

치근면에 항균 varnish 처치 전후의 치태 세균 및 치은열구액내 항체수준 변화에 관한 연구

서울대학교 치과대학 치과보존학교실

도정욱 · 권혁춘

목 차

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 실험결과
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고 문헌
- 영문 초록

I. 서 론

최근들어 치관부 우식 발병률은 지속적으로 감소하는 추세인 반면, 치근면 우식은 상대적으로 효율적인 관리를 받고 있는 치관부 우식과 치주질환에 비해 보편적으로 증가하고 있다.

연령별 인구분포에 따라 노령층의 자연치를 보존하고자 하는 경향과, 연령과 치은 퇴축 및 치근면 우식 간의 상관관계로 치근면 우식이 노령층의 주된 병소가 될 수 있으며, 치근면 우식은 생활수준의 향상과 구강내 치아 잔존 기간의 연장 등으로 더욱 중요한 위치를 차지하게 될 것이다¹⁾.

치근면 우식이 일차적으로 단백용해 과정에

의한 것인지, 또는 탈회에 의한 것인지는 아직 분명하게 밝혀지지 않았으며²⁾, 미생물에 의한 현상인 것은 인정되고 있으나 단일미생물에 의한 것인지 다수 미생물에 의한 결과인지에 대해서는 아직 논쟁의 대상이 되고 있으며, Hoppenbrouwers 등³⁾은 생체외 실험에서 노출되지 않은 치근의 상아질이 법랑질보다 산내식성에 더 취약하다고 보고하였다.

치근면 우식의 병인균에 대한 연구는 1970년에서 1975년 사이에 그람양성 사상형 간균 (filamentous rods) 중 특히 *Actinomyces viscosus* (*A. viscosus*) 와 *Actinomyces naeslundii* (*A. naeslundii*)에 대한 연구가 보고되었다⁴⁾. Jordan과 Hammond⁵⁾는 *A. viscosus* 와 *A. naeslundii* 가 실험동물에서 치근면 우식을 유발한다고 보고하였고, Sumney와 Jordan⁶⁾은 우식이 있는 치근면 치태세균 중에서 *A. viscosus* 와 *A. naeslundii* 가 일반적으로 검출되었음에도 불구하고 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) 가 중요한 구성성분을 이루고 있다고 보고하였으며, Syed 등⁷⁾은 fluorescent antibody techniques을 이용하여 치근면 병소에서 세균을 양적으로 측정하여 *A. viscosus* 가 전체균주의 40% 이상을 차지하였다고 보고하였다. 그러나 이후에 Ellen 등⁸⁾은 *Actinomyces* 가 치

* 본 연구는 서울대학교병원 1991년도 임상연구비에 의하여 이루어졌다.

근면 우식병소 유무에 관계없이 검출되었다고 하였으며, Brown 등⁹⁾은 치근면 우식병소가 없는 부위에서 *Actinomyces*가 오히려 많이 검출되었다고 보고하였다. 그러므로 Ellen 등⁸⁾은 *S. mutans*와 *Lactobacillus*가 치근면 치태에 함께 존재할 경우 치근면 우식을 유발할 가능성이 높다고 보고하여 *S. mutans*에 더 많은 역점을 두고 연구가 이루어졌다.

Brown 등⁹⁾은 치근면 우식을 초기병소와 진행병소로 구분하여, *S. mutans*가 초기병소에서 현저히 많이 나타난다고 보고하였고, Keltjens 등¹⁰⁾은 치근면 병소를 soft lesion과 hard lesion으로 구분하여, soft lesion에서 *S. mutans*가 현저히 많이 나타나며, hard lesion surface와 caries-free surface 사이에는 유의한 차이가 없었다고 보고하였다.

치아 우식을 예방하기 위해서는 불소도포, 당설휘제한 등의 방법이 흔히 사용되어 왔으며, 항균제에 의한 치태의 조절은 이에 대한 보조 요법으로 사용되고 있다¹¹⁾.

치근면 우식의 예방은 2가지 방법이 있다. 1차 예방은 치은퇴축의 방지로서 치태 조절은 화학요법과 물리요법으로 나눌 수 있으며, 물리적인 방법으로 치근면 치태를 제거할 때 부적절한 치솔질로 치근면이 노출되지 않도록 주의해야 한다. 2차 예방은 식이요법으로 정제된 당 섭취의 절대량과 빈도를 줄여 구강내 이미 노출되어 있는 치근면 상에 병소가 발생하지 않도록 하는 것이며, 적절한 불소요법과 구강 위생에 중점을 두는 것이다²⁾.

항균제의 사용은 주로 *S. mutans*의 억제에 그 목적을 두며, 이는 *S. mutans*가 치아 우식에 있어 주된 병인균으로 작용한다고 간주되기 때문이다¹²⁾. 구강 내에서 *S. mutans*를 제거하려는 목적으로 항균제를 용액이나 젤, 호제 등에 함유시켜 사용하였으며, 이를 양치액^{13,14)}이나 맞춤트레이^{15~18)}, 시린지¹⁹⁾, 또는 치솔²⁰⁾이나 치실¹³⁾ 등을 통하여 적용하였다. *S. mutans*는 항균제의 농도와 적용 빈도에 따라 일정 기간 동안 성공적으로 억제되었으나 거의 1내지 2주만에 재감염이 이루어졌다^{16,18,21)}.

*S. mutans*는 치아면에서만 군락화하는 특성

을 가지고 있으며, 앞서의 시도에서 *S. mutans*를 효과적으로 제거하는데 실패한 이유로 항균제가 치아면에 대해 충분한 기간 동안 접착하지 못한 것을 들 수 있다. 또한 용액이나 젤은 평활면의 미생물에 대한 효과는 인정되나 인접면의 미생물에 대해서는 그 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다²⁰⁾.

최근에는 약효가 지속적으로 방출되는 varnish가 개발되어 치아면에서 미생물을 제어하는 데에 있어 효과적인 방법으로 각광을 받고 있다^{11,23~29)}.

가장 효율적인 것으로 평가받은 “Two-layer varnish-sealant combination”은 1차적으로 Sumatra benzoin^{23~25,27~29)}이나 Sandarac²⁶⁾, 또는 Duraphat¹¹⁾ 등의 varnish를 송달제제로 사용하여 항균제를 함유한 치료층을 형성하고 그 위에 polyurethane varnish를 도포하여 치면상에 밀폐시키는 방법이다. 2차적인 sealant는 항균제의 치면 잔류기간을 연장시켜 지속적인 약효를 나타내도록 하며, 항균제의 부작용인 미각의 변화, 점막 자극에 따른 치은 통증을 방지하는 등의 효과를 나타낸다²⁴⁾.

본 연구는 항균 varnish로 polyurethane에 함유시킨 chlorhexidine 및 fluoride 제제를 적용할 경우 치근면 부위의 치아우식 병인균 및 해당치은 열구액의 치아우식 병인균에 대한 항체역가가 치료전후에 어떻게 변화되는가를 관찰하여 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

I. 실험대상

우식이나 수복물이 없는 노출된 치근면을 가진 40세에서 60세까지의 환자를 대상으로 하였으며, 실험 시작 전 치근면에 대해 스케일링과 치근활택술을 시행하고 modified Bass method로 치근면 치태 조절을 하도록 하였다. DMFT(decay missing filling teeth) 지수는 0부터 9까지의 범위였으며, 평균 3.69였다. 대상은 무작위로 placebo varnish군(1군, 대조

군), 20% chlorhexidine varnish군(2군), 2.6% silane fluoride varnish군(3군)의 3군으로 나누어, 군 당 16부위씩 모두 48부위에 대해 관찰하였다.

