

## 각종 치과레이저의 *Streptococcus mutans*에 대한 증식 및 기능억제 효과

한강석 · 국중기\* · 유소영\* · 김화숙\* · 박종휘 · 박현동 · 이상호

조선대학교 치과대학 소아치과학 교실, 구강생화학교실\* 및 조선대학교 구강생물학연구소

### 국문초록

레이저의 구강내 산 생성 세균인 *S. mutans*에 대한 증식 및 기능 억제효과를 평가하기 위하여 *S. mutans* KCTC 3065가 포함된 세균 pellet에 Er:YAG 레이저와 Nd:YAG 레이저를 비접촉식 방법으로, 조사세기 50mJ, 조사시간 5초, 그리고 pulse repetition rate를 각각 10Hz와 30Hz로 하여 조사하고 세균 균락수, 산 생성능, 불용성 세포외다당류의 합성량을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Chinese ink로 photosensitization을 시행한 후 Nd:YAG 레이저를 조사한 경우가 *S. mutans*의 증식을 가장 많이 억제하였으며 Er:YAG 레이저 조사도 증식을 억제하였다. 그러나 Chinese ink를 사용하지 않고 Nd:YAG 레이저를 단독으로 조사한 경우는 *S. mutans*의 증식을 억제하지 못하였다.

레이저 조사조건 중 pulse repetition rate는 전반적으로 세균 증식억제에 영향을 미치지 못하였다.

2. Chinese ink로 photosensitization을 시행한 후 Nd:YAG 레이저를 조사한 경우가 일정기간 동안 *S. mutans*의 산 생성능을 가장 많이 억제하였으며 Er:YAG 레이저 조사도 산 생성능을 억제하였다. Chinese ink를 사용하지 않고 Nd:YAG 레이저를 단독으로 조사한 경우는 *S. mutans*의 산 생성능을 억제하지 못하였다. Er:YAG 레이저와 Chinese ink로 photosensitization을 시행한 후 Nd:YAG 레이저를 조사한 경우는 pulse repetition rate가 클수록 전반적으로 세균의 산 생성능을 더 많이 억제하였다.

3. 레이저 조사는 *S. mutans*의 불용성 세포외다당류의 합성에 영향을 미치지 못하였다.

이상의 결과로 보아 Er:YAG 레이저와 Chinese ink로 photosensitization을 시행한 후의 Nd:YAG 레이저 조사는 일정 시간 동안 *S. mutans*의 증식과 산 생성능을 억제시키므로써 치아우식증 예방효과를 얻을 수 있다고 사료되나 억제효과가 오래가지 않아 임상적으로 효과를 얻기 위해서는 자주 조사를 해주어야 한다는 문제점을 안고 있어 임상적으로 치아우식증 예방이란 단독 목적으로 사용하기에는 실용성이 크지 않다고 사료된다

**주요어** : Er:YAG 레이저, Nd:YAG 레이저, *Streptococcus mutans*, Photosensitization

### I. 서 론

레이저는 치의학분야에서 치질삭제 및 연조직 절개 등 여러 분야에서 사용되고 있으나 그 중에서도 치아삭제에 관해 많은 관심이 집중되고 있다. 그러나 치아 삭제능력이 아직까지는 만족스럽지 않고 레이저 조사에 따른 치면에서의 열 상승으로 인하여 치수에 손상을 줄 수 있는 가능성 때문에 그 사용이 조심스럽게 이루어지고 있다.

이외에도 레이저를 치면에 조사해 치아의 내산성을 증가시키므로써 치아우식증을 예방하려는 시도<sup>1-3)</sup>, 근관의 확대 및 근관의 소독<sup>4-7)</sup>, 치석의 침착 예방 및 제거<sup>8)</sup> 등 여러 분야에서 사용 가능성이 타진되고 있다.

이중에서도 최근 레이저를 이용해 근관 내 세균을 살균하므로써 근관소독을 시행하는 방법에 대한 관심이 고조되고 있는데, Stabholz 등<sup>9)</sup>은 엑시머 레이저는 *S. mutans*의 성장을 억제하므로써 근관 내 살균이 가능하다고 하여 레이저의 근관치료

\*이 논문은 과학기술부 한국과학재단 지정 지역협력연구센터인 레이저응용 신기술개발 연구센터의 2003년도 연구비 지원에 의해 연구되었음.

분야에서의 사용 가능성에 대해 보고하였으며, Mehl 등<sup>5)</sup>은 Er:YAG 레이저의 근관내 *Streptococcus sanguis*의 살균효과에 대해 보고한 바 있다. 이외에도 Hooks 등<sup>4)</sup>은 탄산가스 레이저를 사용하여 근관치료 기구인 reamer에 부착된 여러 가지 균을 살균하였다고 하였으며 Moritz 등<sup>6)</sup>은 Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG 레이저의 근관 내 살균효과에 대해 보고한 바 있다.

이외에도 Schultz 등<sup>10)</sup>은 Nd:YAG 레이저를 조사하여 만성 골수염을 유발하는 대표적인 세균인 *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia Coli*의 증식을 억제하였다고 보고하였다. Wilson<sup>7)</sup>은 He-Ne 레이저나 GaAs 레이저 등의 저출력 레이저도 *Streptococcus sanguis*, *Fusobacterium nucleatum* 등의 세균에 살균효과가 있다고 하였으나 Burn 등<sup>11,12)</sup>은 저출력 레이저는 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus casei* 등의 구강내 산 생성 세균에게는 효과가 없다고 하여 상반된 보고를 하였다.

레이저의 세균에 대한 증식억제 혹은 살균 작용은 광열작용, 광화학작용, 광기계작용 등 여러 가지 기전으로 설명하고 있지만 레이저의 종류 또는 세균에 종류에 따른 효과는 다양하게 보고되고 있다. 그러나 레이저의 파장과 세균의 세포의 화학적 조성사이의 상호작용이 살균효과를 좌우하는 중요한 요인으로 추정되고 있다.

치아우식증의 치료는 연화된 우식 상아질의 제거가 우선적으로 시행되어야 하는데, 이 과정에서 감염된 우식치질을 충분히 제거하지 않으면 세균에 의해 재 감염되어 이차적인 우식을 유발하는 계기를 제공하게 된다. 현재까지 치질의 제거나 지각과 민의 처치에 많이 사용되고 있는 Er:YAG나 Nd:YAG 레이저의 구강내 산 생성 세균에 대한 증식억제 효과에 관한 연구는 미진한 편이다.

