

치석의 주사전자현미경 관찰 및 세균동정에 관한 연구

장 계 원

진주보건대학 치위생과

색인: 치은연상치석, 치은연하치석

1. 서 론

치석은 사람에게 있어서 심리적 문제나 구강 건강 문제가 될 수 있으며, 치아에 형성된 dental biofilm이 단단하게 석회화되어 자연치의 임상치관, 의치, 보철물 등에 형성되고 염증성 치주질환의 진행 및 재발에 영향을 미친다¹⁾.

치석이란 치면이나 다른 구강내 구조 표면에 침착된 석회화 물질로 치은변연 상부의 치은연상치석과 치은열구나 치주낭 등 치은변연 하부에 위치하는 치은연하치석으로 구분된다²⁾.

치석은 대개 10대 초반에 나타나 연령에 따라 증가하여 40대 이상에서는 100% 존재한다. 치은연하치석은 아동에서는 드물고 성인에서도 치은연상치석에 비해 발생빈도가 약간 낮다³⁾.

치석은 영구치와 유치 모두에 걸쳐 어떤 나이에서도 나타난다. 발병률은 나이가 들에 따라 증가한다. 9~14세 아동들에 대한 조사에서 나이, 성별, 민족적 특성에 상관없이 구성원의 56~85%가 치은연상치석을, 30~67%가 치은연하치석을 가짐이 보고되었다⁴⁾.

최근 시행된 3차 미국보건 및 영양평가조사에서 1988~1994년 사이의 9,689명의 미국내 성인을 조사하여 피검자의 91.8%에서 치석이 발견되었고 55.1%에서 치은연하치석이 존재하였다^{5,6)}.

치석의 구성 성분은 무기체, 유기체, 및 물로 이루어져 있으며, 그 비율은 나이, 침착물의 정도 및 위치에 따라 다양하며, 완전히 성숙된 치석인 경우는 보통 75~85%가 무기질이고 나머

지는 유기질과 물이었다. 그리고 치은연상치석과 치은연하치석의 화학적 성분은 비슷하였다. 또한 치석은 표면이 거칠고 삼투구조를 하여 독성세균의 저장소 역할을 하므로⁵⁾ 치은, 치주 감염의 발생, 진행 및 재발에 중요한 역할을 하는 것으로 간주되어⁶⁾ 치석을 제거하고 치면을 평탄하게 하기 위해서는 치석의 형태적 구조를 파악해 보는 것이 필요하다고 사료되어 J보건대학 치위생과 치면세마실습실 방문자를 대상으로 치은연상치석과 치은연하치석을 채취하여 주사전자현미경 관찰 및 세균동정에 관한 연구 결과를 통해 치과위생사의 전문화된 치석제거 업무 수행을 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험 재료

1) 시료

시료는 2006년 9월 11일부터 10월 30일까지 J보건대학 치위생과 치면세마실습실을 방문한 36명을 대상으로 치은연상치석과 치은연하치석을 채취하였으며 시료 수는 총 72개 였다.

2) 주사전자현미경

주사전자현미경(Hitachi 3000)을 이용하여 시료의 형태를 관찰하였다.

3) 배지

중균배양을 위하여 Tryptic soy broth(TSB)배지를 사용하였고 계대 배양과 순수배양용으로 는 혈액한천배지를 사용하였다.

TSB 배지의 조성은 <표 1>과 같다.

4) 균속의 동정

Biom rieux(프랑스)의 Automated Test for

Table 1. The composition of Tryptic soy broth medi-

Tryptose	17g
Soytone	3g
Glucose	2.5g
Sodium chloride	5g
Dipotassium	2.5g
D.W	1,000ml
pH	7.3

Bacteriology system(ATB)을 사용하여 동정하였다.

5) 분석용 Kit

API 20 Strep kit를 사용하였다.

