

불소화합물이 *Streptococcus mutans* 의 증식에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

연세대학교 치과대학 소아치과학교실

인인숙 · 이종갑

I. 서론

불소화합물은 치아우식증을 예방하는 데에 가장 효율적으로 이용되고있는 치아우식예방제이다.

불소화합물이 치아우식증을 예방하는 기전은 오랜동안 연구되어 왔는데, 불소이온이 치질의 hydroxyapatite 와 결합하여 fluoroapatite 를 만들거나^{1,13,18)}, 표면치질의 탄산염과 치환되어 치아표면에 불화칼슘이나 불화마그네슘의 층양막이 형성되어^{1,13,19,29)}, 치질의 산에 의한 용해를 억제함으로써 치아우식증을 예방하는 것으로 보고되고있다.

Stookey 와 Mcdonald²⁶⁾, Mercer 와 Müller²²⁾ 등은 치아우식증의 예방에 대한 NaF 와 SnF₂ 의 효과를 보고하였고, Hatton et al¹²⁾ 도 법랑질의 산에 대한 용해도를 감소시키는 데에 미치는 NaF 와 SnF₂ 의 효과를 보고한 바 있다.

한편, 불소화합물이 치태내의 우식성세균의 성장이나 대사를 방해하였다는 보고가 있으나^{7,11,14)}, 그것이 치아우식증을 억제하는 효과를 나타내는 지에 대해서는 아직도 확실치 못한 점이 많이 있다고 사료된다.

불소가 구강내 산 생성균의 대사나 성장에 미치는 효과에 대한 연구로는 Bibby 와 Kestern²⁾, Capozzi¹⁾, Stookey 와 Mcdonald²⁶⁾, Yost 와 Demark²⁸⁾, Fitzgerald 와 Keyes¹⁰⁾ 등의

보고가 있다. 불소용액 양치법이나 불소의 국소도포에 의해서 일어나는 치태내의 항세균작용에 관해서는 Dawes⁷⁾, Jenkin¹⁴⁾, Gross¹¹⁾ 등의 보고가 있었으며 불소겔을 이용한 연구로는 Myer 와 Handelman²³⁾, Englander 와 Keyes⁹⁾ 등의 보고가 있다.

그러나 이들 제제에 따른 우식성세균에 대한 상대적인 억제효과는 잘 알려져 있지않다. 이에 저자는 여러 농도의 NaF 와 SnF₂ 가 *Streptococcus mutans* 의 증식에 미치는 효과를 관찰, 비교연구하여 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

가. 실험재료

*₁ NaF 와 SnF₂ 의 증식억제효과를 측정하기 위한 실험균으로 연세대학교 의과대학 미생물학교실에서 배양한 *Streptococcus mutans* (serotype C) 를 이용하였다.

배지는 멸균된 *₂ Brain Heart Infusion (BHI) broth 와 Brain Heart Infusion (BHI) agar plate 를 사용하였다.

* 1 Junsei Chemical Co. Ltd.

* 2 DIFCO. DETROIT. MI

나. 실험방법

선택된 세균을 BHI agar 에 24 시간 배양하여 얻은 균은 세정(wash)하고, 순도를 측정한다. 다음 2ml 시험관에 얼려서 모든 실험에 이용하였다.

불소를 첨가하지 않을 대조군과, NaF를 75, 150, 300, 600 ppm F 농도로, 그리고 SnF₂를 75, 150, 300, 600 ppm F 농도로 첨가할 9개의 35 ml BHI broth를 준비하여 여기에 각각 저장된 균을 0.1 ml 취하여 10배 희석한다. 다음 여기서 다시 0.1 ml를 채취하여 각 BHI broth에 접종하였다. 이를 48시간 37 °C에서 anaerobic culture를 하였으며, 48시간 배양중 12시간 후에 NaF와 SnF₂의 수용액을 BHI broth에 첨가하여 배지의 최종 농도가 75, 150, 300, 600 ppm F 농도가 되게 하였다.

