

## Enhancement of Erythrosine Photodynamic Therapy against *Streptococcus mutans* by Chlorhexidine

Jongcheol Park<sup>1</sup>, Howon Park<sup>1</sup>, Siyoung Lee<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatric Dentistry, <sup>2</sup>Department of Microbiology and Immunology, Oral Science Research Center, College of Dentistry, Gangneung-Wonju National University

### Abstract

The purpose of this study was to investigate the synergistic effects of erythrosine sensitized with a conventional halogen curing unit and sub-minimal bactericidal concentration(sub-MBC) of chlorhexidine on bacterial viability of *Streptococcus mutans* in planktonic state.

Sub-minimal bactericidal concentration of chlorhexidine was added into wells containing bacteria and erythrosine. The range of concentrations tested for chlorhexidine was from 0.0000001% to 0.001%. The irradiation of the bacterial suspensions was performed for 15 sec with a conventional halogen curing unit light. In another set of experiment, the effects of 0.001% chlorhexidine were observed by adding chlorhexidine into wells containing the sub-minimal bactericidal concentration of erythrosine.

At the concentration of 0.001% chlorhexidine, there were no antibacterial effects in the absence of erythrosine PDT( $p < 0.05$ ). At the concentration of 1  $\mu$ M erythrosine, there was no photodynamic therapy effect in the absence of chlorhexidine( $p < 0.05$ ). But in the presence of sub-minimal bactericidal concentration of erythrosine with light exposure, the addition of 0.001% chlorhexidine increased the bactericidal rate( $p < 0.05$ ).

A combination of erythrosine PDT with sub-MBC chlorhexidine resulted in a significant reduction in bacterial counts when compared to the case with the absence of chlorhexidine.

**Key words :** Photodynamic therapy, Erythrosine, Halogen, *Streptococcus mutans*, Chlorhexidine

### I . 서 론

치아우식증은 어린이의 구강 질환 중 가장 흔한 범발성 질환이며, 진행과정이 서서히 이루어져 가는 만성 질환이기도 하다<sup>1-3</sup>. 치아우식증은 치면세균막내 세균의 당 대사를 통해 생성되는 산에 의해 치질이 탈회되는 과정으로 이루어지는 세균성 치아 경조직 질환이다<sup>4</sup>. 치아우식증에 관련된 여러 세균 중에서 그람 양성 세균인 *Streptococcus mutans*가 치아우식증과 직접 연관이 있다는 것은 이미 잘 알려져 있다<sup>5</sup>.

치아우식증을 예방하기 위해서는 잇솔질과 같이 기계적인 방법으로 치면세균막을 제거하는 것이 가장 효과적인 방법이다<sup>6</sup>.

그러나 이러한 방법은 환자가 비협조적일 때 치아우식증 예방 효과를 기대할 수 없는 단점이 있다. 백신을 사용하여 구강 내 치아우식 유발 세균을 억제하려는 많은 연구가 행해지고 있지만, 임상적으로 이용 가능한 백신의 개발에는 많은 어려움이 있다<sup>7</sup>.

치아우식증을 예방하기 위한 또 다른 방법으로 항미생물제제들이 개발되고 있다. 이러한 항미생물제제 중 치과 의사들이 진료실에서 흔히 사용하고 환자들에게 처방하는 것은 클로르헥시딘이다. 그러나 항생제를 자주 사용하게 되면 내성을 가진 세균이 생성되고, 우식유발 세균뿐만 아니라 정상 세균총까지 파괴되는 문제점이 있다<sup>8,9</sup>. 그러므로 구강 내 정상 세균총에는 영향

Corresponding author : Howon Park

Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Gangneung-Wonju National University, 7, Jukheon-gil, Gangneung, 210-702, Korea

Tel: +82-33-640-2464 / Fax: +82-33-640-3113 / E-mail: pedo@gwnu.ac.kr

Received April 12, 2013 / Revised August 28, 2013 / Accepted September 7, 2013

※ This work is supported by Scientific Research(SR1203) of Gangneung-Wonju National University Dental Hospital.

을 거의 미치지 않으면서 우식 유발 세균에만 선택적으로 작용하는 강력한 항생 요법이 필요하다.

