

A Pilot Study of Relationship Between Early Childhood Caries Experience and Chair-side Test Results for Caries-Risk Assessment

Seon-Jae Heo, Teo-Jeon Shin, Hong-Keun Hyun, Jung-Wook Kim, Ki-Taeg Jang, Sang-Hoon Lee, Young-Jae Kim

Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Seoul National University

Abstract

This study aimed to compare chair-side test results for caries risk assessment and evaluate how well the tests reflect caries experience. The study was conducted on children aged < 6 years in primary dentition. Dental examination of children was conducted to determine the dmft index and subjects were divided into two groups : group I (dmft < 6), group II (dmft > 6). This study used four kinds of test kits (Plaque-check PH kit, Saliva-check buffer kit, Saliva-check mutans kit, Cytoperio analysis system).

Saliva buffer capacity was significantly low in the high caries experience group (dmft > 6) and correlated with dmft index. Saliva pH level correlated significantly with saliva buffer capacity. The results showed that plaque pH and saliva pH levels had no correlation with dmft index. The *Streptococcus mutans* level measured by using the Saliva-check mutans and Cytoperio analysis system did not correlate with dmft index.

Key words : Saliva buffer capacity, *Streptococcus mutans*, Plaque pH, Saliva pH

I. 서 론

유아기 우식증(Early childhood caries)이란 72개월 이하의 소아에게서 유치에 하나 이상의 우식, 치료, 발치된 치아가 있는 것을 의미한다[1]. 2014년 연구에 따르면 소아치과를 내원하는 아동의 63.14%가 학령전기 아동이며, 47.3%는 치아우식을 주소로 내원하고 있어 치아우식은 소아 환자들이 치과를 내원하는 주된 이유가 된다고 볼 수 있다[2]. 우리나라의 유치우식유병률은 2010년 37.6%, 2012년 35.4%, 2015년 31.9%로 우리나라 유치연기 아동에서 우식유병률은 지속적으로 감소하는 추세이다[3]. 2008년 손 등[4]이 소아 진료 현황을 분석한 연구에서 2001년에는 예방치료의 비율이 6.84%인 반면에, 2008년에는 예방치

료가 행해진 비율이 15.40%로 2배 이상 증가하였다고 보고하였다. 이러한 변화들은 구강위생관리와 예방치료에 대한 사람들의 인식의 변화를 반영한다고 볼 수 있다.

치아우식은 시간, 불소, 타액, 생활습관, 사회경제적 요인 등이 복합적으로 관여하는 만성 감염성 질환으로 초기에 적절한 예방 전략이 시행된다면 우식의 진행은 멈출 수 있다[5]. 적절한 예방 전략이 수립되기 위해서는 개인의 우식 위험요소를 평가하고 우식위험도를 결정하는 것이 선행되어야 하며, 우식위험평가가 유효하기 위해서는 생물학적 소인을 포함한 위험요소, 예방요소, 임상적 검진 요소들이 포함되어야 한다[6]. 임상적 검사는 치과 의사에 의해 이루어지는 평가 과정으로 치아 법랑질의 탈회작용에 의한 초기손상, 우식치아, 치태, 부족한 타액 분비 등에 관한

Corresponding author : Young-Jae Kim

Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Seoul National University, 101 Daehak-ro, Chongno-gu, Seoul, 03080, Republic of Korea

Tel: +82-2-2072-3080 / Fax: +82-2-744-3599 / E-mail: neokarma@snu.ac.kr

Received October 6, 2016 / Revised November 25, 2016 / Accepted November 22, 2016

정보가 포함된다. 치아의 우식병소는 소아에서 우식발생 가능성을 높여주는 유의한 변수로 방사선 검사, 광학적 우식활성 검사법과 같은 다양한 진단 도구들의 발달은 우식의 초기 발견을 용이하게 한다. 하지만 이는 질병이 진행된 이후에 유효하게 이용될 수 있다는 점에서 고위험군 아동의 치아우식 예방을 위해서 이용되기에는 단점이 있다. 따라서 치아우식을 유발하는 생물학적인 요인을 반영하여 우식 발생과의 관계를 설정함으로써 우식 위험에 대한 보다 정확한 예측을 위한 노력이 필요하다. 최근에는 타액의 특성(산성도, 타액의 완충능력)뿐만 아니라 세균배양 과정 없이 타액 내의 *S. mutans*를 빠른 시간 내에 확인할 수 있는 방법들이 개발되어 있어 임상가가 우식위험을 결정하고 진료에 적용하는데 많은 도움을 주고 있다.

본 연구는 6세 이하 소아에서 우식경험과 상관관계를 가지는 임상적 지표가 무엇인지 확인하고, 임상에서 사용되고 있는 진단도구들이 소아에서 우식위험도를 평가하는 방법으로 유용하게 이용될 수 있는지에 대해 알아보고자 하였다.