레이저를 이용해 치질을 제거하는 과정에서 감염된 우식 상아질에 존재하는 세균을 억제할 수 있다면 이차 치아우식증의 예방에 효과가 있다고 사료된다. 또한 레이저를 직접 치면의 치태에 조사하여 세균의 증식을 억제할 경우 레이저는 치질삭제 뿐 아니라 치아우식증의 예방목적으로 활용될 가능성이 크다고 하겠다.

따라서 본 연구는 Er:YAG와 Nd:YAG 레이저의 구강내 산 생성 세균중의 하나인 *Streptococcus mutans*에 대한 증식 및 기능 억제효과를 평가하는데 그 목적이 있다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 레이저

파장 2940nm, 최대출력 15W, pulse repetition rate의 범주가 2-50Hz인 Er:YAG mode와 파장 1064nm, 최대출력

15W, pulse repetition rate의 범주가 10-100Hz인 Nd:YAG mode를 갖는 dual type의 레이저(Fidels Plus<sup>®</sup>, Fotona, Slovenia)를 사용하였다. 이때 사용한 handpiece는 비접촉 조사방식의 RO2 model(Er:YAG mode)과 300  $\mu$ m의 SMA 905 fiber connector(Nd:YAG mode)를 사용하였으며 초점거리는 7mm로 조정하였다. 레이저의 광 전달계는 Er:YAG mode는 articulated arm형태, 그리고 Nd:YAG mode는 optic fiber 형태였다.

#### 2) 세균

한국 생명공학연구소 유전자원센터 유전자은행 (Korean Collection for Type Cultures, Daejeon, Korea)에서 분양받은 *Streptococcus mutans* KCTC 3065을 사용하였다.

## 2. 실험방법

### 1) 세균 배양

*S. mutans*는 Brain heart infusion (BHI) 액체배지에 접종하거나 BHI 한천배지에 도말하여 37 $^{\circ}$ C CO<sub>2</sub> 세균 배양기에서 배양하여 사용하였으며, 산 생성능 변화 및 세포외다당류 합성능 실험을 위해서는 BHI 액체배지에 5% Yeast extract와 10% 자당을 첨가(BHI-YS)하여 배양하였다.

BHI 한천배지에 *S. mutans*를 도말하고 이를 24시간 배양한 다음, 하나의 균락을 10 ml의 BHI 액체배지에 접종하여 24시간 동안 배양하고, Microplate Autoreader(Model: EL311SX, BIO-TEX Instruments Inc., Cortland, NY, USA)를 이용하여 450 nm의 파장에 대한 흡광도(A<sub>450</sub>)가 0.1로 일정하게 세균배양액을 희석하였다. 레이저 조사를 위해 100  $\mu$ l의 세균 배양액을 eppendorf tube에 옮기고 원심분리(5,000 $\times$ g, 3분간)하여 상청액을 제거하고 세균 pellet을 얻었다.

### 2) 레이저 조사의 *S. mutans* KCTC 3065에 대한 증식 억제 효과 평가

레이저 조사에 따른 *S. mutans* KCTC 3065의 증식 억제효과를 알아보기 위하여 2.94  $\mu$ m 파장의 Er:YAG 레이저와 1.06  $\mu$ m 파장의 pulsed Nd:YAG 레이저를 사용하여 비접촉식 방법으로 조사하였다. 조사세기는 pulse당 50 mJ로 조사하였으며 이때 pulse repetition rate는 10Hz와 30Hz의 두 종류를 사용했다. 또한 조사시간은 5초로 하였다. Nd:YAG 레이저는 목표 물체의 색조에 따라 흡수도에 영향을 많이 받으므로 Chinese ink로 염색한 경우와 그렇지 않은 경우로 나누어 조사하였다. 각각의 실험은 독립적으로 8번 반복하여 시행하였다.

레이저를 조사한 각각의 세균 pellet에 100  $\mu$ l의 BHI-YS 세균배양액을 넣고 세균 pellet을 잘 현탁한 다음, 10  $\mu$ l씩을 새로운 200  $\mu$ l의 BHI-YS 세포배양액에 접종하였다. 이를 37 $^{\circ}$ C CO<sub>2</sub> 세균 배양기에서 배양하였다. 이 때 2, 4, 8, 12, 16, 20,

24시간마다 세균의 성장 정도를 알아보기 위하여 Microplate Autoreader를 이용하여 450 nm의 파장에 대한 흡광도를 측정하였다. 이때 레이저를 조사하지 않은 세균 pellet을 대조군으로 사용하였다.

3) 레이저 조사의 *S. mutans* KCTC 3065에 대한 산 생성 억제효과 평가

레이저의 조사가 *S. mutans* KCTC 3065의 산 생성능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 레이저를 조사하지 않은 경우를 대조군으로 하고, 레이저를 조사한 군을 실험군으로 분류하였다. 세균을 접종하기 전 세균 배양액의 pH는 7.0로 조절하였다.

상기 2)와 같이 Er:YAG와 Nd:YAG 레이저를 각각 조사하고, 세균 pellet을 회석하고, 새로운 200  $\mu$ l의 BHI-YS 세균 배양액에 접종하여 24시간 동안 배양하였다. 24시간 동안 배양하면서 세균 배양액의 수소이온농도지수를 pH electrode(Model 91-5/06, Orion Research Inc., U.S.A.)와 pH meter(Model 920, Orion Research Inc., U.S.A.)를 이용하여 12, 16, 20, 24시간마다 산 생성 정도를 측정하였다.

4) 레이저 조사의 *S. mutans* KCTC 3065에 대한 불용성 세포외다당류 합성에 미치는 영향 평가

레이저의 종류와 조사방법에 따른 *S. mutans* KCTC 3065의 불용성 세포외다당류 합성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 레이저를 조사하지 않은 군을 대조군으로 하고, 조사조건을 상기의 2)항과 같이하여 레이저를 조사한 경우를 실험군으로 하여 불용성 세포외다당류인 글루칸의 양을 측정하였다.