2. Varnish 사용재료

항균제의 선택은 *S. mutans*에 대한 효과가 뚜렷하고, 임상적으로 널리 사용되고 부작용이 적으며, 사용된 varnish와 잘 부합되고 안정된 상태를 유지하여 varnish로부터 일정기간 지속적으로 방출되는 것으로, 본 연구에서는 chlorhexidine diacetate (Sigma chemical Co., P.O. Box 14508 St. Louis, U.S.A.) 와 silane fluoride(Vivadent, FL-9494 Schaan, Liechtenstein)를 항균제로, 송달제 제로는 polyurethane(Dentin-Protector, Vivadent, FL-9494 Schaan, Liechtenstein)을 사용하였다. 20%(W/V) chlorhexidine-polyurethane varnish는 즉석에서 혼합하여 사용하였으며, 2.6% silane fluoride-polyurethane varnish는 기성품인 Fluor-Protector (Vivadent, FL-9494 Schaan, Liechtenstein)를 사용하였다.

3. Varnish 도포방법

varnish 도포 전, 대상치아는 불소나 지방 성분이 없는 순수 퍼미스를 물에 적셔 러버컵을 사용하여 저속으로 청결하게 하였으며, 간이방습법으로 격리시키고 에어시린지로 건조시켰다. 준비된 치료용 varnish를 1회용 붓으로 치근면에 도포하고 건조시키는 과정을 2회 반복하였다. 그리고 밀폐용 polyurethane varnish를 새로운 1회용 붓으로 도포하고 건조시키고, 12시간 동안 치솔질을 하지 않도록 주지 시켰다. 그리고 1주후 전과정을 재시도하였다.

4. 치근면 치태 채취방법

치근면 치태의 충분한 양을 얻기 위해 치태 채취 전 24시간동안 치솔질을 금하고 세균성분

을 알기 위해 varnish 도포 전, 그리고 도포 후 1, 2, 4 및 8주에 치태를 채취하였다. 간이방습 후, 치근면 상의 타액을 조심스럽게 제거하고 멸균된 나무 wedge(Barman's anatomical wedges, SDI, Sweden)로 치근면을 따라 치태를 채취하였다.

치은열구액(Gingival crevicular fluid)은 Periopaper(Harco electronics LTD., 770 Bradford street, Winnipeg, Manitoba, Canada, U.S.A.)를 30초간 치은열구 내에 적용시킨 후 Periotron(Harco electronics LTD., 770 Bradford street, Winnipeg, Manitoba, Canada, U.S.A.)에서 그 양을 측정하고 냉장고에 보관하였다.

5. 미생물학적 검사

가. 세균 배양법

나무 wedge에 채취된 치근면 치태는 즉시 혼합 gas를 주입하면서 2ml의 멸균된 pre-reduced Ringer 용액이 들어 있는 시험관에 옮기고 Vortex mixer에서 60초간 진탕하여 용액속에 잘 분산시켰다. 80% N₂, 10% CO₂, 10% H₂가 들어있는 37°C의 협기성 배양기(Forma Scientific, Box 649 Marietta, Ohio, U.S.A.)에서 10배 단계 희석을 시행하였다.

Streptococcus species, *Actinomyces* species, *Lactobacillus* species를 감별하기 위해 100μl의 희석 용액을 선택배지에 각각 접종하여 37°C 협기성 배양기에서 2-3일간 배양하였다.

*Streptococci*는 10% CO₂ 배양기에서 혈액평판한천배지상에 2-3일간 계대배양하고, 군락 형태 및 생화학적 검사를 통하여 아종을 분류하였다.

나. 간접 면역 형광 현미경법(Indirect Immunofluorescence method, I.I.F.)

나무 wedge에 채취된 치근면 치태는 200μl

의 phosphate-buffered saline(pH 7.2, 0.1M phosphate, PBS)으로 희석하였다. 희석한 균주용액 20 μ l씩을 각기 다른 slide glass 위에 떨어뜨린 후 공기중에서 건조시켜 열처리로 고정하고-20°C에서 보존하였다. 이미 보관되어 있는 항혈청액은 checkerboard 역가측정법으로 각 1:80, 1:160, 1:320, 1:640, 1:1280으로 희석하였으며, 희석용액으로는 인산완충용액에 4% bovine serum albumin을 넣어 사용하였다. 이렇게 희석된 항혈청은 반응유무를 검사하고자, 각 균주 slide상에 상기의 항혈청을 20 μ l씩 떨어뜨린 후 30분동안 습실내에서 반응시켜 인산완충용액으로 세척하고 25 μ g/mg protein의 fluorescin isothiocyanate (Isomer I.B.B.L., Microbiology systems, U.S.A.)로 각기 1:50 및 1:100으로 희석한 후 용액 20 μ l를 slide상에 떨어뜨려 37°C에서 30분간 반응시킨 후 다시 세척하고 90% glycerol로 고정, 형광현미경하에서 관찰하였다. 이때 사용된 현미경은 BH2-RFL microscope(Olympus optical Co., LTD., Tokyo, Japan)이며, Exciter filter(UG-1), Dichroic mirror DM-400 L-420, additional barrier filter L-435를 사용하였다.

형광 염색에 의한 반응의 판정은

- : no response

- (+), + (-) : partial identity

+ : weak response

++ : strong response로 결정하였고, 이중 ++ 이상을 counting 하였다.

6. 면역학적 검사(Modified Enzyme-linked Immunosorbent Assay)

원심분리하여 얻은 항원을 0.02% NaN₃가 들어있는 0.1M Na₂CO₃ buffer(pH 9.6) 용액으로 희석하여 580nm의 분광측정기로 최저 최적농도인 O.D. (optical density) 0.3을 맞춘뒤 이를 부착시켰다. 항원부착을 위하여 일회용 flat bottom polystyrene microtiter plates

(Dynatech 1-23.29 : Dynatech Lab., Inc., Alexandria, Va.)에 200 μ l의 항원을 넣은 후 CO₂ incubator에서 37°C로 두시간 부화시킨 다음 2% (W/V) bovine serum albumin이 든 항원 coating buffer 용액 150 μ l를 첨가하여 4°C 냉장고에 보관하였다.

실험전에 plates의 각 well을 세척 완충(PBS+Tween 20)용액으로 3회 씻어낸 후 antibody dilution buffer(PBS-0.05% Tween 20+0.5% BSA+0.02% NaN₃) 용액으로 적정 농도로 희석된 환자의 치은열구액을 200 μ l씩 각 well에 넣고 CO₂ incubator에서 2시간동안 부화 반응시켰다. 이후 plate의 각 well을 씻어내고 conjugate dilution buffer(PBS-0.05% Tween 20+0.5% BSA+0.02% NaN₃) 용액으로 적정량 희석된 alkaline phosphatase-conjugated goat anti-human immunoglobulin(Cappel, Organon Teknika Corp., West Chester., PA 19380) IgG를 각 well에 200 μ l씩 넣어서 37°C CO₂ incubator에서 1시간동안 부화시킨 후 다시 세척완충용액으로 3회 세척하고 substrate buffer용액에 용해시킨 p-nitrophenylphosphate (type 104 : Sigma chemical Co.)를 100 μ l씩 well에 넣어 37°C incubator에서 1시간동안 반응시킨 후 405nm absorbance ELISA reader colorimeter (THERMO max, microplate reader, Molecular devices, U.S.A.)로 plate well의 상층부에서 하단부까지 관통하여 optical density를 측정하였다.

time(week)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Application of varnish	*	*							
Microbial examination	*	*	*	*	*				*
Immunological exam.	*	*	*	*	*				*

Fig. 1. Varnish was applied weekly at time 0 and 1, and microbial examination was done at time 0, 1, 2, 4, 8.

