

항우식작용을 갖는 여러 항균물질의 조합에 따른 분할 저해 농도 (FIC ; Fractional inhibitory concentration) 지수에 대한 연구

김영재 · 김종철 · 김각균*

서울대학교 치과대학 소아치과학교실, 구강미생물학교실*, 서울대학교 치과대학 치학연구소

국문초록

임상에서 사용하고 있는 8종의 항우식 작용을 갖는 항균물질의 조합이 대표적 우식유발 세균인 *Streptococcus mutans* Ingbritt와 *Streptococcus sobrinus* 6715-7의 성장에 미치는 영향을 조사하고자 세균별로 28개 조합의 각 항균물질에서 최소 저해 농도와 분할 저해 농도 지수를 구하여 여러 기준에 따라 상승작용, 길항작용, 무관함, 부분적 상호작용 등을 각각 평가하였다.

미국 미생물 학회의 지침에 따라 분류하면 약 34%의 조합에서 상승작용이 관찰되었고 Berenbaum의 분류에 따르면 약 82%에서 상승작용을 갖는다고 해석할 수 있었다. 또한 Isenberg가 정의한 부분적 상승작용은 총 조합수의 절반에서 관찰되었다.

분류기준에 따라 다양한 결과를 얻을 수 있었으나 두 가지 항균물질의 조합이 우식유발 세균을 억제하는데 상승작용을 나타내는 경향이 존재함을 관찰할 수 있었고 따라서 우식유발세균을 억제하는데 있어서 항균물질의 단독 사용보다 세균의 생태와 대사의 여러 부분에 영향을 미치는 항균물질의 조합은 유용할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

주요어 : 분할 저해 농도 지수, 항우식, 우식유발 세균, 상승작용

I. 서 론

치아우식증은 세균성 질환으로서 이를 일으키는 세균으로 대표적인 것은 *mutans streptococci*이다. 치아우식증을 예방하기 위한 전략으로 우식유발 세균의 주된 서식처인 치태를 조절하는 것은 필수적으로 칫솔질에 의한 기계적 제거와 더불어 보조적 방법으로서 광범위한 항균범위를 갖는 물질의 사용이 꾸준히 증가하여 구강 양치 용액, 젤, 바니쉬, 구강위생용품에의 첨가제 등 다양한 경로로 이루어지고 있다.

또한 임상적으로 치과재료에 항균물질을 첨가함으로써 우식유발 세균을 억제하여 이차 우식증을 예방하려는 노력이 시도되었고 이에 대한 몇몇 연구¹⁻⁴⁾도 있었으며 연구결과 항균물질의 첨가가 재료의 항균작용을 증가시키기도 하지만 재료의 물성을 떨어뜨린다는 보고^{2,5)}도 많았다. 따라서 적은 양의 항균물질을 첨가하여 물성에의 영향을 최소화하면서 충분한 항우식효과를 얻기 위해 서로 다른 항균물질을 조합하여 사용하는 것이 고려되고 있다.

항우식효과를 가진 것으로 알려진 대표적인 것으로는 chlorhexidine과 불소가 있으며 이들은 각각은 물론이고 서로 조합하여 사용했을 때에도 서로의 항균효과에 영향을 주지 않는다는 것이 보고⁶⁾된 바 있다.

하지만 실제 임상에서 사용되고 있는 다양한 항균물질의 상호작용과 항우식효과에 대한 영향에 대한 연구는 거의 없는 실

정으로 본 연구의 목적은 이러한 항균물질의 조합이 대표적인 우식유발 세균으로 알려진 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 억제효과에 미치는 영향을 일차적으로 평가하기 위한 것으로 상승효과가 있는 항균물질의 조합을 검색하고 항균물질간의 상호작용을 결정하는 여러 기준을 비교해 보기 위하여 계획되었다.

II. 연구 재료 및 방법

S. mutans Ingbritt와 *S. sobrinus* 6715-7을 서울대학교 치과대학 치학연구소 균주은행에서 분양받아 사용하였고 항우식작용을 갖는 항균물질로는 실제 임상에서 사용되고 있는 8종을 선별하였다. 사용된 항균물질은 sanguinarine, chlorhexidine, fluoride, propolis, hydrogen peroxide, triclosan, sodium dodecyl sulfate, cetylpyridinium chloride이고 triclosan(Ciba Specialty Chemicals, Basel, Switzerland)을 제외하고 모두 Sigma사(St Louis, Minneapolis, USA)에서 구입하였으며 각 균주당 28종의 조합을 만들었다.

