Streptococcus oralis* previously identified as uncommon *Streptococcus sanguis* in Behcet's disease. Arch Oral Biol, 40:685-690, 1995 .
29. Beighton D, Carr AD, Oppenheim BA : Identification of viridans *Streptococci* associated with bacteremia in neutropenic cancer patient. J Med

Microbiol, 40:202-204, 1994.
30. 김선미, 양규호, 정성수 등 : *Streptococcus oralis*의 인공치태 억제효과에 대한 연구. 대한소아치과학회지, 26:77-87, 1999.
31. Carlsson J, Iwamu Y, Yamada T : Hydrogen peroxide excretion by oral *Streptococci* and effect of lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide. Infect Immun, 40:70-80, 1983.
32. Thomas EL, Milligan TW, Joyner RE, et al. : Antibacterial activity of hydrogen peroxide and the lactoperoxidase-hydrogen peroxide-thiocyanate system against oral *Streptococci*. Infect Immun, 62:529-535, 1994.
33. Kay HM, Wilson M : The in vitro effects of amine fluorides on plaque bacteria. J Periodontol, 59:266-269, 1988.
34. Bowden GH, Hamilton IR : Competition between *Streptococcus mutans* and Lactobacillus casei in mixed continuous culture. Oral Microbiol Immunol, 4:57-64, 1989.
35. Emilson CG : Effect of chlorhexidine gel treatment on *Streptococcus mutans* population in human saliva and dental plaque. Scand J Dent Res, 89:239-246, 1981.

Abstract

THE EFFECT OF CHLORHEXIDINE DIHYDROCHLORIDE AND SODIUM FLUORIDE ON *STREPTOCOCCUS*

In-Sung Kang, D.D.S., Kyu-Ho Yang, D.D.S., Ph.D., Nam-Ki Choi, D.D.S., Ph.D.,
Seon-Mi Kim, D.D.S., Ph.D.*, Jung-Suk Oh, M.S.D., Ph.D.**

Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University and Dental Research Institute,
*Department of Dental Hygiene, Gwang-ju Health College**
*Department of Microbiology, College of Medicine, Chonnam National University***

Chlorhexidine dihydrochloride and sodium fluoride have been used as agents inhibiting the replication of oral bacteria and the formation of dental plaque. There are various kinds of bacteria with different sensitivity against these agents. In this study, chlorhexidine dihydrochloride and sodium fluoride were studied about their effects on the replication of *Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, Streptococcus oralis* and *Streptococcus salivarius* at their concentrations inhibiting the formation of artificial plaque by *Streptococcus mutans.*

When *Streptococcus mutans* was cultured for 8 hours in the media added with 1.0μM chlorhexidine dihydrochloride, the weight of formed artificial plaque was decreased to 5.1±1.5mg compared with 106.1±18.1mg of the control($p<0.05$). At the same time, the optical density of cultured media was decreased. The optical density of cultured media was slightly decreased in *Streptococcus sobrinus*, but was not decreased in *Streptococcus oralis.* The optical density of *Streptococcus salivarius* was decreased at 8 hours-incubation, was not decreased at 24 hours-incubation. When *Streptococcus mutans* was cultured for 8 hours in the media added with 3.0 mM sodium fluoride, the weight of formed artificial plaque was decreased to 26.7±8.3 mg($p<0.05$). At the same time, the optical density of cultured media was decreased. The optical density of cultured media was decreased in *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus oralis*, but was slightly decreased in *Streptococcus salivarius.*

These results suggest that at the concentration of chlorhexidine dihydrochloride and sodium fluoridehe inhibiting the formation of artificial plaque by *Streptococcus mutans*, different species of genus *Streptococcus* show the different sensitivity against these agents.

Key words : *Streptococcus*, Chlorhexidine dihydrochloride, Sodium fluoride