Er:YAG와 Nd:YAG 레이저를 각각 조사한 후 세균 pellet을 회석하고, 새로운 200  $\mu$ l의 BHI-YS 세균 배양액에 접종하여 24시간 동안 배양한 다음 불용성 세포외다당류를 정량하였다. 이를 위해 우선 세균배양액을 5,000 $\times$ g에서 15분간 원심

분리하여 세균 pellet을 얻고, 이를 1 ml의 1 $\times$ PBS로 세척한 다음 이를 다시 위와 같은 조건에서 원심분리하여 상청액은 버리고, 세균 pellet만을 얻는다. 이러한 세척 과정을 1회 반복한 다음 0.4 ml의 0.5 N NaOH를 넣고 실온에서 90분간 방치한 다음 5,000 $\times$ g에서 15분간 원심분리하여 상청액 0.2 ml를 새로운 eppendorf tube로 옮기고, 여기에 0.1ml의 1N HCl를 넣어 상청액을 중화시킨다. 여기에 0.9ml의 메탄올을 넣고 5,000 $\times$ g에서 10분간 원심분리하여 상청액은 버리고, pellet을 0.4ml의 Sulfuric acid/Water(5:1)에 녹인다. 이 중에서 0.1 ml을 0.1 ml의 0.5% phenol과 즉시 섞은 다음 0.5 ml의 고농도 황산을 넣고 즉시 교반한 다음 실온에서 20분간 반응시키고, 495nm 파장에서 흡광도 (A<sub>495</sub>)를 측정하였다.

III. 실험 성적

1. 레이저 조사의 *S. mutans* KCTC 3065에 대한 증식 억제 효과

레이저를 조사하지 않은 대조군은 4시간 후부터 증식을 시작하여 24시간 경과시 성장율이 완만해지는 전형적인 "S" curve 형의 성장곡선을 보였으나 Er:YAG 레이저를 조사한 군은 8시간부터 증식이 시작되므로써 레이저 조사에 의한 증식억제 효과를 보여주고 있으며 12시간, 16시간, 20시간(30Hz 조사군) 경과시에도 대조군에 비해 균의 증식이 현저히 낮은 상태를 보이고 있다(P<0.05)(Fig. 1).

Nd:YAG 레이저의 경우 레이저를 조사한 경우 대조군과 같이 전형적인 "S" curve 형의 성장곡선을 보이고 있으나 12, 16, 20, 24시간 경과시 대조군에 비해 오히려 증식이 더 이루어진 현상을 보이고 있다(P<0.05)(Fig. 2)

세균 pellet을 Chinese ink로 염색하여 photosensitization 시킨 후 Nd:YAG 레이저를 조사한 경우 20시간 경과시부터 증

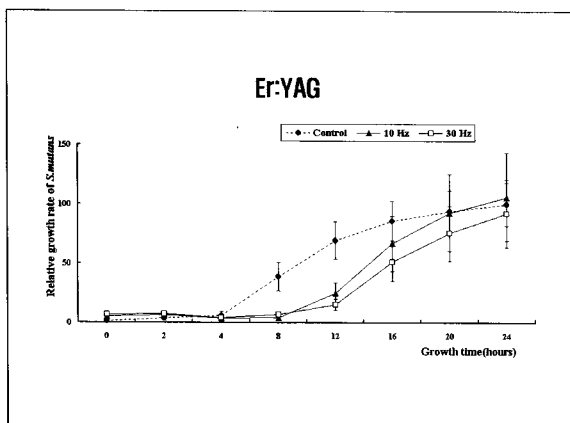


Fig. 1. Relative colony count of *S. mutans* according to pulse repetition rate of Er:YAG laser.

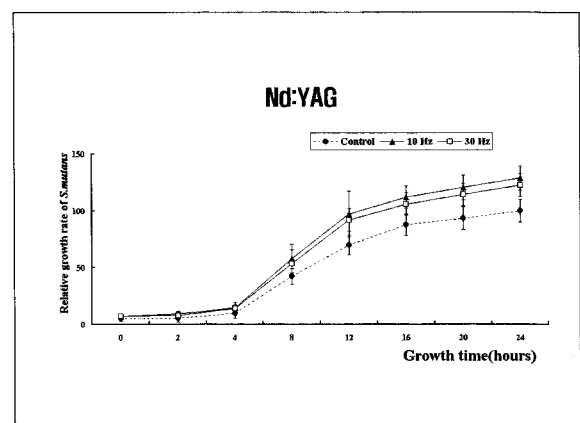
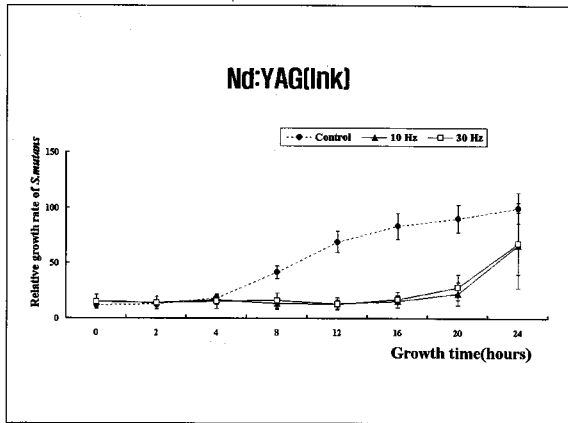


Fig. 2. Relative colony count of *S. mutans* according to pulse repetition rate of Nd:YAG laser.

식이 시작되므로써 4시간부터 증식이 시작되는 대조군에 비해 현저히 증식이 억제되는 현상을 보이고 있다( $P<0.05$ ) (Fig. 3).