세균은 Todd-Hewitt배지(Difco, USA)를 사용하여 37℃, 5% CO₂ 존재 하에 배양하였으며 300ml의 균액을 3,000g로 20분간 원심분리 후 0.1M 인산완충용액(PBS)에 부유시켜 OD₆₆₀=0.9가 되도록 맞춘 다음 접종하였다. 최소 저해 농도(MIC; Minimum inhibitory concentration)와 분할 저해 농도(FIC; Fractional inhibitory concentration)의 평가를 위

해 격자판 미량 희석법⁷⁾(checkerboard microdilution technique)을 사용하였다.

96 well plate에 항균물질을 단계 희석하여 배지에 첨가하여 각각 상이한 농도의 항균물질의 조합을 만든 다음 준비한 균액을 접종한 후 37℃, 5% CO₂ 존재 하에 18시간동안 배양하였다.

최소 저해 농도(MIC)는 육안으로 보아 균이 자라지 않는 최소농도로 정하였고 분할 저해 농도(FIC)는 다음과 같이 결정하였다.

항균물질 'A'의 분할 저해 농도

$$= \frac{\text{조합에서의 항균물질 'A'의 최소 저해 농도}}{\text{항균물질 'A' 단독의 최소 저해 농도}}$$

위와 같이 구한 항균물질 'A'의 분할 저해 농도와 마찬가지로 방법으로 구한 항균물질 'B'의 분할 저해 농도와와의 합이 분할 저해 농도 지수의 합(Σ FIC 지수)이 되며 이렇게 구한 Σ FIC 지수가 두 항균물질 'A'와 'B'간에 상승작용이 있는지 길항작용 또

는 관계가 없는지 판단하는데 사용되었다.

미국 미생물 학회의 지침에 따르면 Σ FIC 지수가 0.5이하면 상승작용(synergy)을 갖고 4를 초과하면 길항작용(antagonism)을 갖게 되며 사이 값은 무관함(indifference)이라고 하였다^{7,8)}. 이외에 Σ FIC 지수에 대한 여러 학자들의 평가 기준이 있는데 Berenbaum⁷⁾에 따르면 Σ FIC 지수가 1.0미만이면 상승작용(synergy), 1.0초과하면 길항작용(antagonism)이라고 하였고 1.0일 때에는 상가작용(additivity)일 뿐이라고 하였다. 또한 Isenberg⁹⁾의 부분상승작용의 이론에 따르면 부분적 상승작용(partial synergy)은 Σ FIC 지수가 0.5에서 1.0 사이라고 하였으므로 이 세 가지 분류에 의거 각각 분석하였다.

III. 연구 성적

Σ FIC 지수값의 범위와 평균 그리고 표준편차에 대해서 Table 1에 나타내었다. 모든 측정값은 0.03-4.00사이의 범위

Table 1. Results of Σ FIC index showing the results of the twenty eight combinations of antibacterial agents against *S. mutans* Ingbritt and *S. sobrinus* 6715-7