II. 연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

본 연구는 2015년 11월부터 2016년 3월까지 서울대학교 치과병원 소아치과를 내원한 0 - 6세 소아 환자 중에서 보호자가 연구 참여에 동의하였고, 실험을 이행할 수 있는 환아를 대상으로 시행하였다. 연구 대상자는 전신 질환이 없었고, 최근 1개월 내 항생제 복용 경험이 없었으며, 검사 1시간 내 칫솔질을 시행하지 않은 환아를 대상으로 하였다. 연구 대상자는 Li와 Wang[7]의 연구에 근거하여 dmft에 따라 두 군(I군 : dmft < 6, II군 : dmft > 6)으로 나누었다.

본 연구는 서울대학교 치과병원 연구윤리위원회의 승인 하에 진행되었다(IRB No: CRI15020).

2. 연구 방법

1) 치태 내 산성도 검사

Plaque-check PH kit (GC, Tokyo, Japan)를 이용하여 제조사 지시사항에 따라 치태 내 산성도를 측정하였다. 탐침으로 하악 제1, 2유구치 설면의 치태를 채취한 후, plaque-check + pH solution에 1초간 담가 5분 후 색 변화를 통해 치태 내 산성도를 판단하였다. 치태가 붉은색으로 변화하는 경우를 높은 산성(\leq pH 5.5), 치태가 노란색으로 변화하는 경우를 중등도의 산성(\approx pH 6.0 - 6.5), 치태가 녹색을 띠는 경우를 중성(\geq pH 7)으로 분

류하였다.

2) 타액의 산성도 검사

pH 검사지(Advantec, Tokyo, Japan)를 하악 설측 전정부위 적용하여 타액을 적셨고, 검사지 색 변화를 지표와 비교하여 타액의 pH를 측정하였다. 검사지가 붉은색으로 변화하는 경우를 높은 산성(pH 5.0 - 5.8), 노란색으로 변화하는 경우를 중등도의 산성(pH 6.0 - 6.6), 녹색으로 변화하는 경우를 중성(pH 6.8 - 7.8)으로 분류하였다.

3) 타액의 완충능력 검사

5분간 파라핀 껌을 저작한 후, 분비된 타액을 채취하였다. 타액을 Saliva-check™ buffer kit (GC, Tokyo, Japan) 내 검사지 세 부분에 떨어뜨려 2분 후 시험지의 색을 확인하였다. 검사지의 색 변화를 확인하여 적색은 0점, 청색은 2점, 녹색은 4점을 부여했다. 세 부분의 점수의 합계 점수가 12 - 10점이면 타액완충능력이 우수한 것으로 보았고, 9 - 6점은 타액완충능력 부족, 5 - 0점은 타액완충능력이 매우 낮은 것으로 보았다.

4) Saliva-check mutans를 이용한 *S. mutans* 수 측정

파라핀 껌을 1분간 씹도록 한 뒤, 타액을 용기에 모았다. 타액은 단일클론항체를 이용하는 Saliva-check mutans kit (GC, Tokyo, Japan)를 제조사 지시사항에 따라 다음과 같은 과정으로 처리하였다. 타액을 용기에 모은 후, Tris-NaOH 용액을 1방울 첨가한 뒤, 약 10초간 15회 정도 용기를 쳐서 타액의 점도가 낮아지도록 하였다. 다음으로 용기에 Tris-citrate 용액 4방울을 첨가하였고, 수 초간 흔들어 타액 샘플이 녹색으로 변하면 타액을 스포이드로 채취하여 검사 키트에 적하하였다. 실온에서 15분간 지난 뒤 테스트 창에 선이 표시되는 것을 확인했다. 테스트 창(T측)에 선이 표시되는 경우는 양성(1 mL 당 *S. mutans* 레벨이 5×10^5 CFU/mL 이상)으로 판단하였다.

5) Cytoperio analysis system을 이용한 *S. mutans* 수 측정

치실과 면봉을 이용하여 모든 치아의 치면에 부착되어 있는 치태를 채취하고, 애니가글(LCC, Chungbuk, Korea)을 이용해 20초간 가글을 시행하도록 한 후, 시험관에 모았다. 용액은 Cytoperio analysis system (Cytogen, Seoul, Korea)을 통해 real-time PCR을 시행하였으며, 분석 과정은 다음과 같았다.

*S. mutans*는 한국생명공학연구원 미생물자원센터(KCTC, Korea)에서 분양받은 KCTC3065 균주를 이용하였다. Exgene Clinic SV mini Kit (GeneAll, Seoul, Korea)를 이용해 가글 용액에서 DNA를 추출하였고 미생물 검출을 위해서는 *gtfB* 유전자로

부터 primer (5'-CTGGAGCAAGCACATTCGT-3')를 제작하여 약 200 bp 내외의 DNA 단편을 증폭하였다. Real-time PCR 반응 용액은 추출한 총 DNA 2 uL를 primer 10 pmol, probe와 완충용액, 2x NEXpro™ qPCR master mix (Geneslabs, Seongnam, Korea)와 혼합하여 총 20 μL가 되도록 했다. 정량 분석은 ABI 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Seoul, Korea)을 이용하여 시행하였는데, 이 때 사용한 조건은 최초 변성을 위해 95°C에서 10분간, 이후 45번의 cycle은 95°C에서 15초, 55°C에서 15초, 72°C에서 30초간 시행하였다.