2.2. 실험방법

1) 시료채취

치면세마실습실을 방문한 scaling 대상자 중 scaler 와 curet을 이용하여 치은연상치석과 치은연하치석을 채취하였다.

2) 주사전자현미경

시료를 진공이온 코팅기(Hitachi E-1000)을 사용하여 100초 동안 10 μ m 두께를 각각 금도금한 후 주사전자현미경(Hitachi 3000)을 이용하여 25KV 조건에서 200~700배 확대하여 시료의 형태를 관찰하였다.

3) 세균의 형태 및 생화학적 특성

분리된 집락을 그람염색 하였으며, slide glass 에 한 집락을 도말한 후 3% H₂O₂ 한 방울 떨어 뜨려 거품여부를 관찰하는 catalase 시험을 실시하였다.

4) 세균동정

실험에서 분리된 균주를 API 20 Strep kit 배지에 MacF.No.4 되도록 잘 현탁시킨 후 균액 50 μ l

를 API 20 Strep strip에 분주하여 35°C 에서 24 시간 배양한 후 ATB로 동정하였다(그림 1).

3. 결과 및 고찰

3.1 치은연상치석의 주사전자현미경 형태관찰

치석의 표면이 거칠고 높고, 낮은 곳, 돌출부, 굴곡, 소와 등의 형태를 볼 수 있었다(그림 2).

3.2 치은연하치석의 주사전자현미경의 형태관찰

치은연하치석은 더 치밀하며 부싯돌같이 단단한 것으로 볼 수 있었다(그림 3).

3.3 세균의 형태 및 특성

혈액한천배지에서 녹색의 작고 부분용혈을 가진 집락으로 관찰되었고 분리된 집락을 그람 염색한 결과 그람양성 연쇄상으로 나타났으며 catalase 시험결과 거품이 보이지 않아 음성으로 나타났다(그림 4, 5).

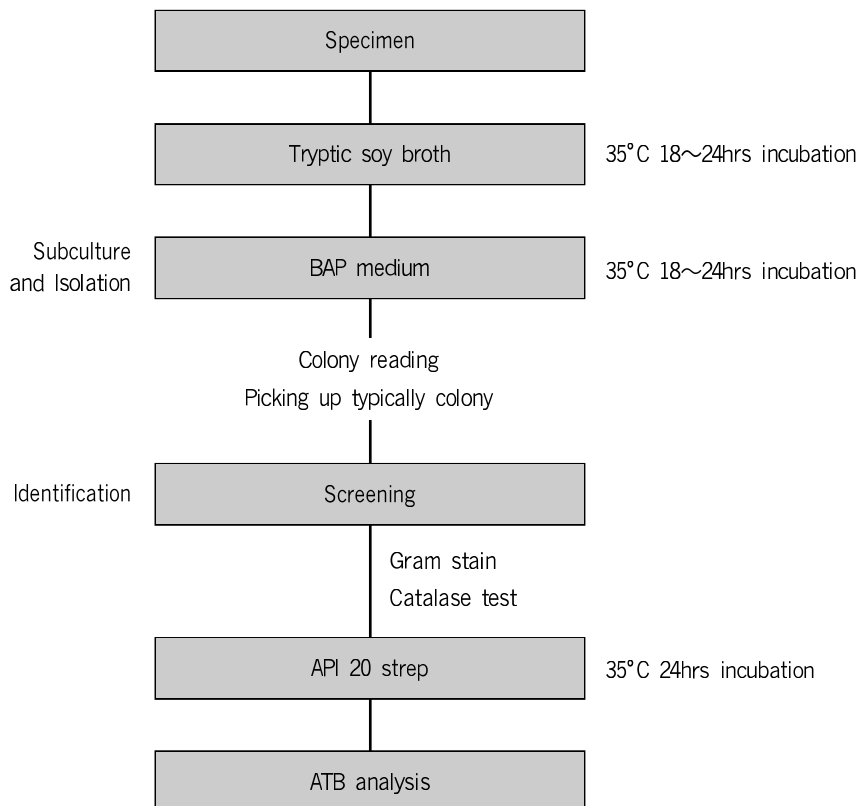


Fig. 1. Identification Scheme for *Streptococcus* sp.