Combination	<i>S. mutans</i> Ingbritt		<i>S. sobrinus</i> 6715-7		
	Range	Mean (SD)	Range	Mean (SD)	
SG	CHX	0.50-0.75	0.58 (0.09)	0.25-0.38	0.28 (0.05)
SG	F	0.51-0.75	0.58 (0.08)	0.25-0.53	0.35 (0.12)
SG	PP	0.51-0.75	0.58 (0.08)	0.25-0.50	0.33 (0.09)
SG	HP	0.53-0.75	0.61 (0.07)	0.31-0.56	0.46 (0.08)
SG	TC	0.50-1.00	0.65 (0.18)	0.25-0.56	0.32 (0.12)
SG	SDS	0.50-0.53	0.51 (0.01)	1.00-1.50	1.22 (0.15)
SG	CC	1.00-2.50	1.58 (0.45)	0.25-0.56	0.40 (0.14)
CHX	F	0.50-0.56	0.52 (0.02)	0.52-0.63	0.56 (0.04)
CHX	PP	1.00-1.50	1.42 (0.19)	0.28-0.52	0.41 (0.11)
CHX	HP	0.50-0.75	0.63 (0.10)	0.31-0.53	0.46 (0.08)
CHX	TC	1.00-2.00	1.58 (0.34)	0.38-0.63	0.51 (0.07)
CHX	SDS	0.63-1.50	1.02 (0.36)	0.27-0.75	0.42 (0.17)
CHX	CC	0.52-1.00	0.67 (0.17)	0.25-0.31	0.27 (0.02)
F	PP	0.26-0.38	0.30 (0.04)	0.51-0.75	0.58 (0.08)
F	HP	0.50-0.63	0.54 (0.05)	0.56-1.25	0.91 (0.28)
F	TC	0.25-0.53	0.37 (0.11)	0.38-1.00	0.64 (0.19)
F	SDS	0.52-1.25	0.84 (0.27)	0.03-0.13	0.11 (0.07)
F	CC	0.56-1.25	0.88 (0.25)	0.27-0.63	0.42 (0.14)
PP	HP	0.53-0.75	0.61 (0.07)	0.75-1.50	1.29 (0.30)
PP	TC	0.52-1.00	0.67 (0.17)	0.38-0.75	0.58 (0.12)
PP	SDS	0.56-2.50	1.22 (0.64)	0.31-0.56	0.50 (0.09)
PP	CC	0.53-2.00	0.91 (0.51)	0.28-0.56	0.43 (0.11)
HP	TC	0.50-0.63	0.54 (0.05)	0.38-0.63	0.52 (0.08)
HP	SDS	0.75-1.50	1.08 (0.28)	0.52-1.00	0.67 (0.17)
HP	CC	0.52-1.50	0.81 (0.35)	0.50-0.63	0.54 (0.05)
TC	SDS	0.25-0.31	0.27 (0.02)	1.25-4.00	2.63 (1.38)
TC	CC	0.52-0.75	0.62 (0.10)	0.14-0.31	0.23 (0.06)
SDS	CC	0.08-0.28	0.17 (0.08)	1.00-2.00	1.26 (0.34)

SG= Sanguinaria extract ; CHX= Chlorhexidine digluconate ; F= Sodium fluoride ; PP= Propolis ; HP= Hydrogen Peroxide ; TC= Triclosan ; SDS= Sodium Dodecyl Sulfate ; CC= Cetylpyridinium Chloride

Table 2. Interpretation of the drug combination interactions against *S. mutans* Ingbritt and *S. sobrinus* 6715-7 according to The American Society of Microbiology, Berenbaum and Isenberg using the Σ FIC index

	The American Society of Microbiology			Berenbaum		Isenberg	
	Synergy	Indifference	Antagonism	Synergy	Additivity	Antagonism	Partial synergy
	Σ FIC \leq 0.5	$0.5 < \Sigma$ FIC \leq 4.0	Σ FIC $>$ 4.0	Σ FIC $<$ 1.0	Σ FIC=1.0	Σ FIC $>$ 1.0	$0.5 < \Sigma$ FIC $<$ 1.0
<i>S. mutans</i> Ingbritt	4	24	0	22	0	6	18
<i>S. sobrinus</i> 6715-7	15	13	0	24	0	4	9

에 존재하였다.

미국 미생물학회의 약물 상호작용의 해석기준에 따르면 *S. mutans* Ingbritt에서 4종의 조합에서 Σ FIC지수가 0.5이하로 상승작용이 관찰되었고 *S. sobrinus* 6715-7에서는 보다 많은 15종의 조합에서 Σ FIC지수가 0.5이하로 상승 작용을 나타내어 전체적으로 약 34%에서 상승작용을 관찰할 수 있었다. 또한 모든 조합에서 길항작용은 관찰되지 않았다.

많은 치의학자들이 인용하는 Berenbaum의 분류에 따르면 *S. mutans* Ingbritt에서는 모두 22종의 조합에서 Σ FIC지수가 1.0미만으로 상승 작용을 나타내고 6종의 조합에서 길항작용이 나타났으며 *S. sobrinus* 6715-7에서는 24종의 조합에서 상승 작용을 갖고 4종의 조합에서 길항작용을 갖는다고 해석할 수 있으며 따라서 대부분의 조합(약 82%)에서 상승작용을 나타낸다고 볼 수 있었다.