III. 실험결과

노출된 치근면에 부착된 치태세균 중에서 치

근면 치아 우식과 관련있는 *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *A. naeslundii* 및 *A. viscosus*에 대한 세균 배양법 및 간접 면역 형광 현미경법을 이용한 발현율의 조사에서 보면, 간접 면역 형광 현미경법을 이용한 검사 결과 *S. mutans*는 2.24~4.88%, *S. sanguis*는 5.79~8.33%, *S. mitis*는 5.18~7.11%, *A. naeslundii*는 6.71~8.74%, 그리고 *A. viscosus*는 4.27~8.23%의 점유율을 나타내고 있으며 전체 치태세균 중에서 24~37%의 점유율을 보이고 있다. 또한 세균 배양법에 의한 연구결과 *S. mutans*는 3.63~4.67%, *S. sanguis*는 4.20~5.14%, *S. mitis*는 4.0~4.43%, *Actinomyces* 전체는 4.0~4.38%로, 나타났다 (Table 1).

세균 배양법에 의하여 검사된 전체 *Streptococci* 균주의 20% chlorhexidine 및 2.6% silane fluoride varnish 처치 전후의 변화를 보면, 20% chlorhexidine varnish군에서 처치 후 1, 2, 4주 동안은 변화가 없으나 8주후에 현저한 감소를 보였고, 2.6% silane fluoride군

에서는 감소현상을 보이지 않았다(Table 2-1, Fig. 2-1)

또한 전체 *Actinomyces*균주의 변화를 보면 20% chlorhexidine군에서 1주후에 감소함을 보였고, 2.6% silane fluoride군에서는 4주 및 8주후에 현저히 감소하였으며, 대조군에서는 8주후에 현저히 감소함을 보였다(Table 2-2, Fig. 2-2).

간접 면역 형광 현미경법을 이용한 치근면 우식 병인균의 검사 결과, *S. mutans*는 20% chlorhexidine군에서 1, 2, 4, 8주에 현저히 감소함을 보였고, 2.6% silane fluoride 군에서는 1주, 2주에 감소하다가 4주, 8주에 더욱 감소함을 보였으며 대조군에서는 4주후에 현저히 증가하는 것으로 나타났다(Table 3-1, Fig. 3-1).

*S. sanguis*는 20% chohexidine varnish군과 2.6% silane fluoride varnish군 모두에서 1, 2, 4, 8주후에 현저히 감소함을 보였고, 군 간에도 유의한 차가 있음을 보였다. 대조군에서는 8주후에 현저히 증가함을 보였다(Table 3-2, Fig. 3-2).

Table 1. Composition of bacterial communities associated with root surface

microflora	percent I.I.F. identified range among total plaque flora(%)	percent isolated range among cultivable flora(CFU)
<i>S. mutans</i>	2.24~4.88	3.63~4.67
<i>S. sanguis</i>	5.79~8.33	4.20~5.14
<i>S. mitis</i>	5.18~7.11	4.0 ~4.43
<i>A. naeslundii</i>	6.71~8.74	4.0 ~4.38
<i>A. viscosus</i>	4.27~8.23	(Total <i>Actinomyces</i> species)

Table 2-1. Changes in the number of total *Streptococci* species with varnish treatment by bacterial culture(mean %/±S.E.)

group	wk	1	2	3
		placebo	20% C-H	2.6% S-F
0wk		4.33±0.11	4.49±0.18	4.11±0.23
1wk		4.32±0.87	4.42±0.19	4.41±0.25
2wks		4.51±0.16	4.48±0.15	3.54±0.36 * *
4wks		4.83±0.19*	4.05±0.15 * *	3.73±0.24 * *
8wks		4.12±0.08	3.64±0.14** *	3.61±0.16 *

Intra-group + : p<0.05 ++ : p<0.01 C-H : chlorhexidine

Inter-group * : p<0.05 ** : p<0.01 S-F : silane fluoride

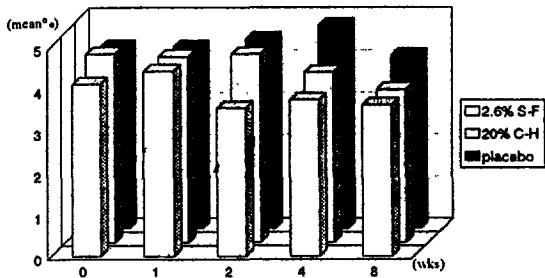


Fig. 2-1. Changes in the number of total *Streptococci* species with varnish treatment by bacterial culture.

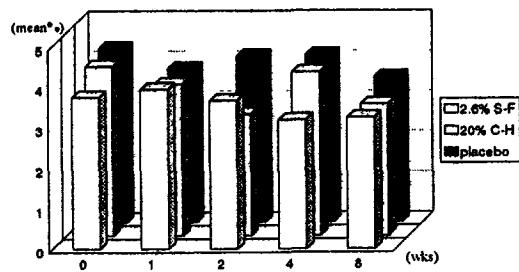


Fig. 2-2. Changes in the number of total *Actinomyces* species with varnish treatment by bacterial culture.

Table 2-2. Changes in the number of total *Actinomyces* species with varnish treatment by bacterial culture (mean %/±S.E.)

group	1 placebo	2 20% C-H	3 2.6% S-F
wk			
0wk	4.32 ± 0.15	4.19 ± 0.09	3.75 ± 0.12 ^{* *}
1wk	3.82 ± 0.11 ⁺	3.75 ± 0.12 ⁺⁺	3.95 ± 0.16
2wks	4.13 ± 0.16	3.00 ± 0.00	3.67 ± 0.37
4wks	4.15 ± 0.11	4.05 ± 0.17	3.19 ± 0.12 ^{++ * *}
8wks	3.60 ± 0.09 ⁺⁺	3.25 ± 0.19 ⁺⁺	3.25 ± 0.12 ⁺⁺

Intra-group + : p<0.05 ++ : p<0.01 C-H : chlorhexidine

Inter-group * : p<0.05 ** : p<0.01 S-F : silane fluoride

*S. mitis*는 20% chlorhexidine varnish군에서 1주후에 현저히 감소함을 보였고, 2.6% silane fluoride 군에서는 1, 2, 4, 8주에 현저한 감소를 보였으며, 대조군에서는 8주후에 현저히 증가하였다. 또 각군간에도 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다(Table 3-3, Fig. 3-3).

*A. naeslundii*와 *A. viscosus*는 20% chlorhexidine varnish 군과 2.6% silane fluoride

군 모두에서 1, 2, 4, 8주후에 현저히 감소함을 보였고, 대조군에서는 *A. naeslundii*는 8주후에, *A. viscosus*는 4주 및 8주후에 현저히 증가함을 보였다. 또 각군 간에도 유의한 차이가 있음을 보였다(Table 3-4, Fig. 3-4, Table 3-5, Fig. 3-5).