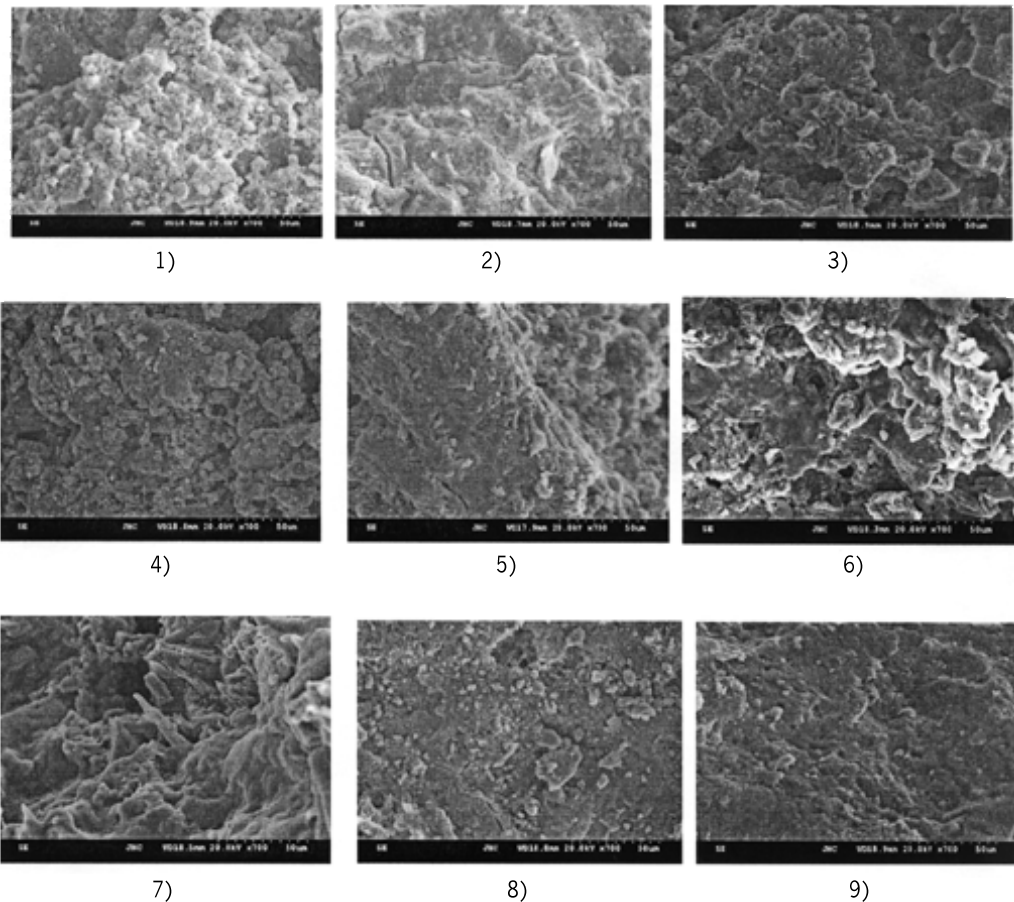


Fig. 2. Scanning electron micrography of supra gingival calculus.

- 1) 45age-female 2) 44age-female 3) 50age-male 4) 70age-female 5) 41age-female
6) 51age-female 7) 42age-female 8) 50age-male 9) 40age-female

3.4 치석에서의 세균 분포

스켈링 대상자 36명 중 11명은 치은연상치석과 치은연하치석에서 세균이 검출되지 않았고, 나머지 25명은 치은연상치석에서 *Lactococcus lactis* spp, *Leuconostoc* spp, *Streptococcus mitis*, *Aerococcus viridans* 세균이 각각 1, 3, 3, 16종이 검출되었다. 치은연하치석에서는 *Aerococcus viridans*, *Leuconostoc* spp 세균이 각각 5, 1 종이 검출되었다. 치석에서의 세균 분포는 <표 2>와 같다.