또 다른 분류인 Isenberg의 부분적 상승 작용의 분류에 따라 부분적 상승작용을 갖는 범위에 해당되는 조합은 *S. mutans* Ingbritt와 *S. sobrinus* 6715-7에서 각각 18종, 10종으로 절반의 조합에서 부분적 상승작용을 보였다. 이와 같이 서로 다른 분류기준에 따른 약물의 상호작용에 대한 것은 Table 2에 요약하였다.

IV. 총괄 및 고찰

치태를 조절하여 치아우식증과 치주질환을 감소시키기 위한 전략으로 항균물질의 사용이 시도되고 있는데 이러한 항균제제는 칫솔, 현존하는 치태를 감소시키고, 둘째, 새로운 치태형성을 억제하고, 셋째, 질병과 연관이 있는 세균을 선별적으로 억제하며, 넷째, 세균의 독립인자에 영향을 주는 것으로 작용할 수 있다¹⁰⁾.

항균제의 치태에 대한 작용은 농도에 의존하게 되며 초기에는 상대적으로 높은 농도(최소 저해 농도 이상)로 존재하다가 시간에 따라 점점 분해 대사되어 결국 아저해 농도(sub-inhibitory concentration)로 존재하게 되고 이러한 농도 하에서도 지속적으로 세균을 억제하고 세균의 독립인자에 영향을 미칠 수 있다는 것이 연구되었다¹¹⁾.

치아우식증을 예방하기 위한 화학요법으로서의 항균물질의 중요한 성질은 세균의 집락화와 치태의 성장과 치태에 부착하는 능력 그리고 대사활성을 억제하는 것이다. 이 밖에 요구되는

조건으로서 다른 생리적 과정에 간섭이 없고 점막에 해가 없을 것 그리고 섭취해도 독성이 낮을 것 등이다. 현재 치과 분야에 널리 사용되는 항균물질은 크게 다섯 가지 군으로 나누어 볼 수 있는데 각 군의 대표적인 예와 작용에 대해서는 Table 3에 요약하였다.

이러한 항균물질은 매우 다양한 효율을 나타내며 영향인자로는 항균물질의 전달경로, 농도, 유지정도, 적용시간 그리고 환자의 협조 등이 있다¹²⁾.

본 실험에 사용한 항균물질은 대개 항치태작용과 더불어 치아우식증을 일으키는 Mutans streptococci를 억제하여 항우식작용을 갖게 되는데 각각의 항균물질의 항우식기전에 대해서 살펴보면 sanguinarine은 *Sanguinarine canadensis* L. (bloodroot)의 뿌리에서 추출한 benzophenanthridine alkaloid로서 광범위한 항균효과 뿐 아니라 항염증작용을 갖고 있기 때문에 치과에서의 사용이 확산되고 있다. Sanguinarine의 항치태작용은 치면에 새롭게 형성된 피막에 세균이 부착하는 것을 억제하고 치태 내에서 타액의 10-100배의 고농도로 유지되어 항균작용을 나타내는 특징 때문인 것으로 보고 되었으며 또한 전자현미경 관찰에서 sanguinarine으로 처리한 세균은 응집을 나타내고 형태학적으로 불규칙하게 변형되었다¹³⁾.

Chlorhexidine의 항균효과는 여러 기전에 기인하는 것으로 저농도에서는 세포막의 투과성을 변화시켜 정균작용을 나타내고 고농도에서는 세포내 구조물의 누출을 일으켜 세포질의 파괴를 유도하여 살균작용을 나타낸다. Chlorhexidine은 구강 내에 적용되는 시점에 치태내의 세균에 대해 강한 살균작용을 나타내고 이어 치태 내로 흡수된 후 구강 내로 서서히 방출되면서 지속적인 정균작용을 나타내게 되는 것이다¹⁴⁾.

비슷한 양이온 계열인 cetylpyridinium chloride는 4차 암모늄 화합물로서 많은 종류의 구강 내 세균에 대한 항균작용을 갖고 있고¹⁵⁾ cetylpyridinium chloride를 함유한 구강 양치용액이 치태조절에 효과적이라는 연구¹⁶⁾도 있었으며 구취의 원인 물질인 황화합물과 결합하여 이를 중화시키는 작용이 보고¹⁷⁾되어 구강 양치용액과 치약에 첨가되고 있다.