정량적 면역 측정법(ELISA)을 이용한 치은 열구액내 항체수준의 변화를 보면, *S. mutans*

Table 3-1. Changes in the number of *S. mutans* with varnish treatment by I.I.F. (mean %/±S.E.)

group	1 placebo	2 20% C-H	3 2.6% S-F
wk			
0wk	2.98 ± 0.43	2.74 ± 0.64	4.12 ± 0.59
1wk	3.13 ± 0.68	1.16 ± 0.24 ^{+ * *}	2.36 ± 0.45 ⁺
2wks	4.12 ± 0.75	0.85 ± 0.28 ^{+ * *}	2.52 ± 0.38 ⁺
4wks	9.72 ± 4.98	1.22 ± 0.27 ^{+ *}	2.03 ± 0.31 ⁺⁺
8wks	5.49 ± 0.23 ⁺⁺	1.37 ± 0.10 ^{+ * *}	2.13 ± 0.34 ^{++ * *}

Intra-group + : p<0.05 ++ : p<0.01 C-H : chlorhexidine

Inter-group * : p<0.05 ** : p<0.01 S-F : silane fluoride

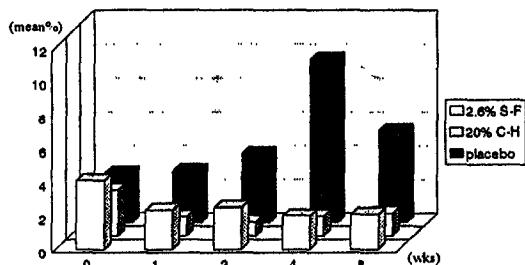


Fig. 3-1. Changes in the number of *S. mutans* with varnish treatment by I.I.F.

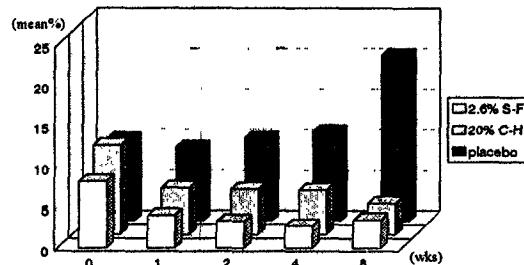


Fig. 3-2. Changes in the number of *S. sanguis* with varnish treatment by I.I.F.

Table 3-2. Changes in the number of *S. sanguis* with varnish treatment by I.I.F. (mean %/ \pm S.E.)

group	1 placebo	2 20% C-H	3 2.6% S-F
wk			
0wk	10.06 \pm 1.34	10.91 \pm 0.79	8.16 \pm 1.02
1wk	9.05 \pm 1.49	5.73 \pm 0.96 ^{++*}	4.04 \pm 0.38 ^{++**}
2wks	10.14 \pm 1.76	5.55 \pm 1.34 ^{++*}	3.28 \pm 0.49 ^{++**}
4wks	10.98 \pm 1.89	5.43 \pm 1.51 ^{++*}	2.74 \pm 0.34 ^{++**}
8wks	20.43 \pm 0.64 ⁺⁺	3.81 \pm 0.33 ^{++**}	3.46 \pm 0.36 ^{++**}

Intra-group + : p<0.05

++ : p<0.01

C-H : chlorhexidine

Inter-group * : p<0.05

** : p<0.01

S-F : silane fluoride

Table 3-3. Changes in the number of *S. mitis* with varnish treatment by I.I.F. (mean %/ \pm S.E.)

group	1 placebo	2 20% C-H	3 2.6% S-F
wk			
0wk	8.04 \pm 1.36	6.53 \pm 0.65	5.87 \pm 0.50
1wk	6.56 \pm 1.10	3.42 \pm 0.74 ^{++*}	3.66 \pm 0.53 ^{++*}
2wks	9.07 \pm 1.70	4.21 \pm 1.47*	2.13 \pm 0.34 ^{++**}
4wks	10.75 \pm 1.97	4.87 \pm 1.75*	1.83 \pm 0.28 ^{++**}
8wks	21.95 \pm 0.80 ⁺⁺	1.60 \pm 0.22 ^{++**}	2.03 \pm 0.23 ^{++**}

Intra-group + : p<0.05

++ : p<0.01

C-H : chlorhexidine

Inter-group * : p<0.05

** : p<0.01

S-F : silane fluoride

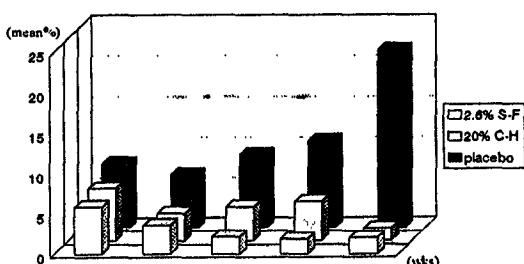


Fig. 3-3. Changes in the number of *S. mitis* with varnish treatment by I.I.F.

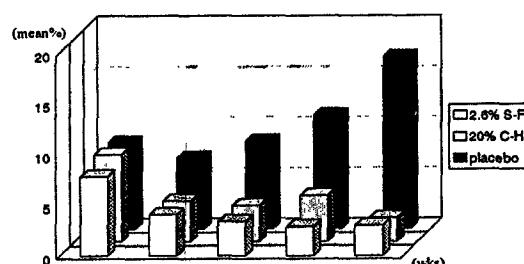


Fig. 3-4. Changes in the number of *A. naeslundii* with varnish treatment by I.I.F.

Table 3-4. Changes in the number of *A. naeslundii* with varnish treatment by I.I.F. (mean %/±S.E.)

group	1 placebo	2 20% C-H	3 2.6% S-F
wk			
0wk	8.46±0.84	8.60±0.50	7.78±0.71
1wk	6.94±1.17	4.03±0.69 ^{++*}	4.04±0.49 ^{++*}
2wks	8.61±1.41	3.60±0.95 ^{++**}	3.35±0.42 ^{++**}
4wks	11.21±1.81	4.57±1.26 ^{++**}	2.85±0.53 ^{++**}
8wks	16.92±0.67 ⁺⁺	2.36±0.24 ^{++**}	2.95±0.46 ^{++**}

Intra-group + : p<0.05 ++ : p<0.01 C-H : chlorhexidine

Inter-group * : p<0.05 ** : p<0.01 S-F : silane fluoride

Table 3-5. Changes in the number of *A. viscosus* with varnish treatment by I.I.F. (mean %/±S.E.)

group	1 placebo	2 20% C-H	3 2.6% S-F
wk			
0wk	7.17±0.83	7.62±0.62	6.48±0.81
1wk	6.10±1.09	4.27±0.72 ⁺⁺	3.74±0.57 ⁺⁺
2wks	7.58±1.26	3.84±0.93 ^{++**}	2.82±0.52 ^{++**}
4wks	11.51±1.72 ⁺	4.21±1.25 ^{++**}	2.34±0.46 ^{++**}
8wks	16.46±0.86 ⁺⁺	2.21±0.36 ^{++**}	2.44±0.50 ^{++**}

Intra-group + : p<0.05 ++ : p<0.01 C-H : chlorhexidine

Inter-group * : p<0.05 ** : p<0.01 S-F : silane fluoride

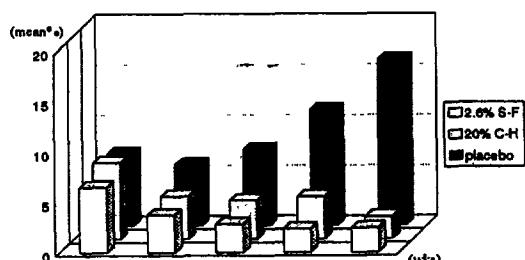


Fig. 3-5. Changes in the number of *A. viscosus* with varnish treatment by I.I.F.