그리고 치아우식증을 예방하기 위해 최근에 연구되고 있는 방법으로 광역동 치료가 있다. 광역동 치료는 특정 파장의 빛을 흡수하는 광감각제를 사용하며, 광감각제는 세균의 세포벽에 친화성이 있어 광원에 의해 활성화된 분자는 세균을 손상시킬 수 있는 활성산소나 자유 라디칼(free radical)을 생성하여 항균효과가 발생한다<sup>10)</sup>.

항생제와 광역동 치료를 병용하면 항생제를 단독으로 사용할 때보다 더 큰 효과가 있을 것이다. 두 가지 치료법을 병용하였을 때 더 큰 항균효과가 나타난다면, 항생제를 적은 양 사용할 수 있는 장점이 있다. 따라서 이번 연구의 목적은 최소살균농도 이하(sub-minimal bactericidal concentration)의 클로르헥시딘과 erythrosine 광역동 치료를 병용하였을 때, 부유상태의 *S. mutans*에 미치는 두 가지 치료법의 상승효과를 평가하기 위함이다.

## II. 연구 재료 및 방법

### 1. 세균과 배양조건

치아우식 유발 세균인 *S. mutans* ATCC 25175를 사용하였다. 실험에 사용한 표준 균주는 5% CO<sub>2</sub>의 호기성 조건에서 37℃의 온도로 18시간 동안 뇌심장침출 액체배지(Becton, Dickinson and Company, USA)에서 배양되었다. 세균 부유 용액의 혼탁도는 분광광도계(Smart Plus 2700, Young-Woo Inst., Korea)를 이용하여 측정하였다. 표준 곡선을 이용하여 세균의 수를 조정하였으며, 세균의 수는 인산 완충 생리식염수(PBS)를 이용해 10<sup>7</sup> Colony Forming Unit(CFU)/ml로 희석하였다.

### 2. 광감각제와 광원

광역동 치료를 위한 광감각제로 erythrosine(Sigma-Aldrich Co., USA)을 사용하였다. 실험에 사용하기 위해 시판되는 erythrosine 용액을 인산 완충 생리식염수(PBS, pH 7.2)를 이용하여 최종농도 1 mM의 erythrosine 용액을 제조하였으며, 이렇게 만들어진 용액을 실험에 사용하기 전에 -20℃의 암실에서 보관하였다.

광역동 치료를 위한 광원으로 할로겐 광중합기(XL 3000, 3M ESPE, USA)를 사용하였다. 할로겐 광중합기의 광조사 직경은 8 mm였다. 광원의 출력량은 500 mW/cm<sup>2</sup>이었으며, 방사계(Light intensity meter, Dentamerica, USA)를 이용해 모든 실험마다 출력량을 점검한 후 사용하였다. 광조사를 시행한 시간은 15초였으며, 광원과 샘플 간의 거리는 2 cm으로 설정하였다. 광조사 후 각각의 샘플을 PBS를 이용하여 희석하였고, 희석한 용액을 50 μL 채취한 후 혈액찬배지(Hanil-KOMED, Korea)에서 배양하였다. 5% CO<sub>2</sub>의 호기성 조건에

서 37℃의 온도로 72시간 동안 배양한 후 CFU의 수를 측정하였다.

### 3. 클로르헥시딘 최소살균농도의 측정

이번 실험에 사용한 클로르헥시딘은 부광약품주식회사(Hexamidine, 0.1% chlorhexidine digluconate, Korea)를 통하여 구매하였다. 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC) 측정을 위해 클로르헥시딘을 2배씩 희석하여 여러 가지 농도의 용액을 준비하였다. 표준 균주를 접종한 BHI 액체 배지를 96-well microtitration plates를 5% CO<sub>2</sub>의 호기성 조건에서 37℃의 온도로 20시간 동안 배양하여 육안으로 최소억제농도를 결정하였다.

그 후 최소살균농도를 결정하기 위해, 육안으로 관찰하여 세균 번식의 억제를 보인 세균 부유물을 혈액찬배지(Hanil-KOMED, Sungnam, Gyeonggi-Do, Korea)에 희석하였다. 5% CO<sub>2</sub>의 호기성 조건에서 37℃의 온도로 72시간 동안 배양한 후, 세균의 99.9%가 사멸된 클로르헥시딘의 최소 농도를 최소살균농도로 결정하였다.