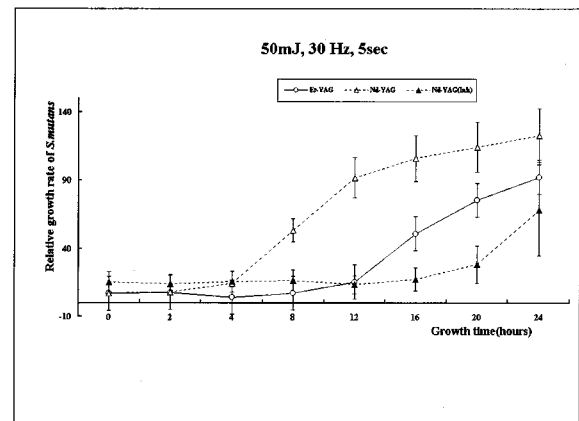
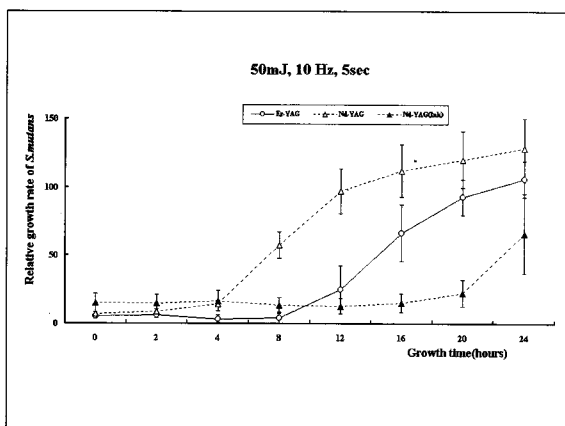
**Fig. 3.** Relative colony count of *S. mutans* according to pulse repetition rate of Nd:YAG laser photosensitized with Chinese ink.

레이저 종류와 photosensitization 여부에 따른 증식억제 효과를 비교한 결과 Er:YAG 레이저가 Nd:YAG 레이저에 비해 억제효과가 크게 나타났으나 Chinese ink로 photosensitization을 시행하고 Nd:YAG 레이저를 조사한 경우 보다는 억제효과가 낮은 것으로 나타났다(Fig. 4). Pulse repetition rate에 따른 증식 억제효과의 차이는 없는 것으로 나타났다.

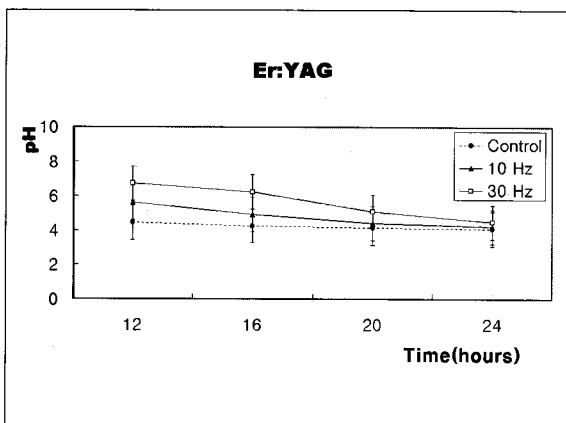
## 2. 레이저 조사의 *S. mutans* KCTC 3065에 대한 산 생성 억제효과

Er:YAG 레이저의 경우 레이저를 조사하지 않은 대조군에 비해 레이저를 조사한 군이 12시간, 16시간에서 pH가 통계학적으로 유의하게 ( $P<0.05$ ) 높게 관찰되었다(Fig. 6). 그러나 24시간 경과 후 대조군의 pH는 4.0, 실험군의 pH는 각각 4.2(10Hz), 4.5(30Hz)로 양 군간의 차이가 없었다. Pulse repetition rate가 높을수록 16시간 경과시까지 산 생성능을 억제하는 효과가 크게 나타났다(Fig. 5).

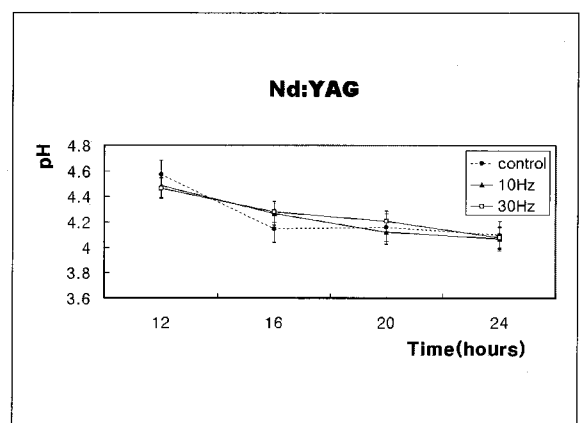
Nd:YAG 레이저의 경우 레이저 조사가 *S. mutans*의 산 생



**Fig. 4.** Relative colony count of *S. mutans* according to the types of laser with irradiation condition.



**Fig. 5.** pH changes in BHI-YS broth after irradiation of Er:YAG laser.



**Fig. 6.** pH changes in BHI-YS broth after irradiation of Nd:YAG laser.

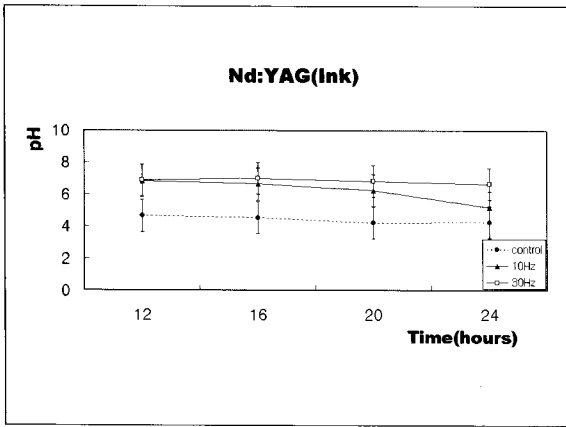


Fig. 7. pH changes in BHI-YS broth after irradiation of Nd:YAG laser photosensitized with Chinese ink.

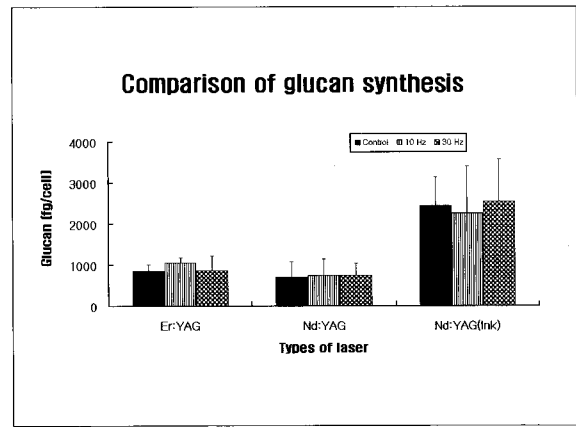


Fig. 8. Comparison of extracellular polysaccharide production according to types of laser and irradiation parameter(pulse repetition rate).