6) 통계 분석

측정된 dmft와 검사 자료는 SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용해 통계분석 시행하였다. 치태 pH, 타액 pH, 타액의 완충능력이 두 군에서 유의한 차이를 가지는지 여부는 Mann-Whitney U test를 이용해 분석하였다. dmft와 각 변수들의 상관관계와 타액 pH와 타액의 완충능력 간의 상관관계는 Spearman's rank correlation analysis를 이용하여 분석하였다. dmft와 Saliva-check mutans kit를 이용한 타액 내 *S. mutans* 양 사이의 상관관계를 알아보기 위해 교차분석을 시행하였고, dmft와 real-time PCR을 이용한 *S. mutans*의 DNA copy 수 사이의 관계는 linear regression analysis를 이용하였다.

Ⅲ. 연구 성적

32명의(I 군: 15명, II군: 17명)의 환아가 연구에 참여하였으며, 대상자의 평균 연령은 4.8세로 남아는 21명, 여아는 11명이었다. dmft 평균은 각 군에서 2.7(± 2.4), 10.2(± 1.8)로 II군에서 dmft 평균이 약 4배 높게 나타났다.

대부분의 환자(I 군: 11명(73.3%), II군: 13명(76.5%))에서 치태의 pH는 6.0 - 6.5였다. 타액의 pH는 I군에서는 과반수의 환자(10명(66.7%))가 중성의 타액 pH를 가진 반면에 II군에서는 약 절반의 환아가(9명(52.9%))가 중등도 산성을 보였다. 그러나 치태의 pH와 타액의 pH는 두 군 사이에 유의한 차이가 관찰되지 않았으며, 상관분석 결과 유치에서 우식경험지수와 유의한 상관관계를 보이지 않았다. 타액의 완충능력은 I군에서는 11명(73.3%)이 정상 완충능력을 보였고, II군에서는 10명(58.9%)이 낮은 타액의 완충능력을 보이는 것으로 나타나 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p = 0.04$). 또한 상관분석 결과, 우식경험지수와 타액의 완충능력 사이에 유의한 상관관계를 보이는 것으로 나타났다($p = 0.021, r = 0.407$). 그리고 하악 유절치에 우식 병소를 가진 3명의 환아는 모두 매우 낮은 타액 완충능력을 가지는 것으로 나타났다(Table 1). 타액의 pH와 타액의 완충능력은 유의한 상관관계를 보였으며, 타액의 pH가 낮을수록 타액의 완충능력은 감소하는 것으로 분석되었다($p < 0.0001, r = 0.651$) (Table 2).

Table 1. Distribution of subjects and comparison between the groups for plaque pH, saliva pH, and saliva buffer capacity

		Group I N (%)	Group II N (%)	<i>p</i> value†	<i>r</i>	<i>p</i> value‡
Plaque pH (pH scale)	Highly acidic (≤ pH 5.5)	1 (6.7%)	3 (17.6%)	0.295	0.250	0.167
	Moderate acidic (≅ pH 6.0 - 6.5)	11 (73.3%)	13 (76.5%)			
	Neutral (≥ pH 7)	3 (20.0%)	1 (5.9%)			
Saliva pH (pH scale)	Highly acidic (pH 5.0 - 5.8)	0 (0.0%)	2 (11.8%)	0.089	0.343	0.055
	Moderate acidic (pH 6.0 - 6.6)	5 (33.3%)	9 (52.9%)			
	Neutral (pH 6.8 - 7.8)	10 (66.7%)	6 (35.2%)			
Saliva buffer capacity	Very low	1 (6.7%)	2 (11.8%)	0.040*	0.407	0.021*
	Low	3 (20.0%)	10 (58.9%)			
	Normal	11 (73.3%)	5 (29.4%)			

† Mann-Whitney U test (* : $p < 0.05$), ‡ Spearman correlation test (* : $p < 0.05$).
Spearman correlation coefficient (*r*).
N = sample size.

Table 2. Correlation between saliva pH and saliva buffer capacity

	p value	r
Saliva pH X Saliva Buffer Capacity	< 0.0001***	0.651

Spearman correlation test (***) : $p < 0.0001$.
Spearman correlation coefficient (r).

Table 3. Correlation between *S. mutans* level detected by using monoclonal antibody and two groups

	Group I N (%)	Group II N (%)	p value
Saliva-check mutans			
Negative	4 (26.7%)	4 (23.5%)	0.838
Positive	11 (73.3%)	13 (76.5%)	

Cross tabulation analysis.
Positive = *S. mutans* colony density $\geq 5 \times 10^5$ CFU/mL, Negative = *S. mutans* colony density $< 5 \times 10^5$ CFU/mL, N = sample size.