의 경우 항균 varnish 치치후 20% chlorhexidine varnish 군에서 1주후부터 감소함을 보였으며, 2.6% silane fluoride varnish군에서도 2주후에 감소하는 경향을 보였다(Table 4-1, Fig. 4-1).

*S. sanguis*에서는 20% chlorhexidine varnish군에서 항체수준의 감소가 불규칙하게 나타나나 2.6% silane fluoride varnish군에서는 2주후에 감소하는 경향을 보였다(Table 4-2,

Table 4-1. Changes in the gingival crevicular fluid antibody titer of *S. mutans* with varnish treatment by ELISA (mean O.D./±S.E.)

group	1 placebo	2 20% C-H	3 2.6% S-F
wk			
0wk	0.349±0.017	0.462±0.041*	0.392±0.033
1wk	0.374±0.020	0.328±0.049 ⁺	0.358±0.014
2wks	0.403±0.022	0.300±0.039 ^{++*}	0.267±0.041 ⁺ *
4wks	0.416±0.026 ⁺	0.366±0.024	0.328±0.021*
8wks	0.202±0.077	0.300±0.081	0.261±0.059

Intra-group + : p<0.05 ++ : p<0.01 C-H : chlorhexidine

Inter-group * : p<0.05 ** : p<0.01 S-F : silane fluoride



Fig. 4-1. Changes in the gingival crevicular fluid antibody titer of *S. mutans* with varnish treatment by ELISA.

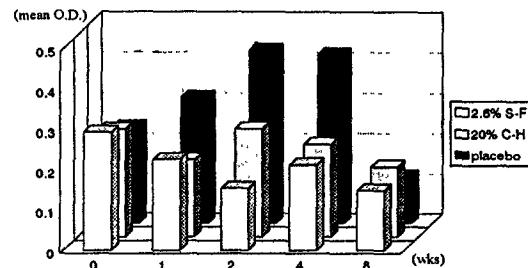


Fig. 4-2. Changes in the gingival crevicular fluid antibody titer of *S. sanguis* with varnish treatment by ELISA.

Table 4-2. Changes in the gingival crevicular fluid antibody titer of *S. sanguis* with varnish treatment by ELISA (mean O.D./ \pm S.E.)

group			
	1 placebo	2 20% C-H	3 2.6% S-F
wk			
0wk	0.241 \pm 0.028	0.269 \pm 0.026	0.294 \pm 0.060
1wk	0.315 \pm 0.069	0.192 \pm 0.031	0.226 \pm 0.018
2wks	0.430 \pm 0.081*	0.270 \pm 0.048*	0.155 \pm 0.025**
4wks	0.420 \pm 0.079*	0.232 \pm 0.014**	0.213 \pm 0.014**
8wks	0.119 \pm 0.046*	0.175 \pm 0.039	0.149 \pm 0.032*
Intra-group	+ : p<0.05	++ : p<0.01	C-H : chlorhexidine
Inter-group	* : p<0.05	** : p<0.01	S-F : silane fluoride

Fig. 4-2).

*S. mitis*에서는 20% chlorhexidine varnish 군에서 1주후에, 2.6% silane fluoride varnish 군에서 2주후에 항체수준이 감소하는 경향을 보였다(Table 4-3, Fig. 4-3).

*A. naeslundii*와 *A. viscosus*는 20% chlor-

hexidine varnish군에서 1주후에 항체수준이 현저히 감소함을 보였고, 2.6% silane fluoride varnish군에서도 2주후에 감소하는 경향을 보였다(Table 4-4, Fig. 4-4, Table 4-5, Fig. 4-5).

Table 4-3. Changes in the gingival crevicular fluid antibody titer of *S. mitis* with varnish treatment by ELISA (mean O.D./ \pm S.E.)

group			
	1 placebo	2 20% C-H	3 2.6% S-F
wk			
0wk	0.270 \pm 0.029	0.383 \pm 0.068	0.255 \pm 0.013
1wk	0.309 \pm 0.022	0.189 \pm 0.031**	0.241 \pm 0.015
2wks	0.360 \pm 0.039	0.239 \pm 0.035*	0.150 \pm 0.028**
4wks	0.361 \pm 0.030*	0.267 \pm 0.021**	0.250 \pm 0.016**
8wks	0.172 \pm 0.074	0.169 \pm 0.041*	0.167 \pm 0.040
Intra-group	+ : p<0.05	++ : p<0.01	C-H : chlorhexidine
Inter-group	* : p<0.05	** : p<0.01	S-F : silane fluoride

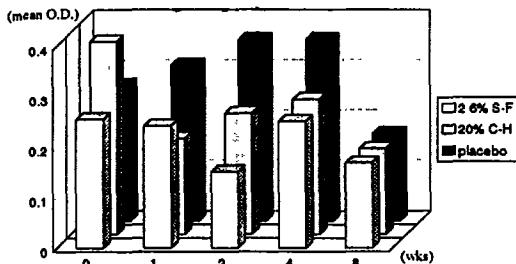


Fig. 4-3. Changes in the gingival crevicular fluid antibody titer of *S. mutans* with varnish treatment by ELISA.

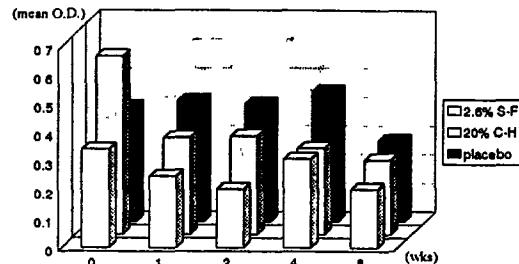


Fig. 4-4. Changes in the gingival crevicular fluid antibody titer of *A. naeslundii* with varnish treatment by ELISA.

Table 4-4. Changes in the gingival crevicular fluid antibody titer of *A. naeslundii* with varnish treatment by ELISA (mean O.D./±S.E.)

group wk	1	2	3
	placebo	20% C-H	2.6% S-F
0wk	0.400±0.061	0.622±0.098*	0.344±0.040
1wk	0.421±0.076	0.338±0.069+	0.251±0.035
2wks	0.409±0.045	0.343±0.074+	0.205±0.045+*
4wks	0.453±0.055	0.302±0.038++*	0.310±0.037*
8wks	0.282±0.113	0.261±0.077++	0.205±0.053+

Intra-group + : p<0.05 ++ : p<0.01 C-H : chlorhexidine

Inter-group * : p<0.05 ** : p<0.01 S-F : silane fluoride

Table 4-5. Changes in the gingival crevicular fluid antibody titer of *A. viscosus* with varnish treatment by ELISA (mean O.D./±S.E.)

group wk	1	2	3
	placebo	20% C-H	2.6% S-F
0wk	0.208±0.017	0.460±0.107*	0.214±0.014
1wk	0.278±0.027+	0.191±0.032+*	0.177±0.016*
2wks	0.350±0.039++	0.233±0.042*	0.136±0.022++**
4wks	0.272±0.027	0.225±0.023+	0.199±0.017
8wks	0.113±0.045	0.156±0.037+	0.151±0.043

Intra-group + : p<0.05 ++ : p<0.01 C-H : chlorhexidine

Inter-group * : p<0.05 ** : p<0.01 S-F : silane fluoride

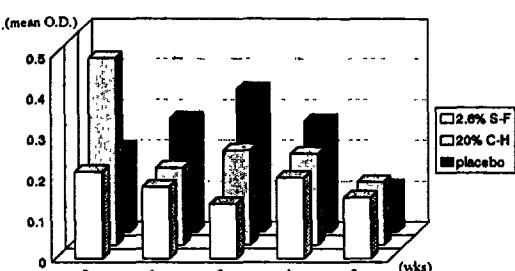


Fig. 4-5. Changes in the gingival crevicular fluid antibody titer of *A. viscosus* with varnish treatment by ELISA.