48시간 배양하면서 0, 12, 16, 24, 48시간마다 각 BHI broth로부터 0.1 ml씩 취하여 10배 희석한 다음 0.1 ml를 BHI agar plate에 접종시켜서 이를 72시간, 37 °C에서 anaerobic culture를 하였다. 이때 형성된 세균집락의 수에 log₁₀을 취하여 시간에 따른 증식곡선을 그려 억제효과를 비교하였다.

12시간 표본추출후, 600 ppm F 농도로 NaF와 SnF₂를 첨가하고 1.0 N-HCl이나 1.0 N-NaOH로 배지의 pH가 각각 6.0과 7.5가 되게 한 다음 같은 방법으로 각 BHI broth로부터 16, 24, 48시간마다 0.1 ml 취하여 10배 희석한 다음 0.1 ml를 BHI agar plate에 접종하여 72시간, 37 °C에서 anaerobic culture를 하였다.

III. 실험성적

NaF의 여러농도 즉, 0, 75, 150, 300, 600 ppm F 농도가 *Streptococcus mutans*의 증식에 미치는 효과는 [그림 1]과 같았다. 실험균이 활성적으로 자라고 있는 배지에 75 ppm F 농도를 첨가했을 때에는 별 효과가 없었다. 150 ppm F를 첨가했을 때에는 증식속도가 다소 느려졌으며, 300과 600 ppm F를 첨가시에는 증식이 즉시 중단되었다.

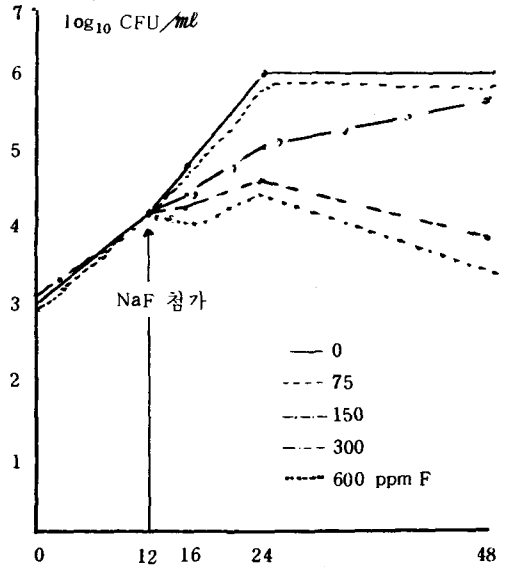


Fig. 1. Effect of NaF at concentrations of 0, 75, 150, 300 and 600 ppm F on the growth of *Streptococcus mutans*

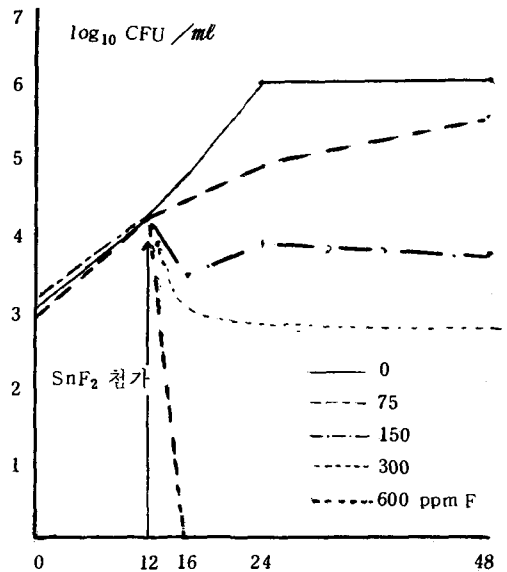


Fig. 2. Effect of SnF₂ at concentrations of 0, 75, 150, 300 and 600 ppm F on the growth of *Streptococcus mutans*

0, 75, 150, 300, 600 ppm F 농도의 SnF₂가 실험균의 증식에 미치는 효과는 [그림 2]와

IV. 총괄 및 고찰

불소가 치아우식증 예방을 위한 제제로 사용된 것은 1901년 Eager에 의해 소개되었으며 특히 온천지역에 거주하는 주민들의 우식이환율이 현저히 낮게 나타냄으로써 온천수에 함유된 불소화합물이 치아우식에 방효과를 갖고있음을 알게되었다.