Saliva-check mutans kit를 이용한 실험에서 *S. mutans*는 두 군 모두 대부분의 환자(75.0%)는 5×10^5 CFU/mL 이상의 세균을 가지는 양성으로 나타났으며, 두 군 사이에 유의한 차이는 관찰되지 않았다($p = 0.838$)(Table 3). Cytoperio analysis system을 이용해 real-time PCR을 시행한 결과에서 대부분의 환자(75.0%)는 *S. mutans*가 검출되지 않았고, dmft에 따른 *S. mutans* 수준의 유의한 차이는 나타나지 않았다($p = 0.98, r = 0.298$)(Fig. 1).

IV. 총괄 및 고찰

유치열기와 초기 영구치열기 치아우식 사이의 상관관계는 이미 잘 밝혀져 있으며, 유치열기에 치아우식을 가진 아동은 영구치열기에서도 치아우식을 경험할 확률이 높은 것으로 알려져 있다[8]. 따라서 소아의 우식치료는 우식 병소의 수복을 넘어 예방과 우식 위험요소들을 제한하는 장기적인 관점에서 접근해야 한다.

치과의사가 진료실에서 우식위험도를 평가하는 방법으로 타액 분비율 검사, 타액 점도도 평가, 우식 세균 분석, 구강위생지수(oral hygiene index) 평가 등 다양한 방법이 이용되고 있다. 현재 간편하게 짧은 시간에 검사할 수 있는 진단법들이 개발되고 임상에서 사용되고 있으며, 이와 같은 도구들이 우식위험도

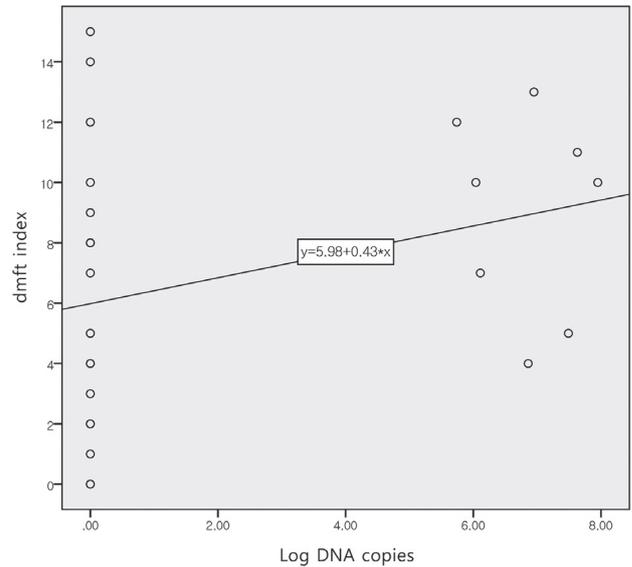


Fig. 1. Association of caries status (dmft index) and quantitative levels of *S. mutans* by real-time PCR. The quantitative levels are expressed as log DNA copies per 10 mL of gargled solution ($p = 0.98, r = 0.298$).

와 높은 상관관계를 가진다면 소아에서 효과적인 예방 전략을 수립하는데 유용하게 사용될 수 있을 것이다.

치아 법랑질의 무기질 용해도는 치아표면과 접한 치태의 산성도와 관계가 있으며, 산성도가 높은 치태는 법랑질의 무기 이온을 용해시켜 우식을 진행시키는 것으로 알려져 있다[5]. Stephan curve에 따르면, 발효성 탄수화물을 섭취하고 10분 이내에 구강 내 pH는 5.5이하로 급격하게 떨어진 후, 시간이 지남에 따라 기존의 pH로 회복되게 되는데, 치아 경조직에서 무기질이 유리되는 탈회 는 pH 5.5에서 시작될 수 있다[5,9]. Plaque-check pH를 이용한 검사에서 염색된 치태가 녹색으로 변화하는 것은 pH 7.2 정도를 의미하는 것으로 치태의 낮은 발효 능력과 과당에 의해 치태의 산성도가 크게 영향을 받지 않는 것을 의미한다. 반면 빨간색으로의 변화는 pH 5.0 - 5.8를 의미하는 것으로 산성도가 높은 치태가 지속적으로 치아에 잔존하게 되면 치아 표면의 탈회를 야기할 수 있기 때문에 이는 물리적으로 제거되어야 한다. 치면에 부착된 치태의 산성도와 우식활성도 사이의 연관성을 분석한 연구들에서, Fejerskov 등[10]은 당분을 섭취 후 치태의 pH와 우식활성도 사이에 상관관계가 없다고 밝혔으며, Sansone 등[11]도 치태의 pH 감소 정도는 우식 활성군, 비활성군 간에 큰 차이가 없다고 하였다. 반면에, Houte 등[12]은 *in vitro* 연구에서 치태 내 당의 발효 능력과 우식 사이에는 유의한 상관관계가 있