IV. 총괄 및 고안

많은 연구가들이 구강내에서 *S. mutans*를 제거할 목적으로 용액이나 젤, 또는 호제등의 형태로 항균제를 사용해 왔다. *S. mutans*는 치면에 군락화하는 능력이 있으나 연조직의 표면에는 군락화하지 못하는 것으로 알려졌다²⁴⁾.

초기에 *S. mutans*를 제거하지 못한 이유는 항균제를 치아에 충분한 시간동안 유지시키지

못한 것으로 생각하여 지속적인 방출특성 (sustained-release property)을 가진 varnish를 사용하면 성공적으로 *S. mutans*를 제거할 수 있다고 제안하였다.

지속적인 방출체계 (sustained-release system)는 여러 연구가들에 의해서 발전되어 왔으며³⁰⁻³²⁾, Balanyk와 Sandham²⁴⁾, Sandham 등²⁵⁾, Balanyk 등³³⁾은 항균제를 함유한 varnish를 사용하여 *S. mutans*를 효과적으로 제어 할 수 있다고 보고하였다.

varnish가 지녀야 할 특성은 수일에 걸쳐 천천히 항균제를 방출시켜서 살균력을 가질 수 있어야 하고 항균제는 *S. mutans*에 효과적이어야 하며 임상에 널리 사용되고, 부작용이 적어야 하며, 안정적이고 varnish와 조화를 이루며 지속적으로 방출될 수 있어야 한다²⁴⁾.

chlorhexidine은 독성이 적고³⁵⁾, *S. mutans*에 대한 살균효과가 커서 항균제로 많이 사용되어 왔으나^{35,36)} 미각이 좋지 않으며, 종종 점막을 자극하여 치은에 통증을 유발하는 단점이 있다³⁷⁾.

Flötra 등³⁷⁾은 chlorhexidine 용액으로 매일 구강을 양치할 경우 치아와 혀를 착색시키거나, 구강점막을 박리시킬 수 있다고 보고하였다.

Emilson¹⁸⁾은 맞춤트레이를 사용해서 1% chlorhexidine gel을 매일 5분씩 2주일간 치아에 적용한 결과, 처치후 14주후에도 *S. mutans*가 처치전의 수준으로 증가하지 못한 반면에, 치태내 *S. sanguis*는 처치후 일시적으로 증가하였으며, *Lactobacilli*는 chlorhexidine 치료에 영향을 받지 않았다고 보고하였다. 이는 *S. mutans*에 의한 구강감염을 조절하는데에 chlorhexidine gel을 단기간 사용할 가치가 있음을 의미하는 것이라 하겠다.

Maltz 등¹⁴⁾은 인공치태를 stainless steel wire에 배양해서 chlorhexidine과 iodine을 항균제로 사용하여 *S. mutans* 치태와 *S. sanguis* 치태에 대한 항균효과를 비교한 결과, chlorhexidine과 iodine이 *S. sanguis* 치태보다 *S. mutans* 치태에 현저한 항균효과를 나타냈으며, 단기간 반복처치시 chlorhexidine은 살균

효과가 증가하였으나 iodine은 증가하지 않았다고 보고하였다.

Kristoffersson과 Brattali³⁹⁾은 *S. mutans*가 치아우식 병인균이라면 이 세균을 제거할 경우 우식 예방 효과가 있으며, 치태구성을 변화시키는 항우식처치가 필요하다는데 근거를 두고, 1% chlorhexidine gel을 2일간 2회 치간세척을 하여 *S. mutans*에 대한 효과를 연구한 결과, 1주일 후에 55%가 재감염이 되었고, 40일 후에 *S. mutans*가 대부분 처치전 수준으로 증가하여 chlorhexidine이 *S. mutans*에 일시적 효과가 있음을 보고하였다.

Schaeken 등³⁸⁾은 5% chlorhexidine과 2% iodine을 치아 평활면과 열구 또는 수복물 변연 부위에 적용한 결과, *S. mutans*와 *Actinomyces*는 현저히 억제되었으나 *S. sanguis*에 대한 효과는 크지 않았으며, *A. viscosus*는 1주일내에 처치전 수준으로 증가하였다고 하였다. 또 열구와 수복물 변연 부위에서 *S. mutans*는 chlorhexidine 처치후 3주후에도 현저히 억제되었으나, iodine에 의한 억제기간은 chlorhexidine보다 훨씬 짧았다고 보고하였다.

Maltz 등¹⁴⁾, Emilson¹⁸⁾, Zickert 등³⁹⁾은 chlorhexidine과 stannous fluoride를 항균제로 사용하여 *S. mutans*를 단기간 성공적으로 억제하였다고 보고하였다.

그러나 이러한 성공적인 처치들은 일시적이며 수주내에 타액과 치면의 *S. mutans*가 처치전의 수준으로 증가함을 보였다. 이에 대해 Schaeken 등²²⁾은 약물요법에 영향을 거의 받지 않는 괴(reservoirs)가 있어, 여기에 *S. mutans*가 재군락화하는 것으로 생각하였다. Svanberg와 Loesche⁴¹⁾는 *S. mutans*가 빈 치아열구에 24시간 내에 군락화할 수 있으나 다른 세균들에 의해 열구가 이미 점유되어 있을 경우 군락화 하지 못하였다고 하였으며, Schaeken 등³⁸⁾은 소독제에 영향을 받지 않거나, 거의 받지 않는 세균에 의해 *S. mutans*의 재군락화가 지연되는 것 같다고 하였다.

Schaeken 등²²⁾은 chlorhexidine으로 세척이나 flossing시 *S. mutans*가 억제되었으며 1% chlorhexidine gel로 1주동안 치솔질만 하였을

경우 치아 인접면과 타액내의 *S. mutans*에 영향을 미치지 못하였으나 열구와 평활면의 *S. mutans*는 억제되었다고 보고하였다.

Sandham 등²⁵⁾은 two-layer varnish-sealant combination을 이용하여 *S. mutans*에 대한 항균효과를 연구한 결과, 20% chlorhexidine이 *S. mutans*를 효과적으로 오랫동안 제거할 수 있다고 하였으며, *S. mutans*를 제거하는데 실폐한 원인으로 varnish 도포를 부적절하게 했거나, 치아에 세균을 제거하기 어려운 부위가 있거나, *S. mutans*가 chlorhexidine에 대한 저항력이 증가된 경우, 다른 사람으로부터 세균이 급속하게 감염이 된 경우 등을 예로 들었으며, chlorhexidine으로 반복치료를 함으로써 *S. mutans*를 오랫동안 효과적으로 제거할 수 있다고 보고하였다.

Schaeken 등²⁶⁾은 sandarac varnish를 이용하여 chlorhexidine 농도에 따른 *S. mutans*의 항균효과에 대한 연구에서, 모든 chlorhexidine을 함유한 varnish 처치군에서 선택적으로 *S. mutans*를 억제하였으며, 40% chlorhexidine group에서 *S. mutans*에 대한 억제효과가 가장 현저하게 나타나, 고농도의 chlorhexidine을 함유한 sandarac varnish가 열구에서 *S. mutans*를 성공적으로 오랫동안 억제할 수 있다고 보고하였다.