치아우식증을 예방하기 위하여 불소화합물을 사용하는 방법은 상수도불소화법과 국소도포법등이 있는데, 치아우식증을 예방하는 기전은 불소화된 음료를 섭취할 경우 불소가 치질의 hydroxyapatite와 결합하여 fluoroapatite를 만들어 치질의 내산성을 높여주어서 나타나는 것이고^{1,13,18)}, 고농도의 불소용액을 치아표면에 도포할 때에는 불소이온이 표면치질의 탄산염과 치환되어 치아표면에 불화칼슘이나 불화마그네슘의 층양막이 형성되어^{1,19,29)}, 결과적으로 치질의 내산성이 증가되므로 치아우식에 방효과가 나타난다고 보고되고 있다.

불소의 골조직에서의 작용도 치아와 비슷하게 hydroxyapatite를 fluoroapatite로 만드나 많은 양의 불소는 조골작용을 자극하며 골경화증을 일으킨다고 보고되고 있다²¹⁾. 골다공증이나 Paget 씨병을 갖는 환자에서 NaF를 장기적으로 투여하면 calcium 보유가 촉진된다는 보고도 있다²¹⁾. 불소의 약리작용은 치아와 골조직에의 작용을 제외하고는 유독물질로 작용한다. 불소는 몇개의 효소계통의 억제자이고 조직 호흡과 혐기성 당 분해작용을 감소시키며, 또한 체외에서 유용한 항응고제이고 적혈구에서 당 분해작용 같은 생체 활동을 중단시킨다고 보고되고 있다²¹⁾.

치아우식증을 예방하는 기전으로서 불소화합물이 치태내의 세균의 성장이나 대사를 방해하는 효과를 나타내었다고 Jenkin¹⁴⁾, Englander⁹⁾, Myer²³⁾, Tinanoff¹¹⁾ 등이 보고한 바있으며 Shiota²⁵⁾, Jenkin¹⁴⁾, Andres et al²⁾은 불소의 항세균작용은 불소의 농도, pH, 노출시간과 연관되어 있다고 하였다. pH에 따른 항세균작용은 항균제가 양이온일 경우는 염기성 pH에서, 음이온일 경우는 산성 pH에서 더 활성적으로 나

같았다. 75 ppm F를 첨가시에는 실험균의 증식속도가 느려졌으며, 150 ppm F를 첨가했을 때에는 처음 4시간 동안에는 약간의 살균작용이 보이다가 다음 8시간 동안에는 약간의 증식이 보였다. 300 ppm F를 첨가했을 때에는 처음 4시간 동안에 급격한 살균작용이 보이다가 다음 8시간 동안은 거의 중지된 상태를 나타냈으며 600 ppm F를 첨가시에는 세균집락형성이 전혀 없었다.

12시간 표본추출후 600 ppm F의 SnF₂와 NaF를 첨가하고 배지의 pH를 각각 6.0과 7.5로 조절하여 실험균의 증식에 미치는 pH 변화의 효과는 [그림 3]과 같았다. pH 7.5에서 600 ppm F 농도의 NaF를 첨가시에는 *Streptococcus mutans*의 증식이 중단되었는데, pH 6.0에서는 서서히 살균작용이 나타났다. pH 6.0에서 600 ppm F 농도의 SnF₂를 첨가했을 때에는 세균집락이 전혀 형성되지 않은 반면, pH 7.5로 조절하였을 때에는 살균작용이 일어나기는 하였으나 완전히 살균되지는 아니하였다.