다고 하였다. 즉, 치태의 산성도와 치아우식 사이의 관계를 증명하기 위해 여러 연구들이 이루어졌지만 일관된 결과가 확인되지는 않았다. 그 이유로 치태가 우식 활성 부위로부터 얻어진 것이 아닐 가능성이 있고, 치태의 우식 유발 능력이 단순히 당의 발효 능력뿐 아니라 무기 이온 농도와 같은 다른 요인들이 복합적으로 연관되어 야기된 결과일 수 있으며, pH 감소와 같은 단독 변수 자체가 치태의 우식 유발 능력을 적절하게 반영하지 못하고 있을 가능성을 들 수 있다[8]. 본 연구에서는 두 군에서 대부분의 환아가 pH 6.0 - 6.6 범위의 치태를 가지고 있는 것으로 나타나 두 군간 유의한 차이를 보이지 않았다. 치태를 채취한 부위는 하악 유구치 설면으로 이 부위는 상대적으로 양치가 잘 되지 않아 잔존 치태를 채취하기 용이한 부위이다. 하지만 하악 설면은 타액의 영향으로 우식이 잘 발생하지 않고, 타액에 의한 완충작용이 일어나기 용이한 부분으로 활성 병소와의 상관관계를 보여주기엔 한계가 있는 것으로 생각된다.

연구 결과 두 군간 유의한 차이를 보인 요소는 타액의 완충능력인 것으로 나타났다. 일반적으로 인간의 타액은 pH 6 - 7로 다소 약한 산성을 띠고 있으며[13], Anderson 등[14]은 소아에서 비자극 타액의 pH는 6.0 - 6.4의 범위로 성인과 비교해 자극, 비자극 타액의 pH가 더 높다고 보고하였다.

2015년 Singh 등[15]이 4 - 8세의 소아를 대상으로 타액의 산성도와 완충능력을 측정하고 연구 결과에 따르면, 치아우식이 없는 군에서는 평균 pH가 7.20, 우식 활성군에서는 pH 6.07로 나왔고, 타액의 완충능력은 우식 비활성군에서는 10.92, 우식 활성군에서는 7.46으로 나타나 우식활성도에 따라 타액의 산성도와 완충능력이 유의한 차이를 보임을 밝혔고, Prabhakar 등[16]은 활성 우식 병소를 가진 군에서 측정된 타액의 pH 범위는 6.20 - 7.90로 타액의 산성도는 치아의 무기질 탈회를 유발시킬 정도로 높지 않다고 하였다. 아울러 타액의 pH와 완충능력이 우식활성도와 큰 상관관계를 가지지는 않으며, 세균 총(micro flora), 식이, 잔류된 음식물 등이 우식 위험에 더 크게 관여한다고 보았다.

타액의 완충능력은 타액 내의 중탄산염, 인산염, 요소, 단백질, 효소 등에 의해 영향을 받는데, 중탄산염이 완충능력에 가장 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 중탄산염은 치태 내로 확산되어 산을 중화시키는 기능을 가지며, 특히 이러한 타액의 완충능력은 타액 분비량이 많은 자극성 타액에서 더욱 효율적으로 작용한다[13].

본 연구에서는 타액의 완충능력이 두 군에서 유의한 차이를 가지지는 것으로 나타나 높은 치아우식 위험도를 가지는 환자에서 타액의 완충능력에 대한 고려가 필요한 것 생각된다. 특히, 하악 유전치부에 우식 병소를 가지고 있는 것으로 관찰된 3명의 대상에서는 모두 타액의 완충능력이 매우 낮은 것으로 나타났

다. 따라서 타액의 완충능력은 매우 높은 우식위험도를 가진 환자를 감별하는데 유용하게 이용될 수 있는 지표라고 할 수 있다. 또한, 두 군에서 타액 pH의 유의한 차이는 관찰되지 않았지만 타액 pH와 타액의 완충능력이 서로 유의한 상관관계를 가지고 있으므로 타액의 pH도 우식 위험에 영향을 미칠 수 있는 기여요인으로 보아야 할 것이다.

Mutans streptococci는 인간에서 치아우식의 발생에 관여하는 주된 세균으로 우식이 없는 사람에 비해 우식이 존재하는 집단에서 mutans streptococci의 발현 빈도와 양이 더 증가하는 것으로 알려져 있다[17]. 그 중에서 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)는 인간에서 치아우식의 개시에 관여하여 치아우식의 발생에 필수적인 세균으로 알려져 있다. 따라서 *S. mutans*의 양은 우식위험도를 평가하는 미생물적 요인으로 의미를 가지며, *S. mutans* 양을 측정하기 위해 다양한 측정 도구들이 개발되어 상용화되고 있다[13].