### 4. Erythrosine 광역동 치료에서 최소살균농도의 측정

Erythrosine 광역동 치료에서 erythrosine 최소살균농도를 결정하기 위해 erythrosine 농도를 달리하여 항균효과를 비교하였다. 실험에 사용된 erythrosine 농도는 1 μM, 5 μM, 10 μM이었으며, 각각의 erythrosine 농도에서 할로겐 광중합기를 사용하여 15초 동안 광조사를 시행하였다. 각각의 농도에서 세균 수를 비교하여 erythrosine 광역동 치료의 항균효과를 측정하였다.

### 5. 최소살균농도 이하인 0.001% 클로르헥시딘과 1 μM erythrosine 광역동 치료 병용시 항균효과 비교

최소살균농도 이하인 0.001% 클로르헥시딘이 1 μM erythrosine 광역동 치료에 미치는 효과를 평가하기 위해, 다음과 같이 8개의 실험군으로 나누어서 실험을 수행하였다.

- 1 군 - 클로르헥시딘 없음
  - 2 군 - 클로르헥시딘 없음, 1 μM erythrosine
  - 3 군 - 클로르헥시딘 없음 + 광조사
  - 4 군 - 클로르헥시딘 없음, 1 μM erythrosine + 광조사
  - 5 군 - 0.001% 클로르헥시딘
  - 6 군 - 0.001% 클로르헥시딘, 1 μM erythrosine
  - 7 군 - 0.001% 클로르헥시딘 + 광조사
  - 8 군 - 0.001% 클로르헥시딘, 1 μM erythrosine + 광조사
- 클로르헥시딘과 erythrosine 광역동 치료의 상승효과를 평가하기 위해, 0.001% 클로르헥시딘과 1 μM erythrosine 광역동 치료를 병용한 후 세균수를 측정하였다.

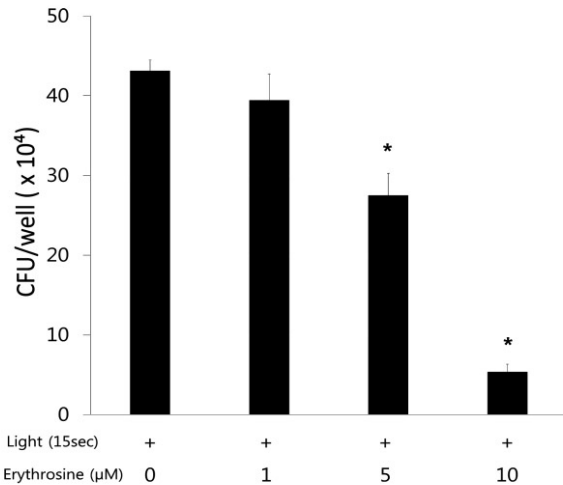
6. 통계 분석

통계 분석은 SPSS V19.0 프로그램으로 수행하였으며, 각각의 실험군에서 평균과 표준편차를 표시하였다. 각각 3가지 최소살균농도 이하의 클로르헥시딘 농도에서 광역동 치료 여부에 따른 효과를 비교하였으며, 이것을 Student t-test를 통하여 검증하였다. 각각 3가지 최소살균농도 이하의 클로르헥시딘 농도에서 광역동 치료를 시행하지 않은 실험군과 광역동 치료를 시행한 실험군을 비교하기 위해 95%의 신뢰도로 일원배치 분산분석을 이용해 각각의 군 간 차이를 비교하였다. 그리고 최소살균농도 이하인 1 μM erythrosine 농도의 광역동 치료에서 0.001% 클로르헥시딘의 유무에 따른 세균수 감소 효과를 비교하기 위해 95%의 신뢰도로 일원배치 분산분석을 이용해 각각의 실험군 간 차이를 비교하였다.

Ⅲ. 연구 결과

1. 클로르헥시딘 최소살균농도 결정

*S. mutans* ATCC 25175에 대한 클로르헥시딘 최소억제농도는 0.00005%였으며, 최소살균농도는 0.00625%였다.