성능에 영향을 주지 못하였다(Fig. 6).

그러나 Chinese ink로 photosensitization을 시행하고 Nd:YAG 레이저를 조사한 경우는 *S. mutans*의 산 생성능에 많은 영향을 주어 24시간 경과시 30Hz인 경우 pH가 6.6으로 거의 낮아지지 않았으며, 10Hz인 경우 pH가 5.2로 대조군의 4.2에 비해 유의하게 높게 나타났다( $P < 0.05$ )(Fig. 7).

### 3. 레이저 조사가 *S. mutans* KCTC 3065의 불용성 세포외다당류 합성에 미치는 영향

Er:YAG 레이저의 경우 레이저를 조사한 경우 24시간 경과 후 1마리 당 각각 1057µg/600µl(10Hz), 873µg/600µl(30Hz)의 불용성 세포외다당류를 생성하였으며 대조군은 860 µg/600 µl의 불용성 세포외다당류를 생성하므로써 레이저 조사에 따라 통계적으로 유의할만한 세포외다당류 합성의 차이를 보여주지 않았다( $P > 0.05$ ).

Nd:YAG 레이저의 경우 역시 레이저를 조사한 경우는 746 µg/600µl(10Hz), 741µg/600µl(30Hz)의 불용성 세포외다당류를 생성하였으며, 대조군은 707µg/600µl의 불용성 세포외다당류를 생성하므로써 레이저 조사에 따른 세포외다당류 합성의 차이를 보여주지 않았다( $P > 0.05$ ).

Chinese ink를 사용하여 photosensitization을 시킨 후 Nd:YAG 레이저를 조사한 경우는 2251µg/600µl(10Hz), 2550µg/600µl(30Hz)의 불용성 세포외다당류를 생성하였으며 대조군은 2443µg/600µl의 불용성 세포외다당류를 생성하므로써 레이저 조사에 따른 세포외다당류 합성의 차이를 보여주지 않았다( $P > 0.05$ ).

그러나 Chinese ink로 세균 pellet을 염색하고 Nd:YAG 레이저를 조사한 경우는 Er:YAG 레이저와 Nd:YAG 레이저를 단독으로 조사한 경우 보다 대조군과 실험군 모두에서 통계적으로 유의할만한 불용성 세포외다당류 증가가 관찰되었는데

( $P < 0.05$ ), 이는 Chinese ink가 흡광도 측정에 영향을 주었기 때문으로 생각된다(Fig. 8).

## IV. 총괄 및 고찰

치아우식증과 치주질환을 예방하고 치료하기 위한 항미생물 제제에 대한 관심이 높아지면서 구강내 chlorhexidine이나 triclosan 같은 소독제 혹은 minocycline 같은 항생제의 사용이 증가되고 있다<sup>13-18</sup>. 그러나 이와같은 소독제 혹은 항생제의 빈번한 사용 혹은 장기적인 사용은 해당 미생물의 저항성을 높여 시간이 지남에 따라 약효가 감소될 뿐 아니라 구강 및 장내의 정상적인 세균군락을 파괴하므로써 감염에 대한 저항력을 떨어뜨릴 수 있다<sup>19</sup>.

따라서 근래에는 이와 같은 약제를 사용하지 않고 빛을 사용하는 물리적인 제거방법에 대한 관심이 증가되고 있다. 그 중에서도 단색성이며 응집력이 강해 많은 에너지를 포함하고 있는 레이저가 세균에 대한 항균 혹은 살균효과를 가지고 있는 것으로 알려지고 있다.

이와 같은 레이저의 세균에 대한 영향력을 좌우하는 가장 중요한 요소는 파장인데, 그 이유는 파장은 세균에 대한 흡수율을 결정하기 때문이다. 이밖에 세균의 생존에 영향을 줄 수 있는 요소들로는 조사에너지, pulse repetition rate, 조사시간 등을 들 수 있으며 생물학적 요인으로는 세균의 색과 구성물질의 열전도율, 수분의 함량, 유기물의 함량 등을 들 수 있다<sup>7</sup>.

레이저 조사시 세균의 생존이나 대사작용의 변화를 초래하는 광학적 요인으로 광열작용, 광기계작용, 광화학작용 등을 들 수 있는데, 이중 광열작용은 세포 단백질의 분자간 화학결합을 분리시키므로써 세포기능의 파괴를 초래하며<sup>5</sup> 광기계 작용은 초음파를 발생하여 세균의 기질을 파괴한다<sup>20</sup>. 또한 광화학작용은 조직내에서 형성된 자유기(free radical)에 의해 세균의 대사를 방해하므로써 살균효과를 나타내게 된다<sup>21,22</sup>.

치아삭제나 연조직 절개 목적 이외에 레이저를 구강내 조사하는 목적은 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus casei* 등의 산 생성 세균을 증식을 억제하여 치아우식증을 예방하거나<sup>23,24)</sup>, *Actinobacillus actinomycetem comiyans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus sanguis* 등의 치주질환을 유발하는 세균의 증식을 억제하므로써 치주질환의 예방이나 치료<sup>7,25)</sup>, 근관치료시 근관 내부의 살균<sup>5,6,26)</sup>, 그리고 reamer나 file등의 기구 소독<sup>4)</sup> 등 크게 몇 가지가 있다. 이 중에서도 근관 내 세균의 살균에 대한 연구가 주로 이루어지고 있으며 레이저를 이용한 근관 내 소독은 실제 임상에서 많이 사용되고 있다. 레이저의 세균에 대한 조사 효과에 대해 여러 연구, 보고가 있었는데 대부분이 Nd:YAG, Er:YAG, 탄산가스, 아르곤 레이저 등 고출력 레이저를 대상으로 하였으며<sup>5,6,25-27)</sup> 일부 연구에서는 He-Ne, Diode 레이저 등의 저출력 레이저의 조사 효과에 대해 보고하고 있다<sup>11,28,29)</sup>.

본 연구에서는 레이저의 종류에 따라 파장이 각각 다르므로 구강내에서 산 생성을 하는 대표적인 세균인 *Streptococcus mutans*에 어떤 종류의 레이저가 가장 효과적으로 증식을 억제하는지를 알아보려 하였다. 또한 레이저 중 Nd:YAG 레이저는 검정색에 흡수가 잘되므로 photosensitization이 가능하여 세균의 집락을 검정 염색제로 착색하여 그 효과를 평가하고자 하였다.

