

의치 연성이장재에 대한 *Candida albicans*의 부착과 침투연구

고려대학교 임상치의학대학원 고급보철학과

김민주 · 신상완 · 이정열

I. 서 론

Denture sore mouth로 알려진 의치구내염은 의치-지지조직의 흥반성 병소로, 완전 또는 부분의치를 끼는 사람의 약 50%에서 관찰되며, 구개점막을 손상시키는 가장 일반적인 형태이다.¹⁻³⁾

구강조직의 미생물감염은 의치구내염의 주된 원인 중 하나이며, 그중 *Candida albicans*가 가장 중요한 원인균으로 의치의 조직면, 의치를 지지하는 구개점막, 그리고 협측점막에서 분리되었다.⁴⁻⁷⁾

의치 연성이장재는 경질의치상과 지지조직 사이에 쿠션 역할을 하여 점막에 가해지는 압력을 경감시킨다.⁶⁾ 얇고, 비탄력적 점막, 불량한 치조제, 만성 구강건조증, 그리고 후천적 또는 선천적 결손을 갖는 환자에게 연성이장재를 사용할 수 있다.⁸⁻¹⁰⁾ 또한, 새로운 의치제작이나 사용 중인 의치의 재이장시에 영구적 또는 반영구적으로 사용된다.⁴⁾ 현재, 연성이장재는 연성 아크릴릭 복합체와 실리콘 탄성체로 분류된다.

숙주세포나 아크릴릭 레진과 의치 연성이장재와 같은 polymer에 *C. albicans*의 부착은 균체형성과 감염 발달에 본질적이고 필수적인 첫 번째 단계이다. 치과재료 분야에서 *C. albicans*의 부착과 균체형성은 여러 차례 연구되어 왔다. *C. albicans*는 아크릴릭 레진보다 이장재에, 그리고 평활면보다 조면에 부착이 증가되며,^{11,12)} 타액과 혈청피막은 이장재의 항진균효

과를 감소시키고, 치면세균막 형성으로 감염은 진행된다고 보고되었다.¹³⁻¹⁶⁾ 또한, 아크릴릭형 이장재는 잠재적인 항진균 효과를 나타내며,⁹⁾ 실리콘형 이장재는 *C. albicans*의 성장을 돕는다는 논문들이 보고되어 왔지만, 이장재에 살균제를 혼합시키는 개선방안도 제안되었다.^{17,18)}

*C. albicans*가 이장재의 중앙부로 침투될 수 있다는 보고가 있었다.¹⁹⁾ 반대로, 폴리우레탄 탄성체에는 세균침투가 명백하지 않다는 보고도 있었다.²⁰⁾

이와 같이 이장재에 대한 *C. albicans*의 부착과 침투에 대해서 여러 연구가 있었으나 논란의 여지가 많다. 이에 in vitro에서 현재 통용되는 네 가지 의치 연성이장재 표면에 대한 *C. albicans*의 부착정도와 배양기간에 따른 침투정도를 조사하여 의치 연성이장재의 수명에 관한 기초 자료를 마련하고자 본 연구를 시작하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 세균 및 배양

액체질소에 보관중인 *C. albicans* ATCC 10231 (Global Bioresource Center, Manassas, VA, USA)을 Trypticase soy broth(TSB)(Gibco, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 호기상태, 37°C에서 18시간 배양하였다.

2. 재 료

이 논문에 사용된 아크릴릭 레진은 Lucitone 199 (Dentsply Ltd., Weybridge, Surrey, England)로 분말과 용액으로 구성되어 있다. 사용된 의치 연성 이장재의 제조사명과 특징은 Table I과 같다.

3. 방법

1) 표본제작

(1) 이장재 디스크 제작

baseplate wax를 이용하여 직경 10mm, 두께 1.5mm의 디스크를 이장재 각각 5개씩 제작하였다(Fig. 1A). 치과용 석고를 제조사의 지시대로 물과 혼합하여 플라스틱에 부었다. 플라스틱 내 치과용 석고 혼합물 위에 유리 슬라이드를 놓고 압력을 가하여 표본의 평활면을 제작하였다. 석고가 경화된 후 왁스 디스크를 유리 슬라이드 표면 위에 놓았다. 플라스틱의 상함을 제자리에 위치시킨 후 왁스 디스크 위에 치과용 석고를 진공혼합술을 사용해 부었다. 플라스틱에 10분 동안 열을 가한 후 뜨거운 물을 이용해 왁스를 제거하였다.

4가지 이장재는 모두 실온에서 혼합하고, 왁스가 제거된 공간에 채워 실온에서 중합시켰다. 결과적으

로 한 면은 유리-평활면, 다른 한 면은 석고-조면을 가진 표본이 제작되었다. 제작된 이장재 디스크를 건조상태의 폴리에틸렌 용기에 일주일 동안 보관하였다.

(2) 이장재-아크릴릭 레진 결합표본 제작

아래와 같은 방법으로 디스크를 이장재 각각 10개씩 제작하였다(Fig. 1B). Lucitone 199 분말과 용액을 혼합해 병상기(dough stage)에서 플라스틱 내에 채웠다. 습윤가열술을 사용하여 중합시켰다. 중합 후 아크릴릭 디스크를 플라스틱 내에서 분리하였다.