세균의 정량적 분석을 위한 방법으로는 세균배양법, 단일클론항체를 이용하는 방법, PCR 방법 등이 있다. 기존에 이용되던 세균배양법은 결과를 확인하는데 시간이 소요되고 배양기를 구비해야 하는 번거로움이 있었다. 연구에 이용된 Saliva-check mutans는 단일클론항체를 이용해 타액 내 *S. mutans* 양을 정량하는 방법으로 간단하고, 짧은 시간에 *S. mutans* 양의 평가가 가능하다는 점에서 임상에서 유용하게 사용될 수 있다. 이 진단 도구는 5×10^5 CFU/mL 이상의 세균 수준에서 양성의 반응을 나타내는 것으로 알려져 있으며, 세균배양법을 통한 *S. mutans* 수 측정과 비교 시, 단일클론항체를 이용한 경우에서 민감도는 다소 낮은 반면에 특이도는 높은 것으로 나타났다[18]. 그러나 Gao 등[19]이 real-time PCR을 기준으로 비교한 연구에서는 세균배양법인 Dentocult-SM (Orion Diagnostica, Espoo, Finland)에 비해서 Saliva-check mutans의 민감도와 특이도가 97.6%, 90.6%로 더 높다고 하였다. 2015년, 이 등[20]이 단일클론항체를 이용하여 *S. mutans*의 정량적 분석을 시행한 연구에서 PCR 방법이 세균배양법에 비해 *S. mutans*에 대한 검출 능력이 더 뛰어나며, 단일클론항체를 검출 능력은 세균배양법과 PCR 방법에 비해 뛰어난 것으로 나타났다.

Real-time PCR을 이용한 세균의 분석은 전통적인 배양 방식에 비해 빠르고 높은 민감도와 특이도로 여러 세균의 정량화에 유용하게 사용되고 있다[21,22]. Real-time PCR은 임상가에 의해 치실이나 거즈, 면봉 등을 이용해 채취한 치태를 이용할 수 있어 환자로 부터 타액을 별도로 해야 하는 Saliva-check mutans에 비해 협조가 제한적인 어린 연령의 환아들에게 유용하게 사용될 수 있다. 본 연구에서도 실험에 참여한 환아들의 연령이 어려 글을 수행하는 과정에서 어려움이 예상되어 검사자에 의한 치태

수집 과정이 병행되었다. 그러나 DNA를 분리하는 기술적인 어려움, 비용적인 측면으로 인해 real-time PCR을 이용한 세균 검출 방법이 실제 임상에서 이용되는데 여전히 어려움은 남아있다 [23].

Saliva-check mutans, Cytoperio system을 이용하여 세균 수를 측정하고 dmft와 상관관계를 알아본 결과, 두 방법 모두 우식 경험지수와 유의한 상관관계를 보이지는 않는 것으로 관찰되었다. 따라서 *S. mutans* 수준이 유치열기 치아우식 고위험군을 감별하는데 단독으로 이용되기에는 한계가 있을 것으로 판단된다. 앞선 선행연구들에서 검사방법에 따른 세균의 검출 능력에 대한 연구자간 이견이 존재하여 현재까지도 *S. mutans*를 검출하는데 기준이 되는 진단법을 제시하기에는 여전히 한계가 있다. 이는 진단법 자체의 검출 능력 외에도 샘플을 채취하는 검사자 및 환자(구강위생상태, 협조도)의 요소에 의한 영향을 완전히 배제하기 어려움을 시사하고 있다.

본 연구에서 Saliva-check mutans를 이용한 결과, 두 군 모두에서 *S. mutans*에 대한 높은 검출 능력이 관찰되어 Saliva-check mutans가 소아에서 *S. mutans*를 측정하는데 비교적 높은 민감도를 보이는 진단방법이라고 볼 수 있다. Saliva-check mutans는 지시창에 발현되는 선의 유무에 따라 양성, 음성을 판단하도록 고안되어 있어 수치화된 결과를 확인하기는 어렵고 결과의 판단하는 과정에서 검사자간 이견이 존재할 수 있다. 그러나 본 진단 방법이 가지는 *S. mutans*에 대한 높은 민감도를 통해 환아와 보호자에게 세균의 수준을 확인시켜줌으로써 교육적인 효과를 얻고, 임상가가 예방 전략을 수립하는데 유용하게 사용될 수 있을 것으로 보인다.