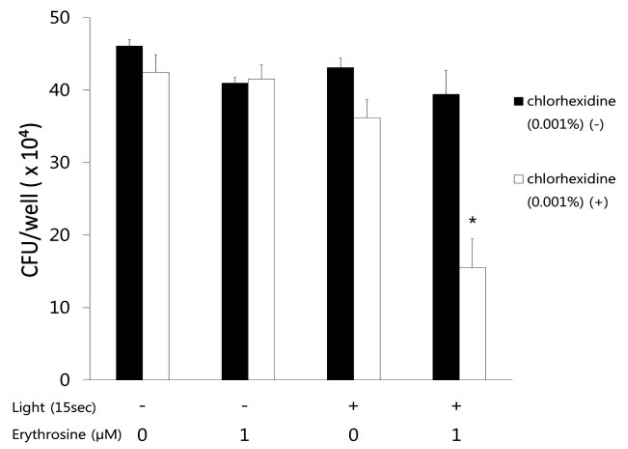
**Fig. 1.** Bacterial growth following exposure of bacterial suspension with erythrosine to halogen light. The growth of samples exposed to light for 15 s in the absence of chlorhexidine is expressed as CFU counts. Statistical significances were tested by one-way analysis of variances among groups(\* :  $p < 0.05$ ).

2. Erythrosine 광역동 치료에서 최소살균농도 결정(Fig. 1, Table 1)

Erythrosine 광역동 치료에서 최소살균농도를 결정하기 위해 erythrosine 농도를 1 μM, 5 μM, 10 μM로 조정하여 항균 효과를 비교하였다. 5 μM, 10 μM의 erythrosine 농도에서 광역동 치료를 시행한 결과 대조군인 0 μM보다 통계적으로 유의하게 세균수가 감소하였다( $p < 0.05$ ). 그러나 1 μM erythrosine 농도에서 광역동 치료를 시행한 경우 대조군과 비슷한 세균수를 보여 1 μM erythrosine 농도에서의 광역동 치료는 항균효과가 없었다.

3. 최소살균농도 이하인 0.001% 클로르헥시딘과 1 μM erythrosine 광역동 치료를 병용시 항균효과(Fig. 2, Table 2)

최소살균농도 이하인 1 μM erythrosine 광역동 치료만 단독으로 시행한 때에는 세균수의 유의미한 감소를 보이지 않았다. 반대로 0.001% 클로르헥시딘만 단독으로 적용한 경우에도 세균수의 유의한 감소를 보이지 않았다. 그러나 최소살균농도 이하인 1 μM erythrosine에 광조사를 시행하면서 0.001% 클로르헥시딘을 추가하는 경우에는 대조군과 비교하여 세균수가 유



**Fig. 2.** Bacterial growth following exposure of bacterial suspension with 0.001% chlorhexidine to halogen light in combination with sub-MIC of erythrosine. The growth of nonexposed(control) bacterial samples and samples exposed to light for 15 s in the absence or presence of chlorhexidine is expressed as CFU counts. Statistical significances were tested by one-way analysis of variances among groups(\* :  $p < 0.05$ ).

**Table 1.** Bacterial growth following exposure of bacterial suspension with erythrosine to halogen light

	Erythrosine (μM)				p-value
	0	1	5	10	
CFU/ml(×10 <sup>4</sup> )	43.1 ± 2.8	39.4 ± 6.6	27.5 ± 5.5	5.3 ± 2.0	.000
T	a	a	b	c	

Statistical significances were tested by one-way analysis of variances among groups. The same letters indicate non-significant difference between groups based on Tukey's multiple comparison test.

**Table 2.** Bacterial growth following exposure of bacterial suspension with 0.001% chlorhexidine to halogen light in combination with sub-MIC of erythrosine

Condition	Light(-) 0 μM E	Light(-) 1 μM E	Light(+) 0 μM E	Light(+) 1 μM E	p-value
No CHX T	46.1 ± 1.8 a	40.9 ± 1.5 a	14.3 ± 2.8 a	39.4 ± 6.6 a	.126
0.001% CHX T	42.5 ± 4.8 a	41.5 ± 3.9 a	36.2 ± 5.1 a	15.5 ± 7.9 b	.000

CHX = chlorhexidine, E = erythrosine

Statistical significances were tested by one-way analysis of variances among groups. The same letters indicate non-significant difference between groups based on Tukey's multiple comparison test.

의하게 감소하였다( $p < 0.05$ ).

#### IV. 총괄 및 고찰

치아우식을 예방하기 위해서 많은 전략이 개발되고 있으며, 광감각제를 사용하여 치아우식을 유발하는 세균을 억제할 수 있는 광역동 치료는 1990년대부터 꾸준히 연구되어 오고 있다<sup>11-13</sup>. 이전 연구에 따르면 erythrosine과 할로겐 광중합기를 사용한 광역동 치료에서 부유상태의 *S. mutans*에 항균효과가 있다고 보고하였다<sup>14,15</sup>. 광역동 치료가 항균효과를 갖는 기전은 다음과 같다. 광역동 치료에 사용되는 광감각제는 세균의 세포벽에 친화성이 있으며, 광조사에 의해 활성화되어 세균의 세포벽에 손상을 일으키게 된다. 이렇게 활성화된 광감각제 분자는 인접 세포벽 분자에 에너지를 전이시키고, 세균을 손상시키거나 사멸시킬 수 있는 활성 산소나 자유 라디칼을 생성하게 됨으로써 항균효과를 갖게된다<sup>16-19</sup>.