레이저를 조사하지 않은 대조군은 4시간 후부터 가시적인 증식을 시작하여 24시간 경과시 성장율이 완만해지는 전형적인 "S" curve형의 성장곡선을 보였으나 Er:YAG 레이저를 조사한 군은 8시간부터 증식이 시작되므로써 레이저 조사에 의한 증식 억제 효과를 나타내고 있으며 12시간, 16시간, 20시간 경과시에도 대조군에 비해 균의 증식도가 현저히 낮은 상태를 보이고 있다(Fig. 1). 송<sup>30)</sup>은 10 $\mu$ l 세균배양액에 레이저를 50-150mJ로 조사할 경우 최저 6.2 $^{\circ}$ C에서 최고 47.3 $^{\circ}$ C의 온도 상승이 초래되었다고 하였으며 이는 온도상승에 의해 배양액이 증발되면서 기화작용에 의해 열을 빼앗기므로써 온도계의 sensor에는 큰 영향을 끼치지 못한 것으로 사료되나 실제 증발후의 고형의 배양물의 온도는 이보다 훨씬 상승되었을 것으로 보고한 바 있다. 따라서 본 실험의 세균 pellet은 배양액에 조사한 경우보다 온도상승이 클 것으로 사료되며 이와 같은 레이저의 광열작용에 의해 세균의 증식이 억제되었을 것으로 생각된다. 그러나 레이저 조사시 pulse repetition rate에 따른 차이는 보이지 않으므로써 레이저에서 발생하는 초음파 충격 즉, 광기계적 효과는 없는 것으로 사료된다.

Nd:YAG 레이저의 경우 대조군에 비해 본격적인 증식 개시 시간이 4시간으로 차이가 없었으며 이후 오히려 증식이 촉진되는 양상을 보였는데(Fig. 2) 이는 Nd:YAG 레이저는 파장이 우유빛의 세균 pellet에 흡수가 많이 이루어지지 않아 온도상승이 적게 유발되므로써 오히려 균 증식을 촉진시킨 것으로 사료된다. 그러나 세균 pellet을 Chinese ink로 염색한 경우

Nd:AYG 레이저의 흡수가 촉진되어 세균의 증식이 효과적으로 억제되는 것으로 나타났다(Fig. 4). 최근 의료분야에서 레이저 혹은 일반 빛을 이용한 조직 내 살균이나 조직절제를 시행하는데 있어 빛의 흡수율을 증가시키거나 선택적으로 흡수시킬 목적으로 조직을 염색제를 사용하여 염색을 하고 있다. 근래에 여러 학자들<sup>26,31-34)</sup>이 toluidine blue나 porphyrin 등 염색제를 사용하여 조직을 photosensitization시키므로써 조직내 세균 혹은 세포를 비활성화시키는 시도를 하고 있다. Burns 등<sup>12)</sup>은 *S. mutans*나 *S. sobrinus* 세균 배양액에 toluidine blue O라는 염색제를 첨가하므로써 출력이 낮은 레이저로 세균의 증식을 억제시켰다고 보고하였으며 *S. mutans*보다는 *S. sobrinus*가 더 영향이 컸다고 보고하였다. 또한 GaAs 레이저 역시 aluminium disulphonated phthalocyanine(ADP)이라는 염색제를 세균 배양액에 첨가하여 조사할 경우 낮은 출력에서도 *S. sobrinus*와 *Lactobacillus casei*의 증식이 억제되었다고 보고하였다.

본 연구에서도 Nd:YAG 레이저의 흡수율을 증가시켜주는 검정색의 Chinese ink를 사용하므로써 세균증식을 효과적으로 억제할 수 있었다. 따라서 앞으로 레이저의 흡수율을 증가시키는 염색제에 대한 연구도 이루어져 낮은 출력으로 구강내 조직에는 손상을 주지 않고 세균에 집중적으로 손상을 줄 수 있는 방법이 개발될 필요성이 있다.

산 생성능 역시 Er:YAG 레이저와 Chinese ink로 세균 pellet을 염색한 후 Nd:AYG 레이저를 조사한 경우는 일정시간 동안은 세균의 산생성 능력을 억제하여 12시간 이후부터는 레이저를 조사하지 않은 대조군에 비해 통계적으로 유의할만하게 pH가 높게 나타났다. 그러나 24시간 경과시에는 pH가 대조군과 같은 수준으로 떨어졌다(Fig. 5, 7).

*S. mutans*의 독성을 결정하는 요소 중 하나가 부착능을 평가하는 것인데<sup>35)</sup>, 이는 글루칸 같은 불용성 세포외다당류 합성능을 평가하는 것이다. 본 연구에서는 레이저 조사에 의해 불용성 세포외다당류 합성능이 감소되지 않았으며 오히려 Chinese ink로 염색한 후 레이저를 조사한 경우는 대조군과 레이저 조사군 모두 유의할만한 증가가 관찰되었다. 이는 레이저 조사에 관계없이 Chinese ink가 불용성 세포외다당류의 합성을 촉진시키는 것으로 추정해 볼 수 있으나 정확한 기전에 대해 연구가 필요할 것으로 사료된다.

레이저 조사가 세균의 증식이나 일부 대사의 작용을 억제하는 기전에 대해서 Mehl 등<sup>5)</sup>은 열에 의해 세포질의 수분 증발과 이로 인한 세포벽의 물리화학적 붕괴에 의한다고 하였으며 이를 생화학적 측면에서 보면 당의 일종인 glucose를 글루코젠으로 분해하는 과정에 필요한 글루코젠 분해효소 군, 그 중에서도 특히 phosphogluco-mutase, kinase, 그리고 phosphatase에 치명적인 손상을 가하므로써 당의 이동과 대사에 장애를 초래하며 이와 같은 현상에 의해 세포가 파괴된다고 하였다.

본 연구에서는 *S. mutans*만을 대상으로 하였으나 Rooney 등<sup>27)</sup>은 세균의 외부 환경의 변화에 대한 포자형성 여부와 열에

대한 저항성에 따라 레이저 조사 효과가 다르다고 한 바, 다른 세균에 대해서도 연구가 이루어져야 할 필요가 있다. Zakari-  
 asen 등<sup>26)</sup>은 세균의 종류에 따라 레이저 조사에 따른 살균 및  
 회복률이 다르다고 하였으며 이에 영향을 미칠 수 있는 요인으  
 로 레이저 조사세기 및 레이저 빛의 전달각이라 하였다.