4. 결 론

본 연구는 J보건대학 치위생과 치면세마실습실을 방문한 36명을 대상으로 치은연상치석과 치은연하치석을 채취하여 치석의 주사전자현미경 관찰과 세균동정에 관한 연구로 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 치석의 주사전자현미경 관찰결과 표면이 거칠기가 정점, 굴곡, 소와를 볼 수 있었다.
2. 세균의 형태는 혈액천배지상에서 녹색의 작고 부분용혈을 가진 집락이 연쇄상으로

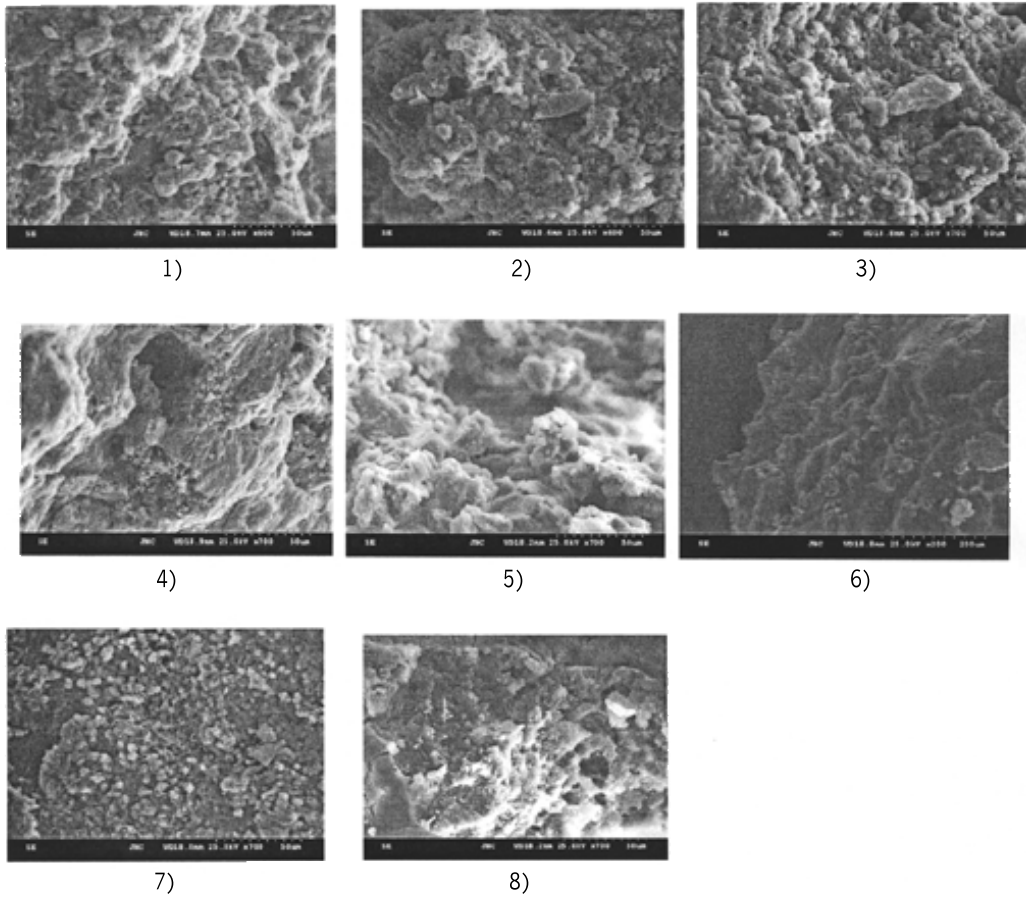


Fig. 3. Scanning electron micrography of sub gingival calculus.