음이온 계열인 불소는 세균막의 정상적 기능에 영향을 미칠 수 있으며 양전하를 띤 당분해효소가 불소에 의해 그 활성이 억제되고 낮은 pH에서 포도당의 섭취를 억제하기도 한다는 것이 밝혀졌다¹⁸⁾. 이러한 음이온 계열의 제제는 음전하를 띤 세균과 경쟁하여 세균의 부착에 영향을 주는 것이다. 또 다른 음이온

Table 3. Antimicrobial agents available at pharmacies and commercial stores according to their chemical characteristics.

Class of inhibitor	Example	Properties
CATIONS	chlorhexidine, metal ions(copper, zinc), alexidine, cetylpyridinium chloride, hexetidine, sanguinaria extracts	Positively charged ions with the potential to interfere with bacterial membrane function, bacterial adhesion and glucose uptake.
ANIONS	fluoride, sodium dodecyl sulfate	Negatively charged ions with the potential to interfere with bacterial membrane functions, glycolytic metabolism and glucose uptake.
NON-IONIC AGENT	triclosan, essential oils (thymol, eucalyptol)	Non charged ions are believed to inhibit membrane enzymes which leads to reduced glucose uptake.
ENZYMES	amyloglucosidase, glucose oxidase	Some enzymes are suggested to interfere with bacterial adhesion and others to enhance the lysozyme activity
SUGAR ALCOHOL	xylitol, sorbitol, mannitol	Polyols are believed to interfere with bacterial glycolysis.

계 항균물질인 sodium dodecyl sulfate는 계면 활성제로 쓰이는데 단백질 분자와 높은 친화성을 갖고 있어서 강한 변성작용을 일으킨다¹⁹⁾.

Triclosan의 정확한 항균작용기전은 알려지지 않았으나 그람 양성 및 대부분의 그람 음성 세균에 대한 광범위한 살균효과가 보고 되었으며 유기물에 의한 영향이 없기 때문에 치약 뿐 아니라 생활 소비재에 다양하게 첨가되고 있다²⁰⁾. 근래에 triclosan이 특정 부분에만 작용하므로 이를 항생제로 취급해야 하며 내성발현에 대해 경고하는 연구도 보고 된 바 있지만 아직 확립된 것은 아니다.

Propolis는 벌집에서 추출한 성분으로서 이 역시 정확한 기전은 알려져 있지 않으나 우식 유발 세균인 mutans streptococci의 주된 병인효소인 glucosyltransferase를 억제하고 세균이 hydroxyapatite에 부착하는 것을 억제한다는 것이 밝혀졌다²¹⁾. 과산화수소는 전통적인 항균물질로서 상처의 소독 등에 널리 사용되었는데 발생기 산소에 의한 살균작용과 기포에 의한 세정작용 등이 주된 효과로 알려져 있다²²⁾.

상승 작용의 정의에 대해서 Berenbaum⁷⁾은 각각 적용되었을 때보다 함께 적용되었을 때 더욱 효과적인 경우($\Sigma FIC < 1.0$)라고 하였고 미국미생물학회에 따르면 조합에 의해 기대한 값보다 효과가 증가하여 양의 상호작용을 하는 것($\Sigma FIC \leq 0.5$)으로 규정되었다. 본 연구에서는 미국미생물학회의 정의 뿐 아니라 치과계 연구에서 많이 인용된 바 있는 두 가지 정의에 따라 각각 분석해 보았다.

미국미생물학회의 기준에 따라 상승작용($\Sigma FIC \leq 0.5$)을 나타내는 조합은 *S. mutans* Ingbritt과 *S. sobrinus* 6715-7에서 각각 4종과 15종이었으나 Berenbaum⁷⁾의 기준($\Sigma FIC < 1.0$)에 따르면 상승작용을 보이는 항균물질이 각각 22종과 24종으로 무려 80%내외의 조합에서 상승작용을 나타내는 것으로 해석할 수 있다.

Berenbaum⁷⁾이 제시한 것에 따르면 상승작용과 길항작용은 $\Sigma FIC = 1.0$ 으로 양분되어 연구 결과의 해석에 지나친 관용성을 부여하며 또한 실험의 오차를 허용하기 어렵고 이에 따라 상

승작용과 길항작용의 구분이 달라질 수도 있다. 따라서 어떤 기준을 적용하는가에 따라서 분류가 차이가 날 수 있고 기준으로 사용되는 ΣFIC 값이 작을수록 좀 더 엄격하고 확실한 기준이 될 수 있을 것이다.