본 교실에서 시행한 이전의 연구에서는 광역동 치료에서 90% 이상의 세균 사멸을 얻기 위해서는 최소 5 μM 이상의 erythrosine 농도를 사용하여야 하는 결과를 얻었다<sup>14</sup>. 그러나 이번 실험에 사용된 erythrosine 농도는 최소살균농도 이하인 1 μM을 사용하였다. 최소살균농도 이하인 1 μM erythrosine 농도에서 클로르헥시딘을 병용하지 않으면 항균효과가 없었다 (Fig. 1, Table 1).

이번 연구에서 최소살균농도 이하의 erythrosine과 클로르헥시딘을 사용하였으며, 각각을 단독으로 사용하였을 때 항균효과가 없었다. 그러나 최소살균농도 이하의 1 μM erythrosine 광역동 치료와 0.001% 클로르헥시딘을 같이 사용하였을 때에는 항균효과가 나타났다. 1 μM erythrosine 광역동 치료와 0.001% 클로르헥시딘을 같이 사용하였을 때, 세균의 숫자가 61% 감소하여 상승효과가 있음을 알 수 있었다(Fig. 2, Table 2).

클로르헥시딘을 고농도로 장기간 사용할 때 구강 내 정상 세균총의 균형이 깨지는 문제가 있으며, 치면과 혀의 착색, 미각 이상, 보철물의 변색, 구강 점막의 통증 등이 나타나는 부작용이 있다. 구강 내 정상 세균총의 파괴를 최소화하면서 항균효과를 얻기 위해서는 최소살균농도 이하의 클로르헥시딘을 사용해

야 한다. 광역동 치료는 장소 특이적이므로, 광감각제와 광원이 존재하는 영역에서만 항균효과가 있다. 따라서 광원을 적용하더라도 erythrosine이 도포된 치면에서만 항균효과를 갖기 때문에 구강 점막과 혀 등에 존재하는 정상세균총의 파괴를 방지할 수 있다.

클로르헥시딘은 양이온의 성질을 가지는 소수성이며 친지질성의 분자이며, 그람 양성 및 음성 세균에 대해 항균효과가 있다<sup>20</sup>. 세균의 세포벽에 존재하는 인산 그룹은 음이온의 성질을 가지기 때문에, 양이온의 성질을 가지는 클로르헥시딘은 세균의 세포벽에 작용하여 삼투압 평형을 파괴하는 과정을 통해 항균효과를 갖게 된다<sup>21</sup>. 그러나 클로르헥시딘은 농도에 따라 다른 작용을 나타낸다. 최소억제농도 이하의 낮은 농도에서는 세포막의 변형만 일으키며, 높은 농도에서는 세포막에 존재하는 분자의 응집을 유도하여 항균효과가 나타난다<sup>22</sup>.

Erythrosine 광역동 치료에서는 활성산소나 자유 라디칼 같은 반응성 산물이 생성되기 때문에 세포벽뿐만 아니라 세포 내로의 침투가 가능하여 항균효과를 나타낸다. 1 μM erythrosine 광역동 치료와 0.001% 클로르헥시딘을 각각 사용하였을 때에는 항균효과를 나타내지 않았으나, 두 가지 치료법을 같이 사용하였을 때에는 통계적으로 유의한 항균효과를 나타내었다. 이러한 상승효과가 나타나는 이유는 서로 작용하는 곳이 다르기 때문으로 생각되며, 상승효과에 대한 두 가지 용액의 작용기전에 관한 추가적인 연구가 필요하리라 생각된다.