Sandham 등²⁹⁾은 어린이들에게 10%와 20% chlorhexidine varnish처치를 한 결과 타액내 *S. mutans*수가 수개월 동안 처치전 보다 적게 나타나 *S. mutans*를 오랫동안 억제하는 효과가 있으나 chlorhexidine 농도에 따른 유의한 차이는 보이지 않았다고 보고하였다.

본 실험에서도 20% chlorhexidine varnish 처치군(2군)과 2.6% silane fluoride varnish 처치군(3군) 모두에서 처치후 1주부터 8주까지 효과적으로 *S. mutans*를 억제함을 보였는데, 2군에서는 처치후 1, 2주에, 3군에서는 처치후 4, 8주에 *S. mutans*를 현저히 억제함을 보였다.

Emilson¹⁸⁾은 chlorhexidine gel 처치후 치태내 *S. sanguis*비율이 일시적으로 증가하였다고 보고하였으며, Sandham 등²⁸⁾도 chlorhexidine

varnish 처치후 *S. sanguis*가 증가하였음을 보고한 반면에, Schaeken과 de Haan¹¹⁾은 chlorhexidine과 sodium fluoride에 의한 *S. sanguis*의 변화는 거의 없었다고 보고하였다.

본 실험에서는 2군과 3군 모두에서 처치후 1주부터 8주까지 *S. sanguis*가 감소함을 보여 Emilson¹⁸⁾과 Sandham 등²⁸⁾의 보고와 상반됨을 보였다.

Schaeken과 de Hann¹¹⁾은 chlorhexidine이 *A. viscosus*와 *A. naeslundii*를 2주동안 억제하였으나 sodium fluoride는 *S. mutans*와 *A. viscosus*, *A. naeslundii*를 억제하지 못하였다고 보고하였으며, Schaeken 등²²⁾은 chlorhexidine과 stannous fluoride가 치면과 타액속의 *S. mutans*와 *Actinomyces*를 억제하였으며, 치면에서 *A. viscosus*와 *A. naeslundii*를 1주일 이상 억제하였다고 보고하였다.

본 실험에서도 2군과 3군 모두에서 *A. viscosus*와 *A. naeslundii*를 처치후 1주부터 8주까지 현저히 억제하는 것으로 나타났다.

또 정량적 면역 측정법(ELISA)을 이용한 치은열구액내 항체수준의 변화를 보면 *S. mutans*의 경우 항균 varnish 처치후 2군에서 1주후부터, 3군에서는 2주후부터 감소하는 경향을 보였고, *S. sanguis*에서는 2군에서 항체수준의 감소가 불규칙하게 나타나나 3군에서 2주후부터 감소하는 경향을 보였으며, *S. mitis*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*의 경우, 2군에서 처치후 1주후부터, 3군에서는 처치후 2주후부터 감소하는 경향을 보였다.

본 실험에서 간접 면역 형광 현미경법을 이용한 치근면 병인균 검사 결과 치근면 치태의 *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*는 2군과 3군 모두에서 처치후 1주에서 8주까지 효과적으로 억제됨을 보인 반면에 1군에서는 증가하는 추세를 보였다.

이는 실험과정에서 항균 varnish를 치근면에 도포한 후 밀폐용 varnish를 도포하고, 1주일 후 재도포를 하였기 때문에 밀폐용 varnish에 의해 항균제의 치면 잔류시간이 연장되어 약효가 지속적으로 나타나고, 1주일후에 재도포를 시행함으로써 반복처치효과가 나타나서 효율적

인 항균효과를 보인 것으로 사료된다.

chlorhexidine과 silane fluoride 항균 varnish 처치후 나타난 본 실험의 결과로 미루어 볼때, Sandham 등²⁵⁾과 Schaeken 등²⁶⁾의 보고에서처럼 varnish로부터 항균효과의 지속적 방출이 치근면 우식에 효율적으로 이용될 수 있다고 사료되며, silane fluoride varnish 처치에 있어서 지속적인 방출효과를 입증하기 위한 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

치주치료를 완료한 12명을 3군으로 나누어 각 군당 노출된 치근면 16부위에 placebo varnish(1군), 20% chlorhexidine varnish(2군), 2.6% silane fluoride varnish(3군) 등을 2회 도포하였다. varnish 처치 전과 처치 후 1, 2, 4, 그리고 8주에 채취한 치근면 치태에 대하여 세균 배양법과 간접 면역 형광 현미경법에 의해 미생물학적 검사를 행하였고 치은열구 액내 항체수준에 대하여 ELISA로 면역학적 검사를 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*를 포함한 치근면 병인균은 간접 면역 형광 현미경상에서 24-37%를 차지하였다.
2. 치근면 치태의 *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*는 항균 varnish 처치후 1주에서 8주까지 유의하게 감소하였으나, 대조군에서는 일반적으로 증가하는 추세를 보였다.
3. 치은열구액내 항체수준은 항균 varnish 처치후 1주 내지 2주부터 4주까지 유의하게 감소하였다.

REFERENCES

1. Kitamura, M., Kiyak, H.A., Mulligan, K. (1986). Predictors of root caries in the elderly, Community Dent. Oral Epidemiol.
2. Thomson, W.M. (1990): Root surface caries – an overview of aetiology, prevalence, prevention, and management, New Zealand Dent. J. 86:4-9.
3. Hoppenbrouwers, P.M.M., Driessens, F.C.M., Borggreven, J.M.P.M. (1986): Vulnerability of unexposed human dental roots to demineralization, Caries Res. 20:190, Abst. No. 118.
4. Bowden, G.H.W. (1990): Microbiology of root surface caries in humans, J. Dent. Res. 69:1205-1210.
5. Jordan, H.V., Hammond, B.F. (1972): Filamentous bacteria isolated from human root surface caries, Arch. Oral Biol. 17: 1333-1342.
6. Sumney, D.L., Jordan, H.V. (1974): Characterization of bacteria isolated from human root surface carious lesion, J. Dent. Res. 53:343-351.
7. Syed, S.A., Loesche, W.J., Pape, H.L. Jr., Greuter, E. (1975): Predominant cultivable flora isolated from human root surface caries plaque, Infect. Immun. 11:727-731.
8. Ellen, R.P., Banting, D.W., Fillery, E.D. (1985): Longitudinal microbiological investigation of a hospitalized population of older adults with a high root surface caries risk, J. Dent. Res. 64:1377-1381.
9. Brown, L.R., Billings, R.J., Kaster, A.G. (1986): Quantitative comparisons of potentially cariogenic microorganisms cultured from non-carious and carious root and coronal surfaces, Infect. Immun. 51:765-770.
10. Keltjens, H.M.A., Schaeken, M.J.M., van der Hoeven, J.S., Hendricks, J.C.M. (1987): Microflora of plaque from sound and carious root surfaces, Caries Res. 21:193-199.