대부분 치과 약물의 상호작용, 특히 상승작용에 대한 연구는 매우 제한적으로 두 가지 물질 만을 가지고 비교한 것이 대부분으로 이는 여러 가지 약물의 작용기전이 다양하여 결과를 해석하는데 어려움이 있고 실제로 여러 가지 항균물질의 혼합사용은 내성균의 출현이라는 위험 때문에 신중하게 고려해야 하기 때문이다. 치과에서 사용되는 항균물질의 상호작용에 대한 연구는 chlorhexidine^{23,24)}, hexetidine^{25,26)}, triclosan²⁷⁾, sanguinarine²⁸⁾ 그리고 zinc나 copper같은 금속이온에 관한 것이 대부분으로 양이온계열의 항균물질간의 상승작용에 대한 것이다. 본 연구에서는 양이온계와 음이온계 그리고 비이온계의 항균물질을 서로 조합하여 상호작용이 어떻게 나타나는지 검색하고 여러 분류기준에 따라 다르게 해석을 시도하였다. 상승작용의 기준이 엄격해질수록 길항작용의 기준 역시 변화하게 되는데 흥미로운 것은 미국미생물학회의 기준에 의해 길항작용으로 분류되는 조합은 전혀 없었으나 Berenbaum의 기준에 따라 길항작용으로 분류된 10종의 조합 중 6종에 sodium dodecyl sulfate가 속해 있다는 것이다. Sodium dodecyl sulfate가 길항작용을 나타내지 않은 조합은 같은 음이온계열인 불소와의 조합뿐이었다. 이러한 결과는 이 물질이 강한 음전하를 띠고 마찬가지로 음전하를 띠고 있는 세균과 경쟁하여 다른 항균물질이 세균에 작용하는 것을 저해하며 양이온계의 다른 항균물질과 결합하여 항균효과를 감소시키는 것이 원인으로 생각되는데 같은 음이온계인 불소와 양이온계의 조합에서는 길항작용이 관찰되지 않았으므로 여기에 관해서 보다 많은 연구가 필요할 것이다.

미국미생물학회에 의하면 이전의 대부분의 연구에서 상승작용의 기준으로 삼은 $\Sigma FIC < 1.0$ 을 보다 강화된 기준으로 대체하고 과거의 연구를 재해석하려는 노력을 계속하고 있다. Pons 등²⁹⁾은 임상에서 사용되는 여러 화학물질의 상호작용을 비교하

었는데 이들 학자들은 상승작용의 기준으로서 $\Sigma FIC \leq 0.75$ 를 제시하기도 하였다. 그러나 이러한 값을 기준으로 삼은 근거는 밝히지 않았으며 구체적 연구 성적이 제시되고 있지 않아 다양한 기준으로 재평가해볼 수도 없다. Pons 등²⁹⁾의 연구에서의 중요한 점은 그들이 Indifference라는 기준(ΣFIC 가 1.0에서 2.0 사이)을 포함시켰다는 것이며 따라서 길항작용의 기준은 $\Sigma FIC \geq 2.0$ 으로 정의되었다.

지금까지 발표된 구강 내 세균에 대한 항균물질의 상호작용에 대한 연구를 살펴보면 대부분 $\Sigma FIC < 1.0$ 으로 지나치게 상승작용 판별의 기준을 높게 잡았거나 상호작용에 대한 연구방법이 상이한 것들로 해석에 어려움이 있으므로 새로이 소개되는 화학물질을 포함하여 지속적 연구가 필요할 것이다. 그러나 이러한 *in vitro* 실험과 실제 *in vivo* 조건과는 많은 차이가 있을 수 있다. 항균물질의 생체 내에서의 유지 정도와 다른 유기물, 무기물의 존재에 따라 항균물질이 이들과 결합함으로써 활성도가 변화할 수 있으며 변수를 고정시켜 일정하게 조절 가능한 실험실 조건과는 달리 실제 구강 내 생태계에는 다양한 변수가 존재할 수 있기 때문이다. 따라서 약물의 상호작용에 대한 *in vitro* 연구는 실제 임상에 적용하기 이전의 준비 연구의 일환으로서 평가해야 하고 다소 엄격한 기준이 적용되어 임상연구의 효율을 높이고 다양한 변수를 허용할 수 있는 방법과 기준을 적용하는 것이 바람직하다고 할 수 있다.