이번 실험에 사용된 광감각제인 erythrosine은 치과 진료실에서 흔히 사용되는 치면세균막 착색제이다. 치과 진료실에서 erythrosine을 구강위생이 불량한 환자에게 바르고, 착색된 치면의 잔류 치태를 제거하기 위한 잇솔질 교육을 시행할 때 자주 이용된다. 그리고 치과 진료실에서 광중합 재료를 충전할 때 주로 사용되는 광원으로는 할로겐이 있다. 이처럼 치과 진료실에서 흔히 접할 수 있는 재료인 치면 착색제를 광감각제로 이용하고, 광원으로 할로겐 광중합기를 이용함으로써 누구나 쉽게 접근할 수 있는 광역동 치료의 방법을 제시하였다는 점에서 의의가 크다고 할 수 있다.

이번 연구에서는 우식유발 세균인 *S. mutans*에 대해 최소살균농도 이하의 클로르헥시딘과 erythrosine 광역동 치료의 상

승효과를 알아보기 위해 부유상태에서 실험하였다. 그러나 구강 내 치면에서 치아우식을 유발하는 세균들은 바이오 필름의 형태로 조직화되어 있으며, 바이오 필름의 형태로 존재하는 경우 세포 외 다당류의 존재, 세포 대사 활성의 차이, 유전자 발현의 차이 등으로 부유 상태에서와는 다른 특성을 갖게 된다. 이러한 차이점을 고려해 볼 때, 바이오 필름 상태로 성장하는 세균은 광역동 치료에 대해 더 큰 저항성을 갖고 있을 것이다. 따라서 바이오 필름 상태에서 클로르헥시딘과 erythrosine 광역동 치료의 상승효과를 알아보는 연구가 추후 진행될 필요가 있을 것으로 생각된다.

## V. 결 론

최소살균농도 이하의 클로르헥시딘을 단독으로 사용하는 경우 *S. mutans*에 항균효과는 없었다. 그리고 최소살균농도 이하인 1  $\mu$ M erythrosine 광역동 치료만을 단독으로 시행할 때 *S. mutans*에 항균효과는 없었다. 각각의 치료법을 단독으로 시행하는 경우 항균효과가 없었지만, 최소살균농도 이하인 0.001% 클로르헥시딘과 최소살균농도 이하인 1  $\mu$ M erythrosine 광역동 치료를 병용하는 경우 61%의 *S. mutans* 세균수가 감소하였다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 *S. mutans*에 대해 최소살균농도 이하의 클로르헥시딘과 erythrosine 광역동 치료를 병용하는 경우 상승효과가 있음을 알 수 있다.

## References

1. Krasse B : Caries risk: a practical guide for an assessment and control. Chicago: Quintessence Publishing, 1985.
2. Smith DJ : Dental caries vaccines: prospects and concerns. *Expert Rev Vaccines*, 13:335-349, 2002.
3. Marsh PD : Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology*, 149:279-294, 2003.
4. Marsh PD : Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. *Dent Clin North Am*, 43:599-614, 1999.
5. Mikkelsen L, Jensen SB, Jakobsen J : Microbial studies on plaque from carious and caries-free proximal tooth surfaces in a population with high caries experience. *Caries Res*, 15:428-435, 1981.
6. Loe H : Oral hygiene in the prevention of caries and periodontal disease. *Int Dent J*, 50:129-139, 2000.
7. Smith DJ : Dental caries vaccines: prospects and concerns. *Crit Rev Oral Biol Med*, 13:335-149, 2002.
8. Goncalves MO, Coutinho-Filho WP, Pimenta FP, et al. : Periodontal disease as reservoir for multi-resistant and hydrolytic enterobacterial species. *Lett Appl Microbiol*, 44:488-494, 2007.
9. Walker CB : The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. *Periodontol*, 10:79-88, 1996.
10. Soukos NS, Goodson JM : Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. *Periodontol*, 55:143-66, 2000.
11. Wilson M : Photolysis of oral bacteria and its potential use in the treatment of caries and periodontal disease. *J Appl Bacteriol*, 75:299-306, 1993.
12. Wilson M, Dobson J, Sarkar S : Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser. *Oral Microbiol Immunol*, 8:182-187, 1993.
13. Wilson M, Pratten J, Pearson GJ : Bacteria in supragingival plaque samples can be killed by low-power laser light in the presence of a photosensitizer. *J Appl Bacteriol*, 78:569-574, 1995.
14. Lee YH, Park HW, Lee JH, et al. : The photodynamic therapy on Streptococcus mutans biofilms using erythrosine and dental halogen curing unit. *Int J Oral Sci*, 4:196-201, 2012.
15. Jung JS, Park HW, Lee JH : The effect of photodynamic therapy on the viability of Streptococcus mutans isolated from oral cavity. *J Korean Acad Pediatr Dent*, 39:233-241, 2012.
16. Sibata CH, Colussi VC, Oleinick NL, et al. : Photodynamic therapy: a new concept in medical treatment. *Braz J Med Biol Res*, 33:869-880, 2000.
17. Wilson M : Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *J Antimicrob Chemother*, 42:13-28, 1998.
18. Zvi M, Yeshayau N : New trends in photobiology bactericidal effects of photoactivated porphyrins - An alternative approach to antimicrobial drugs. *J Photochem Photobiol B*, 5:281-293, 1990.
19. Tamietti BF, Machado AH, Maftoum-Costa M, et al. : Analysis of mitochondrial activity related to cell death after PDT with AIPCS4. *Photomed Laser Surg*, 25:175-179, 2007.
20. Langslet A, Olsen I, Lie SO, et al. : Chlorhexidine treatment of oral candidiasis in seriously diseased children. *Acta Paediatr Scand*, 63:809-811, 1974.
21. Mohammadi Z, Abbott PV : The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J*, 42:288-302, 2009.
22. Khaled H, Peter A. Whittaker : Effect of sub-inhibitory concentration of chlorhexidine on lipid and sterol composition of Candida albicans. *Mycopathologia*, 140:69-76, 1998.