11. Schaeken, M.J.M., DeHaan, P. (1989): Effects of sustained-release chlorhexidine acetate on the human dental plaque flora, *J. Dent. Res.* 68:119-123.
12. Loesche, W.J. (1986): Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay, *Microbiol. Rev.* 50:353-380.
13. Newbrun, E., Heiblum, R., Mayeda, A. (1980): Effect of flossing, with and without iodine, on human interproximal plaque flora, *Caries Res.* 14:75-83.
14. Maltz-Turkienicz, M., Krasse, B., Emilson, C.G. (1980): Effects of chlorhexidine and iodine on in vitro plaques of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*, *Scand. J. Dent. Res.* 88:28-33.
15. DePaola, P.F., Jordan, H.V., Berg, J. (1974): Temporary suppression of *Streptococcus mutans* in humans through topical application of vancomycin, *J. Dent. Res.* 53:108-114.
16. Emilson, C.G., Lindqvist, B., Wennerholm, K. (1984): Recolonization of human tooth surfaces by *S. mutans* after Chlorhexidine treatment, *IADR Abst* 62:No. 377.
17. Loesche, W.J., Hockett, R.N., Syed, S.A. (1977): Reduction in proportions of dental plaque *streptococci* following a 5-day kanamycin treatment, *J. Periodont. Res.* 12:1-10.
18. Emilson, C.G. (1981): Effect of chlorhexidine gel treatment on *Streptococcus mutans* population in human saliva and dental plaque, *Scand. J. Dent. Res.* 89: 239-246.
19. Kirstoffersson, K., Bratthall, D. (1982): Transient reduction of *Streptococcus mutans* interdentally by chlorhexidine gel, *Scand. J. Dent. Res.* 90:417-422.
20. Emilson, C.G., Fornell, J. (1976): Effect of toothbrushing with chlorhexidine gel on salivary microflora, Oral hygiene, and caries, *Scand. J. Dent. Res.* 84:308-319.
21. Gibbons, R.J., DePaola, R.F., Spinell, D.M., Skobe, Z. (1974): Interdental localization of *Streptococcus mutans* as related to dental caries experience, *Infect. Immun.* 9:481-488.
22. Schaeken, M.J.M., DeJong, M.H., Franken, H.C.M., van der Hoeven, J.S. (1984): Effects of highly concentrated stannous fluoride and chlorhexidine regimes on human dental plaque flora, *J. Dent. Res.* 65:57-61.
23. Sandham, H.J., Brown, J., Chan, K.H. (1985): Clinical elimination of *S. mutans* with Chlorzoin and polyurethane varnishes, *J. Dent. Res.* 64:213, Abst. No. 343.
24. Balanyk, T.E., Sandham, H.J. (1985): Development of sustained-release antimicrobial dental varnishes effective against *Streptococcus mutans* in vitro, *J. Dent. Res.*, 64: 1356-1360.
25. Sandham, H.J., Brown, J., Phillips, H.I., Chan, K.H. (1988): A preliminary report of long-term elimination of detectable mutans streptococci in man, *J. Dent. Res.* 67:9-14.
26. Schaeken, M.J.M., van der Hoeven, J.S., Hendriks, J.C.M. (1989): Effects of varnishes containing chlorhexidine on the human dental plaque flora, *J. Dent. Res.* 68:1786-1789.
27. Kozai, K., Wang, D.S., Sandham, H.J., Phillips, H.I. (1991): Changes in strains of mutans streptococci induced by treatment with chlorhexidine varnish, *J. Dent. Res.* 70:1252-1257.
28. Sandham, H.J., Brown, J., Chan, K.H., Phillips, H.I., Burgess, R.C., Stokl, A.J. (1991): Clinical trial in adults of an antimicrobial varnish for reducing mutans

- streptococci, J. Dent. Res. 70:1401-1408.
29. Sandham, H.J., Nadeau, L., Phillips, H.I. (1992): The effect of chlorhexidine varnish treatment on salivary mutans streptococcal levels in child orthodontic patients, J. Dent. Res. 71:32-35.
 30. Conventry, J., Newman, H.N. (1982): Experimental use of a slow release device employing chlorhexidine gluconate in areas of acute periodontal inflammation, J. Clin. Periodontol. 9:129-133.
 31. Friedman, M., Golomb, G. (1982): New sustained release dosage form of chlorhexidine for dental use. I. Development and kinetics of release, J. Periodontol. 17:323-328.
 32. Addy, M., Langeroudi, M. (1984): Comparison of the immediate effects of subgingival microflora of acrylic strips containing 40% chlorhexidine, metronidazole or tetracycline, J. Clin., Periodontol. 11:379-386.
 33. Balanyk, T.E., Sandham, H.J., Chan, D. (1983): Dental varnishes for slow intra-oral release of antimicrobial agents, J. Dent. Res. 62:672, Abst. No. 205.
 34. Rosenberg, A., Alatary, S.D., Peterson, A.F. (1976): Safety and efficacy of the antiseptic chlorhexidine gluconate, Surg. Gynecol. Obstet. 143:789-792.
 35. Schiott, C.R., Loe, H. (1972): The sensitivity of oral *streptococci* to chlorhexidine, J. Periodont. Res. 7:192-194.
 36. Hennessey, T.D. (1973): Some antibacterial properties of chlorhexidine, J. Periodont. Res. 8 (Supp. 12): 61-67.
 37. Flötra, L., Gjermo, P., Rolla, G., Waerhaug, J. (1971): Side effects of chlorhexidine mouth rinses, Scand. J. Dent. Res. 79:119-125.
 38. Schaeken, M.J.M., de Jong, M.H., Franken, H.C.M., van der Hoeven, J.S. (1984): Effect of chlorhexidine and iodine on the composition of the human dental plaque flora, Caries Res. 18:401-407.
 39. Zickert, I., Emilson, C.G., Krasse, B. (1982): Effect of caries-preventive measures in children highly infected with the bacterium *Streptococcus mutans*, Arch. Oral Biol. 27:861-868.
 40. Keene, H.J., Shklair, I.L., Mickel, G.J. (1977): Effect of multiple dental floss-SnF₂ treatment on *Streptococcus mutans* in interproximal plaque, J. Dent. Res. 56: 21-27.
 41. Svanberg, M., Loesche, W.J. (1977): The salivary concentration of *Streptococci mutans* and *Streptococci sanguis* and their colonization of artificial tooth fissures in man, Arch. Oral Biol. 22:441-447.

—Abstract—

A STUDY ON THE CHANGES OF THE ROOT SURFACE PLAQUE
FLORA AND GINGIVAL CREVICULAR FLUID ANTIBODY TITERS
AFTER ANTIMICROBIAL VARNISH TREATMENT

Jeong - Wook Do, D. D. S., M. S. D., Hyuk - Choon Kwon, D. D. S., Ph. D.
Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Seoul National University

In the prevention of root surface caries, antimicrobial therapy for the control of subgingival and supragingival plaque is seriously considered as a long term suppression of pathogenic microflora. Recently, varnishes containing antimicrobial agents have been developed to control the supragingival microflora.

The purpose of this study was to determine the antimicrobial effects of 20% chlorhexidine varnish and 2.6% silane fluoride varnish with sealant. In clinical experiments, 12 subjects were selected from the periodontally treated patient and divided into 3 groups. After a dental prophylaxis, the subjects were treated with single application of placebo varnish (group I), 20% chlorhexidine varnish (group II), and 2.6% silane fluoride varnish (group III).

Root surface plaque samples were taken before (baseline) and one, two, four, and 8 weeks after the treatments. Microbiological examinations of root surface plaque were performed with culture study and indirect immunofluorescence (I.I.F.) study, and immunological examination of gingival crevicular fluid antibody titers was performed with ELISA study.

The results were as follows:

1. Pathogenic microflora on the root surface including *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *A. naeslundii*, *A. viscosus* were 24 – 37% on I.I.F. study.
2. *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *A. naeslundii*, *A. viscosus* of the root surface plaque was significantly reduced from 1 week to 8 weeks after antimicrobial varnish treatment, but showed generally increasing tendency in control group.
3. Gingival crevicular fluid antibody titers were significantly reduced from 1 or 2 weeks to 4 weeks after antimicrobial varnish treatment.

Key words: root surface, chlorhexidine varnish, silane fluoride varnish, I.I.F., ELISA, *S. mutans*