1) 36age-female 2) 46age-female 3) 54age-female 4) 24age-male 5) 31age-female
6) 57age- male 7) 55age-male 8) 40age-male

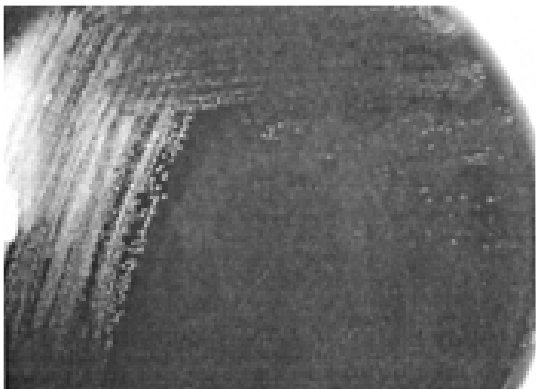


Fig. 4. *Streptococcus* sp. growing on blood agar plate

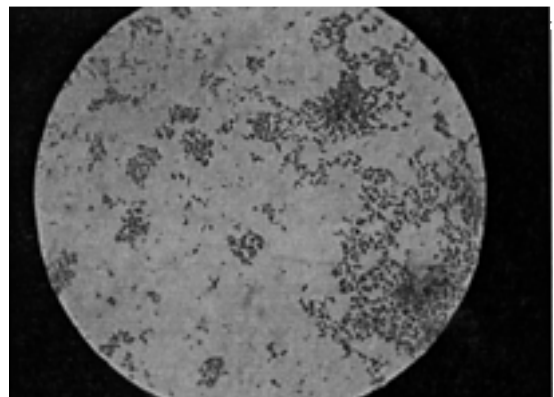


Fig. 5. Microscopic morphology of *Streptococcus* sp. on Gram stain

Table 2. The bacteria strains isolated of calculus

No.of patient	Calculus	Identitication	No.of patient	Calculus	Identification
1	연상	<i>Aerococcus viridans</i>	14	연상	<i>Leuconostoc spp.</i>
	연하	ND		연하	ND
2	연상	<i>Aerococcus viridans</i>	15	연상	<i>Aerococcus viridans</i>
	연하	ND		연하	ND
3	연상	ND	16	연상	<i>Streptococcus mitis</i>
	연하	<i>Aerococcus viridans</i>		연하	ND
4	연상	<i>Aerococcus viridans</i>	17	연상	<i>Streptococcus mitis</i>
	연하	ND		연하	ND
5	연상	ND	18	연상	<i>Lactococcus lactis spp.</i>
	연하	<i>Aerococcus viridans</i>		연하	ND
6	연상	<i>Aerococcus viridans</i>	19	연상	<i>Leuconostoc spp.</i>
	연하	ND		연하	ND
7	연상	<i>Aerococcus viridans</i>	20	연상	<i>Aerococcus viridans</i>
	연하	<i>Leuconostoc spp.</i>		연하	ND
8	연상	<i>Aerococcus viridans</i>	21	연상	<i>Aerococcus viridans</i>
	연하	ND		연하	ND
9	연상	<i>Leuconostoc spp.</i>	22	연상	<i>Aerococcus viridans</i>
	연하	ND		연하	ND
10	연상	<i>Aerococcus viridans</i>	23	연상	<i>Aerococcus viridans</i>
	연하	<i>Aerococcus viridans</i>		연하	ND
11	연상	<i>Aerococcus viridans</i>	24	연상	<i>Aerococcus viridans</i>
	연하	ND		연하	<i>Aerococcus viridans</i>
12	연상	<i>Aerococcus viridans</i>	25	연상	<i>Aerococcus viridans</i>
	연하	ND		연하	ND
13	연상	<i>Streptococcus mitis</i>			
	연하	<i>Aerococcus viridans</i>			

1) ND: Non Detected

관찰되었다.