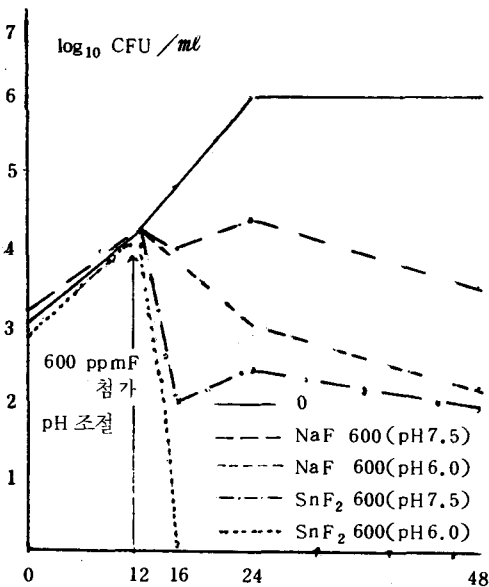


Fig.3. Effect of pH on the growth of *Streptococcus mutans* in the presence of 600 ppm F.

타난다는 보고도 있다.²⁷⁾

Brown et al⁵⁾과 Mayhew¹⁷⁾ 등은 NaF 150 ppm F 농도에서 *Streptococcus mutans*의 증식속도가 약간 감소를 하였고 300 과 600 ppm F 농도에서는 증식이 즉시 중단되었다고 보고하였는 바 본 실험에서도 300 과 600 ppm F 농도의 NaF에 의하여 *Streptococcus mutans*의 증식이 즉시 중단됨을 보였다.

Mayhew와 Brown¹⁷⁾은 SnF₂ 75 ppm F 농도에서 *Streptococcus mutans*가 약간의 증식억제를 보였고 150 과 300 ppm F 농도에서는 초기에 살균작용이 보이다가 다시 증식되었으며, 600 ppm F 농도에서는 거의 완전한 살균작용이 있었다고 보고하였는 바 본 실험의 결과도 이에 근접하나 억제율이 비교적 적게 나타난 것은 배지의 pH, 노출시간의 차이로 인한 것으로 사료된다.

일반적으로 세균의 발육 및 증식이 정지된 경우, 세균증식을 억제하는 성질을 가진 억제제를 제거하였을 때 증식이 다시 시작되면 정균(bacteriostatic)이라하고, 억제제를 제거하여도 증식하지 않았을 때 즉, 이상적 환경조건에서도 증식되지 않으면 세균이 죽었다고 여겨 살균(bactericidal)이라 한다²⁷⁾. 본 실험에서 SnF₂ 600 ppm F 농도가 들어있는 BHI broth로부터 채취된 균을 BHI agar plate에 접종시켜 배양시켰을 때 16, 24, 48 시간 표본에 모두 세균집락이 형성되지 않았으므로 살균이라 할 수 있다.

본 실험에서 NaF와 SnF₂가 *Streptococcus mutans*의 증식을 억제하는 효과를 비교해보면, SnF₂가 더 큰 억제작용을 하는 것으로 나타났는데 이 결과는 Mayhew와 Brown¹⁷⁾, Yost와 Demark²⁸⁾ 등의 결과와 일치하며, 또한 NaF와 SnF₂를 치아에 국소도포했을 때 NaF보다 SnF₂에서 우식억제효과가 더 크게 나타났다고 보고한 Stookey와 Mcdonald²⁵⁾, Mercer와 Mühler²²⁾의 생체실험 결과와도 일치했다.

Yost와 Demark²⁸⁾, Mayhew와 Brown¹⁷⁾ 등은 pH가 더 낮은 상태에서 불소가 *Streptococcus mutans*의 성장을 억제하는 데에 효과가 더 크게 나타났다고 보고한 바 있다.

본 실험에서 600 ppm F 농도의 SnF₂를 배지에 첨가했을 때 배지의 pH가 7.5에서 6.0으로 떨어진 반면, 600 ppm F 농도의 NaF를 첨가했을 때에는 배지의 pH에 아무런 변화가 없었다. 600 ppm F 농도의 SnF₂를 첨가했을 때 일어나는 배지의 pH의 감소가 NaF보다 SnF₂가 더 큰 증식억제효과를 나타내게 하는 데에 주 역할을 하는 지를 규명하기 위하여 600 ppm F 농도의 SnF₂나 NaF를 배지에 넣은 다음 1.0 N-HCl이나 1.0 N-NaOH를 첨가하여 각기 pH가 6.0과 7.5가 되도록 적정하였다.

pH변화에 따른 *Streptococcus mutans*의 증식억제효과를 보면 pH가 더 낮은 상태에서 증식억제효과가 크게 나타났으며, 같은 pH, 같은 농도에서도 SnF₂가 NaF보다 증식억제효과가 크게 나타난 것은 SnF₂의 tin(Sn⁺⁺) ion도 같이 상승작용을 한 것으로 사료된다.