레이저의 종류에 따라 세균에 대한 영향이 다를 수 있는데,  
 본 연구에서는 Er:YAG 레이저가 Nd:YAG 레이저에 비해 *S.*  
*mutans*의 증식을 더 억제하는 것으로 나타났다. Morirz 등<sup>6)</sup>은  
 근관내에 *Escherichia coli*와 *Enterococcus faecalis* 등의 세  
 균을 대상으로 YAG계 레이저를 조사한 결과 Er:YAG,  
 Nd:YAG, Ho:YAG 순으로 효과가 좋았다고 보고하였다.

본 연구에서는 한 가지 종류의 세균을 대상으로 하였으나 향  
 후 *S. sobrinus*, *Lactobacillus casei*, 그리고 *A. viscosus* 등  
 에 대한 조사 효과에 대해서도 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

레이저의 구강내 산 생성 세균인 *S. mutans*에 대한 증식억  
 제효과를 평가하기 위하여 *S. mutans* KCTC 3065가 포함된  
 세균 pellet에 Er:YAG 레이저와 Nd:YAG 레이저를 비접촉식  
 방법으로, 조사세기 50mJ, 조사시간 5초, 그리고pulse repe-  
 tition rate를 각각 10Hz와 30Hz로 하여 조사하고 세균 균락  
 수, 산 생성능, 불용성 세포외다당류의 합성량을 측정한 결과  
 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Chinese ink로 photosensitization을 시행한 후 Nd:YAG 레이저를 조사한 경우가 *S. mutans*의 증식을 가장 많이 억제하였으며 Er:YAG 레이저도 증식을 억제하였다. 그러나 Chinese ink를 사용하지 않고 Nd:YAG 레이저를 단독으로 조사한 경우는 *S. mutans*의 증식을 억제하지 못하였다. 레이저 조사조건 중 pulse repetition rate는 전반적으로 세균 증식억제에 영향을 미치지 못하였다.
2. Chinese ink로 photosensitization을 시행한 후 Nd:YAG 레이저를 조사한 경우가 일정기간 동안 *S. mutans*의 산 생성능을 가장 많이 억제하였으며 Er:YAG 레이저도 산 생성능을 억제하였다. Chinese ink를 사용하지 않고 Nd:YAG 레이저를 단독으로 조사한 경우는 *S. mutans*의 산생성능을 억제하지 못하였다. Er:YAG 레이저와 Chinese ink로 photo-sensitization을 시행한 후 Nd:YAG 레이저를 조사한 경우는 pulse repetition rate가 클수록 전반적으로 세균의 산생성능 더 많이 억제하였다.
3. 레이저 조사는 *S. mutans*의 불용성 세포외다당류의 합성에 영향을 미치지 못하였다.

이상의 결과로 보아 Er:YAG 레이저와 Chinese ink로 photo-sensitization을 시행한 후 Nd:YAG 레이저 조사는 일정시간 동안 *S. mutans*의 증식과 산 생성능을 억제시키므로써 치아우식증 예방효과를 얻을 수 있다고 사료되나 억제효과가 오래가지 않아 임상적으로 효과를 얻기 위해서는 자주 조사를 해

주어야 한다는 문제점을 안고 있어 임상적으로 치아우식증 예방이란 단독 목적으로는 사용하기에는 실용성이 크지 않다고 사료된다.

참고문헌

1. 이상호, 이종갑 : 레이저 조사의 치아우식 억제효과에 관한 실험적 연구. 대한소아치 과학회지 18:11-19, 1991.
2. Lobene RR, Bjushry BR, Fine S : Interaction of carbon dioxide laser irradiation with enamel and dentin. J Dent Res, 47:311-317, 1968.
3. Tagomori S, Morioka T : Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. Caries Res, 23:225-233, 1989.
4. Hooks TW, Colonel L, Adrian JC, et al. : Use of the carbon dioxide laser in sterilization of endodontic reamers. Oral Surg, 49:263-265, 1980.
5. Mehl A, Folwaczny M, Haffner C, et al. : Bactericidal effects of 2.94 m Er:YAG-Laser radiation in dental root canals. J Endod, 25:490-495, 1999.
6. Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, et al. : The bactericidal effect of Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG laser irradiation in the root canal. J Clin Laser Med and Surg, 17: 161-164, 1999.
7. Wilson M : Bactericidal effect of laser light and its potential use in the treatment of plaque-related diseases. Int Dent J, 44:181-189, 1994.
8. Iwase T, Saito T, Nara Y, et al. : Inhibitory effect of He-Ne laser on dental plaque deposition in hamsters. J Periodont Res, 24:282-283, 1989.
9. Stabholz A, Kettering J, Neev J, et al. : Effects of the XeCl Excimer Laser on *Streptococcus mutans*. J Endod, 19:232-235, 1993.
10. Schultz RJ, Harver GP, Fernandez-Beros ME : Bactericidal effects of the Neodymium:YAG laser: in vitro study. Lasers Surg and Med, 6:445-448, 1986.
11. Burns T, Wilson M, Pearson GJ : Sensitization of cariogenic bacteria to killing by light from a helium-neon laser. J Med Microbiol, 38:401-405, 1993.
12. Burns T, Wilson M, Pearson GJ : Killing of cariogenic bacteria by light from a gallium aluminium arsenide diode laser. J Dent, 22:273-278, 1994.
13. Busscher HJ, Mulder AFJM, van der Mei HC : In vitro adhesion to enamel and in vivo colonization of tooth surfaces by lactobacilli from a Bio-Yoghurt. Caries Res, 33:403-404, 1999.