국문초록

## *Streptococcus mutans*에 대한 클로르헥시딘과 Erythrosine 광역동 치료의 상승효과

박종철<sup>1</sup> · 박호원<sup>1</sup> · 이시영<sup>2</sup>

강릉원주대학교 치과대학 <sup>1</sup>소아치과학교실, <sup>2</sup>미생물학 및 면역학교실 및 구강과학연구소

이 연구의 목적은 치과 임상에서 널리 사용되는 향미생물제제인 클로르헥시딘과 할로젠을 이용한 erythrosine 광역동 치료를 병용하였을 때, 부유 상태의 *Streptococcus mutans*에 미치는 항균효과를 평가하기 위함이다.

*S. mutans* 표준 균주를 Brain Heart Infusion broth medium에 첨가하여 부유 상태로 배양하였다. 치과용 할로젠 광중합 장치를 광원으로 사용하였으며 치태 착색제인 erythrosine을 광감각제로 사용하였다.

클로르헥시딘의 최소살균농도를 측정하고, erythrosine 광역동 치료에서 최소살균농도를 결정하기 위해 1  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 10  $\mu$ M의 erythrosine 농도를 사용하여 할로젠 광중합기로 15초 동안 광조사를 시행한 후 세균수를 측정하였다. 마지막으로 클로르헥시딘과 erythrosine 광역동 치료를 병용한 경우 나타나는 상승효과를 평가하기 위해, 최소살균농도 이하인 0.001% 클로르헥시딘과 최소살균농도 이하인 1  $\mu$ M erythrosine 광역동 치료를 병용하여 항균효과를 비교하였다.

최소살균농도 이하의 클로르헥시딘만 단독으로 사용하는 경우 *S. mutans*의 세균수가 유의하게 감소하지 않았다( $p < 0.05$ ). 또한 erythrosine 광역동 치료만 단독으로 시행한 경우에는 5  $\mu$ M, 10  $\mu$ M의 erythrosine 농도에서 유의하게 세균수가 감소하였지만, 1  $\mu$ M erythrosine 농도에서는 세균수가 유의하게 감소하지 않았다( $p < 0.05$ ). 마지막으로 두 가지 치료법의 상승효과를 평가하기 위해 최소살균농도 이하인 1  $\mu$ M erythrosine 광역동 치료와 0.001% 클로르헥시딘을 병용하는 경우에는, 대조군과 비교하여 세균수가 유의하게 감소하였다( $p < 0.05$ ).

최소살균농도 이하인 0.001% 클로르헥시딘과 1  $\mu$ M erythrosine 광역동 치료를 각각 단독으로 시행하는 경우에는 유의한 항균효과가 없었지만, 두 가지 치료를 병용하는 경우 61%의 *S. mutans* 세균수가 감소하였다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 *S. mutans*에 대해 최소살균농도 이하의 클로르헥시딘과 erythrosine 광역동 치료를 병용하는 경우 상승효과가 있음을 알 수 있다.

**주요어:** 광역동 치료, Erythrosine, 할로젠, *Streptococcus mutans*, 클로르헥시딘