Real-time PCR은 대부분 환아에서 음성의 결과값을 보였고, 이는 Cytoperio analysis system을 이용한 real-time PCR 검사법이 *S. mutans*에 대한 검출능력이 떨어짐을 의미한다. *S. mutans*는 그람 양성균으로 세포막이 두꺼운 peptidoglycan 층으로 이루어져 있어 높은 물리적 강도와 세포 내압에 대한 저항력을 보이는 것으로 알려져 있다. 그람 양성균의 세포막을 분해하고 DNA를 추출하기 위해서는 물리적인 세포 용해 과정 또는 lysozyme이나 mutanolysin과 같은 효소를 이용한 세포 용해 과정이 필요하다[24]. Cytoperio analysis system은 proteinase K을 포함하는 Exgene Clinic SV mini Kit를 이용해 DNA를 추출한다. Proteinase K는 세포막을 파괴하는 효소로, 그람 음성균에서는 효율적으로 작용하나 그람 양성균의 세포막을 파괴하는데는 효과적이지 않은 것으로 알려져 있다[25]. 따라서 *S. mutans*에 대한 Cytoperio analysis system의 낮은 민감도는 비효율적인 세포막 파괴에 기인하는 것으로 보여지며, Cytoperio analysis system이 real-time PCR을 통해 세균을 정량분석하는 진단법으로 임상

서 유용하게 사용되기 위해서는 검출능력에 대한 보완이 선행되어야 할 것이다.

본 연구는 대상 환아의 수가 적어 결과를 일반화하기에 한계가 있고, 단순히 dmft를 기준으로 두 군을 나누어 우식위험도를 평가하는 것에 대한 의문이 여전히 존재한다. 우식위험이란 일반적으로 개인에서 새로운 우식이 발생할 위험을 의미하는 것으로 현재의 상태를 평가하여 미래의 우식발생 위험에 대한 판단을 하게 된다[26]. 과거의 우식경험은 새로운 우식의 발생 가능성을 높이는 인자로 밝혀져 있지만, 현재의 우식위험도를 결정하기 위해서는 구강위생 관리와 불소도포 등의 보호요소를 함께 고려한 임상가의 종합적인 판단이 수반되어야 할 것이다[27]. 또한 우식위험도 검사의 유용성 여부를 결정하기 위해서는 우식발생에 대한 종단적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 연구에 참여한 환아의 평균 연령은 약 5세로, 우식 고위험군의 지표를 확인하기 위해 dmft index 6을 기준으로 두 군을 나누었으나 이 과정에서 환아 연령에 따른 고려와 함께 더욱 세분화된 분류가 필요할 것으로 사료된다. 앞에서 언급한 바와 같이 치아우식은 타액이나 세균 수 외에 식생활과 환경적 요인의 영향도 함께 관여하여 발생한다. 때문에 임상 검사와 더불어 다양한 요소들을 복합적으로 분석해 우식위험도를 판단해야 하며 후속 연구에서는 이에 대한 연구가 고려되어야 할 것이다.

V. 결 론

진료실에서 이용되는 우식위험 진단 도구를 이용해 유치열기 소아에서 우식위험도를 평가한 결과 높은 유치우식경험지수(dmft >6)를 가진 군에서 낮은 타액의 완충능력을 가지고 있는 것으로 나타났다. 그러나 치태의 pH, 타액의 pH는 dmft와 유의한 상관관계를 보이지 않았다. 또한 *S. mutans* 수준 또한 유치우식경험지수(dmft >6)와 유의한 상관관계를 보이지 않는 것으로 나타났다. 따라서 치아우식 고위험군을 판단하는데 있어서 타액의 완충능력의 측정이 의미 있는 지표가 될 수 있을 것으로 생각된다.

References

1. American Academy of Pediatric dentistry : Policy on Early childhood caries (ECC): Classifications, consequences, and preventive strategies. *Pediatr Dent*, 37:50-52, 2014.
2. Kang GM, LEE HS, Lee JH, *et al.* : The distribution of patients and treatment trends in the department of pediatric dentistry, Yonsei University Dental Hospital for last 5 years.