14. Caufield PW, Gibbons RJ : Suppression of *Streptococcus mutans* in the mouth of humans by a dental prophylaxis and topically-applied iodine. J Dent Res, 58:1317-1326, 1979.
15. Frost MR, Harris MPW : An in vitro study to assess the efficacy of antiplaque agents in mouthwash formulations. Microbios, 79:101-108, 1994
16. Hatta H, Truda K, Ozeki M, et al. : Passive immunization against dental plaque formation in human : Effect of a mouth rinse containing egg yolk antibodies(IgY) specific to *Streptococcus mutans*. Caries Res, 31:268-274, 1997.
17. Loesche WJ, Bradbury DR, Woolfolk MP : Reduction of dental decay in rampant caries individuals following short term kanamycin treatment. J Dent Res, 56:254-265, 1977.
18. Woods R : The short-term effect of topical fluoride applications on the concentration of *Streptococcus mutans* in dental plaque. Aust Dent J, 16:152-155, 1971.
19. Axeleson P, Lindhe J : The effect of a preventive program on dental plaque, gingivitis and caries in schoolchildren. Results after one and two years. J Clin Periodontol, 1:126-138, 1974.
20. Nigri GR, Tasai ST, Kossodo S : Laser-induced shock waves enhance sterilization of infected vascular prosthetic graft. Lasers Surg and Med, 29:448-454, 2001.
21. Karu TL : Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laser irradiation. Lasers Life Sci, 2:53-74, 1988.
22. Moan J : Porphyrin-sensitized photodynamic inactivation of cells: A review. Lasers Med Sci, 1:5-12, 1986.
23. Nikolopoulos S, Naoumidou I, Manousaki A, et al. : Safety of the ArF 193 excimer laser for the removal of dental plaque and calculi: An in vitro histological study. J Clin Laser Med and Surg, 18:295-300, 2000.
24. Saito IT, Morioka NY : Inhibitory effect of He-Ne laser on dental plaque deposition in hamsters. J Perio Res, 24:282-283, 1989.
25. Dederich DN, Pickard MA, Vaughn AS : Comparative bacterial exposure for selected oral bacteria using carbon dioxide laser radiation. Lasers Surg Med, 10:591-594, 1990.
26. Zakariasen KL, Dederich DN, Tulip J, et al. : Bacteriocidal action of carbon dioxide laser radiation in experimental dental root canals. Can J Microbiol, 32:942-946, 1986.
27. Rooney J, Midda M, Leeming J : A laboratory investigation of the bacteriocidal effect of a Nd:YAG laser. Br Dent J, 176:61-64, 1994.
28. 김삼근 : 저출력 레이저조사가 *Streptococcus mutans*의 증식에 미치는 효과에 관한 실험적인 연구. 단국대학교 석사논문, 1991.
29. Okamoto H, Iwase T, Morioka T : Dye-mediated bacteriocidal effect of He-Ne laser irradiation on oral microorganisms. Lasers Surg Med, 12:450-458, 1992.
30. 송광철 : 레이저 조사가 *Streptococcus mutans*의 증식억제에 미치는 효과. 조선대학교 박사논문, 2002.
31. Bhatti M, MacRobert A, Meghji S, et al. : A study of the uptake of Toluidine Blue O by *Porphyromonas gingivalis* and the mechanism of lethal photosensitization. Photochemistry and Photobiology, 68:370-376, 1998.
32. Konig K, Teschke M, Sigusch B, et al. : Red light kills bacteria via photodynamic action. Cell Mol Biol, 46:1297-1303, 2000.
33. Martinetto P, Gariglio M, Lombard GF : Bacteriocidal effects induced by laser irradiation and haematoporphyrin against gram positive and gram negative microorganism. Drugs Exp Clin Res, 12:335-342, 1986.
34. O'Neil J, Hope CK, Wilson M : Oral bacteria in multi-species biofilm can be killed by red light in the presence of Toluidine Blue. Lasers Surg and Med, 31:86-90, 2002.
35. Lumikari M, Soukka T, Nurmio S, et al. : Inhibition of the growth of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Lactobacillus casei* by oral peroxidase systems in human saliva. Archs Oral Biol, 36:155-160, 1991.

---

**Reprint requests to:**

**Sang-Ho Lee**, D.D.S., M.S.D., Ph. D.  
 Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Chosun University  
 375, Seosuk-Dong, Dong-Gu, Gwangju, 501-759, Korea  
 E-mail : shclee@chosun.ac.kr



Abstract

INHIBITORY EFFECT OF DENTAL LASERS ON THE GROWTH AND THE FUNCTION OF  
STREPTOCOCCUS MUTANS

Kang-Seog Han, Joong-Ki Kook\*, So-Young You\*, Hwa-Sook Kim\*, Jong-Whi Park,  
Heon-Dong park, Sang-Ho Lee

*Department of Pediatric Dentistry, Oral Biochemistry\*,  
College of Dentistry, Chosun University*

This was performed to evaluate the inhibitory effect of laser on the growth of *S. mutans*. The bacterial pallets containing *S. mutans* KCTC 3065 were irradiated with Er:YAG laser and Nd:YAG laser by non-contact method at an intensity of 50mJ for 5 sec with the pulse repetition rates of 10Hz and 30Hz, respectively.

The following results were obtained on colony count, acid producing ability, and the amount of insoluble extracellular polysaccharide synthesis.

1. The irradiation of Nd:YAG laser after photosensitization with Chinese ink inhibited the proliferation of *S. mutans* the most, and the irradiation of Er:YAG also inhibited the proliferation. However, the irradiation of Nd:YAG laser alone could not inhibited the proliferation of *S. mutans*. The pulse repetition rate did not affect significantly on the proliferation of bacteria in overall.
2. The irradiation of Nd:YAG laser after the photosensitization with Chinese ink inhibited the acid production of *S. mutans* the most for a certain period of time. Er:YAG laser also inhibited acid production. When Nd:YAG laser was used alone, the acid production of *S. mutans* was not been inhibited. The irradiation of Nd:YAG laser after photosensitization with Chinese ink inhibited the acid production ability of bacteria the most as the pulse repetition rate increased.
3. Laser irradiation did not inhibited the synthesis of insoluble extracellular polysaccharide of *S. mutans*.

From these results, we conclude that the irradiation of Er:YAG laser and Nd:YAG laser after photosensitization with Chinese ink would inhibit the proliferation and acid production by *S. mutans*, which may prevent dental caries. However, this effect does not last long time so that the laser irradiation should be repeated frequently in order to obtain clinical effect: thus, this laser irradiation would not have a clinical usefulness in preventing dental caries when used solely.

**Key words** : Er:YAG laser, Nd:YAG laser, Streptococcus mutans, Photosensitization