본 연구에서는 분류기준에 따라 상승작용, 길항작용 및 부분적 상승작용 등의 상이한 결과를 얻을 수 있었고 항균물질의 조합이 상승작용의 경향을 갖는다는 것을 관찰하였으며 이를 토대로 항균물질의 조합이 우식유발세균의 독력인자에 미치는 영향에 대한 연구와 나아가 *in vivo* 연구로의 진전이 필요하리라 생각한다.

V. 결 론

우식 유발 세균인 *S. mutans* Ingbritt와 *S. mutans* 6715-7에 대한 8종의 항균물질조합의 상호작용을 ΣFIC 지수로 분석해본 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 미국 미생물학회의 분류에 따르면 *S. mutans* Ingbritt에서 4종류의 조합에서, *S. sobrinus* 6715-7에서는 보다 많은 15종의 조합에서 상승 작용을 나타내어 전체적으로 약 34%에서 상승작용을 관찰할 수 있었고 길항작용은 관찰되지 않았다.
2. Berenbaum의 분류에 따르면 *S. mutans* Ingbritt에서는 모두 22 종의 조합에서 상승 작용을 나타내고 6종의 조합에서 길항작용이 나타났으며 *S. sobrinus* 6715-7에서는 24 종의 조합에서 상승 작용을 갖고 4종의 조합에서 길항작용을 나타내었으며 대부분의 조합(약 82%)에서 상승작용이 관찰되었다.
3. Isenberg의 부분적 상승 작용의 분류에 따르면 *S. mutans* Ingbritt와 *S. sobrinus* 6715-7에서 각각 18종, 10종으로

절반의 조합에서 부분적 상승작용을 보였다.

분류기준에 따라 상이한 결과를 얻을 수 있었으나 두 가지 항균물질의 조합이 우식유발 세균을 억제하는데 상승작용을 나타내는 경향이 존재함을 관찰할 수 있었고 우식유발세균을 억제하는데 있어서 항균물질의 단독 사용보다 세균의 생태와 대사의 여러 부분에 영향을 미치는 항균물질의 조합은 유용할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Jedrychowski JR, Caputo AA, Kerper S. : Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. J Oral Rehabil, 10:373-381, 1983.
2. Ribeiro J, Ericson D. : *In vitro* antibacterial effect of chlorhexidine added to glass-ionomer cements. Scand J Dent Res, 99:533-540, 1991.
3. Brackett WW, Rosen S. : The antimicrobial action of chlorhexidine-containing zinc-phosphate cement. Operative Dentistry, 19:106-109, 1994.
4. Botelho MG, Coogan MM, Becker P. : Antibacterial effect of glass ionomer cement mixed with antibacterial agents. J Dent Res, 75:1306, 1996.
5. Botelho MG. : Compressive strength of a glass ionomer cement with antibacterial agents. J Dent Res, 77:1352, 1998.
6. Meurman JH. : Ultrastructure, growth, and adherence of *Streptococcus mutans* after treatment with chlorhexidine and fluoride. Caries Res, 22:283-287, 1988.
7. Berenbaum MC. : A method for testing for synergy with any number of agents. J Infect Dis, 137:122-130, 1978.
8. Eliopoulos GM, Eliopoulos CT. : Antibiotic combinations : should they be tested? Clin Microbiol Rev, 1:139-156, 1988.
9. Isenberg HD. : Synergism testing: broth microdilution and broth macrodilution methods. In : Hindler J. Editor. Microbiology ASM. Clinical microbiology procedure handbook, 1992.
10. Marsh PD. : Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. J Dent Res, 71:1431-1438, 1992.
11. Marsh PD. : Antimicrobial strategies in the prevention of dental caries. Caries Res, 27:72-76, 1993.
12. Dahlmen P. : Anti-microbial agents and treatments with special reference to dental caries. Dep. of