이상과 같이 불소화합물이 *Streptococcus mutans*의 증식에 미치는 효과에 대한 연구보고가 있으나, 타액이나 치태내에서 *Streptococcus mutans*에 대한 불소화합물의 효과를 비교연구하는 생체연구가 임상적 의미를 추구하는 데 필요하다하겠다.

V. 결 론

여러 농도 즉 0, 75, 150, 300, 600 ppm F 농도의 NaF와 SnF₂가 우식성세균인 *Streptococcus mutans*의 증식에 미치는 효과를 비교하기 위하여 시행한 본 연구의 결과는 다음과 같다.

1. NaF에 의한 *Streptococcus mutans*의 증식억제효과는 75 ppm F 농도에서는 거의 없었고, 150 ppm F 농도에서는 증식속도가 느려졌으며, 300 과 600 ppm F 농도에서는 즉시 증식이 중단되었다.

2. SnF₂에 의한 증식억제효과는 75 ppm F 농도에서 증식속도가 느려졌으며, 150 과 300 ppm F 농도에서는 초기에 살균작용이 보이다가 중단되었고, 600 ppm F 농도에서는 거의 완전한 살균작용이 나타났다.

3. 같은 농도에서의 *Streptococcus mutans*의 증식억제효과는 SnF₂가 NaF보다 크게 나타났다.

4. 600 ppm F 농도에서 pH에 따른 증식억제효과는 pH가 더 낮은 상태에서 더 크게 나타났다.

참고문헌

1. Adler, P.; Fluoride and human health, WHO, Geneva, p. 201-215, 1970.
2. Anderes, G.J.; Schaeffer, J.C.; and Windler, A.S.; Comparison of antibacterial properties of stannous fluoride and sodium fluoride mouthwashes, J. Dent. Res., 53:457-460, 1974.
3. Bibby, B.G. and Van Kesteren M.; The effect of fluoride on mouth bacteria, J. Dent. Res. 19:391-402, 1940.
4. Bowen, W.H. and Marilyn J. Hewitt; Effect of Fluoride on extracellular polysaccharide production by *Streptococcus mutans*, J. Dent. Res., 53:627-629, 1974.
5. Brown, L.R.; Handler, S.F.; Horton, I.M.; Streckfuss, J.L. and Drezens; Effect of fluoride on the viability and growth of *Streptococcus mutans*, J. Dent. Res. 59:156-167, 1980.
6. Brudevold, F. and Little, M.F.; Chemical studies of the human enamel surface, J. Dent. Res., 30:477, 1951 (abstract).
7. Dawes, C.; Jenkin, G.N.; Hardwick, J.L.; and Leach, S.A.; The relation between the fluoride concentrations in the dental plaque and in drinking water, Br. Dent. J., 119:164-167, 1965.
8. Deyloff, J.L. and Sanders, C.C.; Inhibition of *Streptococcus mutans* by human plaque flora. J. Dent. Res., 59(11); 1953-1959, 1980.
9. Englander, H.R. and Keyes, P.H.; The prevention of dental caries in the syrian hamster