3. 분리된 집락을 그람염색한 결과 그람양성으로 나타났다.
4. 치은연상치석에서는 *Lactococcus lactis spp.*, *Leuconostoc spp.*, *Streptococcus mitis*, *Aerococcus viridans* 세균이 각각 1, 3, 3, 16 종이 검출되었다.
5. 치은연하치석에서는 *Aerococcus viridans*, *Leuconostoc spp.* 세균이 각각 5, 1 종이 검출되었다.

참고문헌

1. 김숙향. 임상치위생학. 서울:대한나래출판사:2007:304.
2. 장계원. 치면세마론개정 4판. 서울:청구문화사:2006.
3. 치주과학. 치주과교수협의회. 서울:군자출판사:2001:213.
4. 김숙향. 치과위생사 임상실무. 서울:의치학사:1999:226.
5. 구영, 박준봉, 장범석, 정현주, 최점일 역. 임

- 상치주과학 9판, 서울:지성출판사:2004:183.
6. Albandar J, Kigman A, Brown L, et al:
Gingival inflammation and Subgingival calculus as determinants of disease progression in early-onset periodontitis. Clin Periodontol, 1998;25:231.
 7. 윤봉현, 정순희. 임상구강위생학. 서울:고문사:1985:145.
 8. 김숙향. 임상치위생학. 서울:대한나래출판사:2007:310.
 9. 장계원, 강용주. 치과의원 공기중의 공중낙 하세균수와 세균분포. 치위생과학회지 2004
 10. 송경희. 치과 개원가의 멸균 정도에 대한 조사연구, 대구보건전문대학 논문집, 1992;2(30):1271.
 11. 오세광 역. 치과계에서의 실제적인 감염방지, 서울:도서출판 신흥인터내셔널 제2판:1998:47-87.
 12. 정원균 등 11인. 치과감염관리학. 서울:나래출판사:2002:93-137.
 13. 김선미, 김미형. 치과의원의 감염방지 실태 및 치위생과 학생의 B형 간염 예방 현황. 한국치위생교육학회지, 2002;2(2):215-223.
 14. 김성광 등 4인. 병원성포도구균의 동정 및 항균제 감수성상. 대한 미생물학회지, 1993;28(4):225.
 15. 김성광외 4인. 병원성포도구균의 동정 및 항균제 감수성상, 대한미생물학회지, 1993;28(4):225.
 16. 강재승외 57인. 의학 미생물학, 서울:여문각:1991:379-395.
 17. 김구엽, 이희주, 서환조. 세균의 항균제 감수성 변화의 추이, 감염, 1995;27:119-140.
 18. 김현경, 이경원, 정윤섭, 권오현, 김준명, 김동수. 1984-1993년의 혈액 배양 성적. 감염, 1996;28:151-165.
 19. 정희진, 김우주, 김민자, 박승철. 중환자실에서의 병원감염에 대한 전향적 조사 연구. 감염, 1995;27:105-117.
 20. 황선철. 병원미생물학. 서울:신광출판사:1998:315-339.

Abstract

A study of dental calculus scanning electron microscopic by observation bacteria identification

Gye-Won Jang

Department of Dental Hygiene, Jinju Health College

Key words: Supragingival calculus, Subgingival calculus

A study of the J health college dept of dental hygiene practice vistant a total of 35 supragingival calculus and subgingival calculus picking SEM observation and bacteria identification of the result are followings.

1. As observed by dental calculus SEM, the surface roughness appeared as peaks, valleys, and pits.
2. About bacteteria morphology blood agar plate small green zone partial hemolysis colony streptococcus observation
3. Isolated colony gram stain gram are posiive display
4. Supragingival calculus at *Lactococcus lactis* spp, *Leuconostoc* spp, *Streptococcus mitis* , *Aerococcus viridans* bacteria 1, 3, 3, 16 species detection
5. Subgingival calculus at *Aerococcus viridans*, *Leuconostoc* spp. bacteria 5, 1 species detection