- Cariology, Faculty of Odontology, Malmo University, Sweden.
13. Godowski KC. : Antimicrobial action of sanguinarine. *J Clin Dent*, 1:91-101, 1989.
 14. Schaeken MJM, van der Hoeven JS, Hendriks JCM. : Effects of varnishes containing chlorhexidine on the human dental plaque flora. *J Dent Res*, 68:1786-1789, 1989.
 15. Smith RN, Andersen RN, Kolenbrander PE. : Inhibition of intergeneric coaggregation among oral bacteria by cetylpyridiniumchloride, chlorhexidine digluconate and octenidine dihydrochloride. *J Periodontal Res*, 26(5):422-8, 1991.
 16. Renton-Harper P, Addy M, Moran J, et al. : A comparison of chlorhexidine, cetylpyridinium chloride, triclosan, and C31G mouthrinse products for plaque inhibition. *J Periodontol* 167(5):486-9, 1996.
 17. van Steenberghe D, Avontroodt P, Peeters W, et al. : Effect of different mouthrinses on morning breath. *J Periodontol*, 72(9):1183-91, 2001.
 18. Bradshaw DJ, Mckee AS, Marsh PD. : Effects of carbohydrate pulses and pH on population shifts within oral microbial communities in vitro. *J Dent Res*, 68:1298-1302, 1989.
 19. Kjaerheim V, Skaare A, Barkvoll P, Rolla G. : Antiplaque, antibacterial, and anti-inflammatory properties of triclosan mouthrinses in combination with zinc citrate or polyvinylmethylether maleic acid(PVM-MA) copolymer. *Eur J Oral Sci*, 104(5-6):529-534, 1996.
 20. Kjaerheim V, Waaler SM, Rolla G. : Significance of choice of solvents for the clinical effect of triclosan-containing mouthrinses. *Scand J Dent Res*, 102(4):202-205, 1994.
 21. Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. : Effects of propolis on dental caries in rats. *Caries Res*, 25(5):347-351, 1991.
 22. Tenovuo J, Knuutila ML. : The antibacterial action of the various components of the lactoperoxidase system on a cariogenic strain of *Streptococcus mutans*. *J Dent Res*, 56(12):1603-1607, 1977.
 23. Giertsen E, Scheie AA, Rolla G. : Inhibition of plaque formation and plaque acidogenicity by zinc and chlorhexidine combinations. *Scan J Dent Res*, 62:135-137, 1988.
 24. Giertsen E, Scheie AA, Rolla G. : Antimicrobial and antiplaque effects of a chlorhexidine and Triton X-100 combination. *Scan J Dent Res*, 97:233-241, 1989.
 25. Grytten J, Scheie AA, Giertsen E. : Synergistic antibacterial effects of copper and hexetidine against *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus sanguis*. *Acta Odontol Scan*, 46:181-183, 1988.
 26. Giertsen E, Svaton B, Saxton A. : Plaque inhibition by hexetidine and zinc. *Scan J Dent Res*, 95:49-54, 1987.
 27. Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, et al. : The effects of triclosan and zinc citrate, alone and in combination, on a community of oral bacteria grown *in vitro*. *J Dent Res*, 72:25-30, 1993.
 28. Eisenberg AD, Young DA, Fan-Hsu, et al. : Interactions of sanguinarine and zinc on oral streptococci and *Actinomyces* species. *Caries Res*, 25:185-190, 1991.
 29. Pons JL, Bonnaveiro N, Chevalier J, et al. : Evaluations of antimicrobial interactions between chlorhexidine, quaternary ammonium compounds, preservatives and excipients. *J Appl Batriol*, 73:395-400, 1992.

Reprint request to:

Young-Jae Kim, D.D.S., M.S.

Clinical Instructor

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

28-1, Yeongun-Dong, Chongno-Gu, Seoul, 110-749, Korea

E-mail : neokarma@kornet.net

Abstract

A STUDY ON THE FRACTIONAL INHIBITORY CONCENTRATION(FIC) INDEX OF
COMBINATIONS OF ANTICARIOGENIC AGENTS

Young-Jae Kim, Chong-Chul Kim, Kack-Kyun Kim*

Department of Pediatric Dentistry, Department of Oral Microbiology and Immunology,
Dental Research Institute, Seoul National University*

The effect of combinations of 8 antimicrobial agents on the growth of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* was investigated with the minimum inhibitory concentration and fractional inhibitory concentration(FIC) and Σ FIC index. According to the Σ FIC values by The American Society for Microbiology and Berenbaum, Approximately 34% and 82% of the combinations were synergistic respectively. Partial synergy described by Isenberg was also observed in the half of the combinations.

There was a tendency for additive antimicrobial effect against cariogenic bacteria though the test results showed difference according to the applied values. It may be beneficial to use combined antimicrobial agents that have various activities against an ecosystem and metabolism of bacteria than using individual agents.

Key words : Fractional inhibitory concentration index, Anticariogenic, Cariogenic bacteria, Synergistic