- after repeated topical application of sodium fluoride gel, J.A.D.A., 73:1342-1347, 1966.
10. Fitzgerald, F.J. and Keyes, P.H.; Demonstration of the etiologic role of *Streptococci* in the experimental caries in the hamster, J.A.D.A., 61:9-19, 1960.
11. Gross, A. and Tinanoff, N.; Effect of SnF₂ mouth rinse on initial bacterial colonization of tooth enamel, J. Dent. Res., 56:1179-1183, 1976.
12. Hatton, W.E.; Nebergall, W.H.; and Mühler, J.C.; The removal of fluorine from dilute solution of sodium fluoride and stannous fluoride by powdered dental enamel, J. Dent. Res., 34:350-357, 1955.
13. Jenkins, G.N.; Theories on the mode of action of fluoride in reducing dental decay, J. Dent. Res., 42:444-452, 1963.
14. Jenkin, G.N.; Edgar, W.M.; and Ferguson, D.B.; The distribution and metabolic effects of human plaque fluorine, Arch. Oral. Bio., 14:105-119, 1969.
15. John A. Gray; Acid dissolution rate of sound and whitespot enamel treated with tin (II) and fluoride compounds, J. Dent. Res., May-June: 493-501, 1965.
16. Juan M. Navia and Jerry R. McGhee; control and prevention of plaque-dependent disease with emphasis on immunity and dental caries, p. 765-785, Dental Microbiology, 1982.
17. Mayhew and Brown; Comparative effect of SnF₂, NaF, and SnCl₂ on the growth of *Streptococcus mutans*, J. Dent. Res., 60(10); 1809-1814, October 1981.
18. McCann, H.G. and Bullock, F.A.; The effect of fluoride ingestion on the composition and solubility of mineralized tissue of the rat, J. Dent. Res., 36:391, 1957.
19. McCann, H.G. and Bullock, F.A.; Reaction of fluoride ion with powdered enamel and dentin, J. Dent. Res., 34:59, 1955.

20. Meneker, L. and McGhee J.R.; Dental caries, p. 691-713, Dental microbiology, 1982.
21. Meyers, F.H.; Jawetz, E.; Goldfien, A.; Review of medical pharmacology, 5th edition, LANGE, 1976, p. 449-451.
22. Mercer, V.H. and Mühler, J.C.; Comparison of single topical application of sodium fluoride and stannous fluoride, J. Dent. Res., 51:1325-1330, 1972.
23. Myers, M. and Handelman, S.L.; Effect of daily application of fluoride in a custom-fitted mouthpiece on plaque flora associated with dental decay, J. Dent. Res., 50:597-599, 1971.
24. Robert, M.H. and Rahn, O.; Antisepsis and ionization of sodium fluoride, J. Appl. Bacteriol., 52:612-613, 1946.
25. Shiota, T.; Effect of sodium fluoride on oral *Lactobacilli* isolated from the rat, J. Dent. Res., 35:939-946, 1956.
26. Stookey, G.K. and McDonald, J.L.; Further studies of the cariostatic properties of tin (II) and oat hulls in the rat, J. Dent. Res., 53:1398-1403, 1974.
27. William A. Nolte; Oral microbiology, 2nd edition, Mosby, p. 363-365, 1973.
28. Yost and Van demark P.J.; Growth inhibition of *Streptococcus mutans* and *Leuconostoc mesenteroids* by sodium fluoride and ionic tin, Appl. Environ. Microbiol., 35:920-924, 1978.
29. 김주환, 김종배, 김종열, 최유진; 구강보건학, 교문사, 1979.

— ABSTRACT —

AN EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECT OF FLUORIDE
COMPOUNDS ON THE GROWTH OF *STREPTOCOCCUS MUTANS*

In -Sook In, Jong -Gap Lee

Dept. of Pedodontics, College of Dentistry, Yonsei University

The purpose of this study was to compare the growth-inhibiting effect of sodium fluoride and stannous fluoride on a cariogenic strain of *Streptococcus mutans* exposed to the different concentration of SnF₂ and NaF.

The result were as follows:

1. The growth rate of the *Streptococcus mutans* was unaffected by 75 ppmF, slowed by 150 ppmF, and immediately arrested by 300 or 600 ppmF where increments of NaF were added to actively growing 12-hour broth culture.
2. SnF₂ slowed the growth rate at 75 ppmF, was to bactericidal initially at 150 and 300 ppmF, and was to totally bactericidal at 600 ppmF.
3. SnF₂ has been shown to be more effective than NaF in inhibiting the growth activity of *Streptococcus mutans*.
4. The inhibitory effect of fluoride compounds on the growth of *Streptococcus mutans* was increased in the decreased pH at concentration of 600 ppmF.