- J Korean Acad Pediatr Dent*, 41:134-143, 2014.
3. 2015 Korean children's oral health survey. Available from URL: http://www.mohw.go.kr/front_new/jb/sjb030301vw.jsp?PAR_MENU_ID=03&MENU_ID=0321&CONT_SEQ=332448&page=1 (Accessed on July 17, 2016).
 4. Son YJ, Hyun HK, Jang KT, *et al.* : The changes in practice patterns for the last 8 years(2001-2008) in the department of pediatric dentistry, Seoul National University Dental Hospital. *J Korean Acad Pediatr Dent*, 37:97-100, 2010.
 5. Korean Academy of Pediatric Dentist : Textbook of Pediatric Dentistry, 5th ed., Dental Wisdom, 274, 2014.
 6. Kim YJ : New vision in pediatric dentistry – Keeping healthy teeth caries free : Pediatric CAMBRA protocols. *J Korean Acad Pediatr Dent*, 40:72-81, 2013.
 7. Li Y, Wang W : Predicting caries in permanent teeth from caries in primary teeth: an eight-year cohort study. *J Dent Res*, 81:561-6, 2002.
 8. Pawell LV : Caries prediction: a review of the literature. *Community Dent Oral Epidemiol*, 26:361-371, 1998.
 9. Dong YM, Pearce EI, Wang JD, *et al.* : Plaque pH and associated parameters in relation to caries. *Caries Res*, 33:428-436, 1999.
 10. Fejerskov O, Scheie AA, Manji F : The effect of sucrose on plaque pH in the primary and permanent dentition of caries-inactive and -active Kenyan children. *J Dent Res*, 71:25-31, 1992.
 11. Sansone C, Van Houte J, Margolis HC, *et al.* : The association of mutans streptococci and non-mutans streptococci capable of acidogenesis at a low pH with dental caries on enamel and root surfaces. *J Dent Res*, 72:508-516, 1993.
 12. Van Houte J, Lopman J, Kent R : The final pH of bacteria comprising the predominant flora on sound and carious human root and enamel surfaces. *J Dent Res*, 75:1008-1014, 1996.
 13. Humphrey SP, Williamson RT : A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent*, 85:162-169, 2001.
 14. Anderson P, Hector MP, Rampersad MA : Critical pH in resting and stimulated whole saliva in groups of children and adults. *Int J Paediatr Dent*, 11:266-273, 2011.
 15. Singh S, Sharma A, Sinha A, *et al.* : Saliva as a prediction tool for dental caries : An in vivo study. *J Oral Biol Craniofac Res*, 5:59-64, 2015.
 16. Prabhakar A, Dodawad R, Os R : Evaluation of flow rate, pH, buffering capacity, calcium, total protein and total antioxidant levels of saliva in caries free and caries active children-An in vivo study. *Int J Clin Pediatr Dent*, 2:8-12, 2009.
 17. Marsh PD : Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology*, 149:279-294, 2003.
 18. Twetman L, Twetman S : Comparison of two chair-side tests for enumeration of Mutans Streptococci in saliva. *Oral Health Dent Manag*, 13:580-583, 2014.
 19. Gao XL, Seneviratne CJ, Samaranyake LP, *et al.* : Novel and conventional assays in determining abundance of Streptococcus mutans in saliva. *Int J Paediatr Dent*, 22:363-368, 2012.
 20. Lee MJ, Lee DW, Kim JG, *et al.* : Detection of Streptococcus mutans in saliva using monoclonal antibodies. *J Korean Acad Pediatr Dent*, 42:10-21, 2015.
 21. Rupf S, Merte K, Eschrich K, *et al.* : Comparison of different techniques of quantitative PCR for determination of Streptococcus mutans counts in saliva samples. *Oral Microbiol Immunol*, 18:50-53, 2003.
 22. Igarashi T, Yamamoto A, Goto N : Direct detection of Streptococcus mutans in human dental plaque by polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol*, 5:294-298, 1996.
 23. Yano A, Kaneko N, Hanada N, *et al.* : Real-time PCR for quantification of Streptococcus mutans. *FEMS Microbiol Lett*, 217:23-30, 2002.
 24. Salazar O : Bacteria and Yeast cell disruption using lytic enzymes. *Methods Mol Biol*, 424:23-34, 2008.
 25. Bollet C, Gevaudan MJ, de Lamballerie X, *et al.* : A simple method for the isolation of chromosomal DNA from gram positive or acid-fast bacteria. *Nucleic Acids Res*, 19:1955, 1991.
 26. Reich E, Lussi A, Newbrun E : Caries-risk assessment. *Int Dent J*, 49:15-26, 1999.
 27. Demers M, Brodeur JM, Mouton C, *et al.* : A multivariate model to predict caries increment in Montreal children aged 5 years. *Comm Dnt Health*, 9:273-281, 1992.

국문초록

우식위험도 검사 결과와 유아기 우식증 사이의 상관관계에 대한 예비연구

허선재 · 신터전 · 현홍근 · 김정옥 · 장기택 · 이상훈 · 김영재

서울대학교 치의학대학원 소아치과학교실

본 연구는 임상에서 사용되는 진단도구들이 소아에서 우식위험도와 상관관계를 가지는지 여부를 확인하고, 소아에서 우식위험도를 효과적으로 반영하는 지표가 무엇인지 알아보기 위함이다. 32명의 6세 미만의 소아를 두 군(I군 : dmft < 6, II군 : dmft > 6)으로 나누었다. Plaque-check PH을 이용해 치태의 pH를 측정하고, Saliva-check buffer를 이용해 타액의 pH와 완충능력을 측정하였다. *S. mutans* 검출을 위해 Saliva-check mutans와 Cytoperio analysis system을 이용하였다.

타액 완충능력은 두 군에서 유의한 차이를 보이며 dmft와 상관관계를 보였고, 타액의 pH와도 유의한 상관관계가 있는 것으로 확인되었다. 두 군 사이에 치태 pH, 타액 pH의 유의한 차이는 관찰되지 않으며 dmft와 상관관계를 가지지 않는 것으로 밝혀졌다. *S. mutans*의 단일클론항체를 이용하는 Saliva-check mutans와 real-time PCR에 기반한 Cytoperio analysis system은 dmft와 유의한 상관관계를 가지고 있지 않는 것으로 밝혀졌다.

주요어: 타액 완충능력, *Streptococcus mutans*, 치태 산성도, 타액 산성도