아크릴릭 디스크 위에 왁스 디스크를 놓고, 왁스-아크릴릭 디스크를 왁스 디스크 표본처럼 플라스틱에 넣었다. 왁스가 제거된 공간에 이장재로 채웠다. 이장재는 아크릴릭 레진과 중합하기 전에 접착제로 접착시켰다.

2) 이장재 표면에 *C. albicans*의 부착(Fig. 2)

TSB에서 배양한 *C. albicans*을 3000×g에서 10분간 원심분리 시키고, 멸균된 Phosphate buffered Saline(PBS)에 3번 헹군 후 세포농도를 600nm에서 OD 0.65밀도로 만들기 위해 PBS 용액에 재현탁시켰다.

이장재 표본을 각각 5개씩 50ml의 멸균된 병에 수

Table I. Denture soft lining materials used in the study

Brand name(code)	Type	Manufacturer	Lot	Composition	
				Powder	Liquid
Coe-comfort(CC)	CCA	Coe, Chicago, IL, U.S.A	P:071488B L:113088A	PEMA(100%)	BB(87.3%) DBP(4.5%) EtOH(8.2%)
Coe-soft(CS)	CCA	Coe, Chicago, IL, U.S.A	0306131	PEMA(100%)	BS(35.1%) DBP(49.7%) EtOH(15.2%)
GC soft liner(GC)	CCA	GC Corp., Tokyo, Japan	P:070581 L:250481	PEMA(100%)	BPPG(80.9%) DBP(4.3%) EtOH(14.8%)
Tissue conditioner (TC)	CCA	Shofu Inc., Kyoto, Japan	099866	PEMA(100%)	DBP(86%) EtOH(14%)

CCA, cold curing acrylic; PEMA, polyethyl methacrylate; BB, benzyl benzoate; DBP, dibutylphthalate; EtOH, ethyl alcohol; BS, benzyl salicylate; BPPG, butyl phthalyl butyl glycolate

직으로 위치시켰다. 30ml의 표준화된 세균을 병에 첨가하고 이를 37°C에서 1시간 동안 배양시켰다. 실험표본을 꺼내고 느슨하게 붙어있는 세균들을 제거하기 위해 20ml의 멸균된 PBS에 3번 부드럽게 담귀 행군 뒤 실온건조 시키고 수평으로 위치시켰다.

디스크에 남아있는 부착세균을 100% 메탄올에 1분 동안 고정시킨 후, 0.03% acridine orange (SigmaChemical, St. Louis, MO, USA)를 함유한 증류수에 30분간 담가 염색하였다.

실험표본은 immersion oil하에서 400배 확대의 형광현미경(Zeiss, AG, Germany)으로 관찰하였다. 각각의 표본에서 20개의 무작위 범위에 붙어있는 세균의 수를 산정하였다.

3) 이장재 내로 *C. albicans*의 침투

자극성 타액을 사람에게서 채취하고 0.22µm polyvinylidene fluoride(PVDF)을 이용하여 여과멸균하였다. 이 타액에 이장재-아크릴릭 레진 디스크를 24시간 동안 담귀 코팅처리하였다. 이 표본을 실험에 이용하였다.

(1) 형광현미경 검사(Fig. 3A)

TSB를 담은 7개의 25ml 유리병 각각에 이장재-아크릴릭 레진 디스크 5개씩 넣었다. 각각의 병에 TSB에서 18시간 배양한 *C. albicans* 0.1ml씩을 주입하여 37°C에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 그리고 7일간 각각 케도배

양 시켰다.

배양 후 각각의 표본을 병에서 꺼내어 4% glutaldehyde를 함유한 생리식염수에 넣어 최소 2시간 동안 세포고정을 시행하였다. 부착된 세포를 10분간 알코올(30, 50, 70, 90, 그리고 100%)에 넣어 탈수 시켰다.

실온에서 건조시킨 표본을 Exact Band 위에서 주수 하에 0.1mm diamond bend를 이용해 수직으로 절단하여 5개의 시편을 만들었다. 시편을 0.03% acridine orange에 30분간 담고 증류수에 행군 뒤 실온 건조 시켜 잘린 면이 위로 오도록 수평으로 위치시켰다. 시편을 바셀린을 이용해 현미경 슬라이드에 붙여 현미경검사를 시행하였다. 시편은 400배 확대로 형광현미경(Zeiss, AG, Germany)으로 관찰하였다. 이장재 내로 침투된 정도를 관찰하며, 이 과정을 세 번 반복하였다.

(2) 방사성동위원소 분석

TSB를 담은 7개의 25ml 유리병 각각에 이장재-아크릴릭 레진 디스크 5개씩 넣었다. 각각의 병에 TSB에서 18시간 배양한 *C. albicans* 0.1ml씩을 주입하고, 여기에 methyl 3H-thymidine radioisotope media(Amersham Bioscience, NJ, USA) 30ml를 넣은 후, 37°C에서 각각 1, 2, 3, 4, 5, 6, 그리고 7일간 케도배양 시켰다. 배양 후, 각각의 표본을 꺼내어 생리식염수로 세척하였다. solid/aqueous cocktail

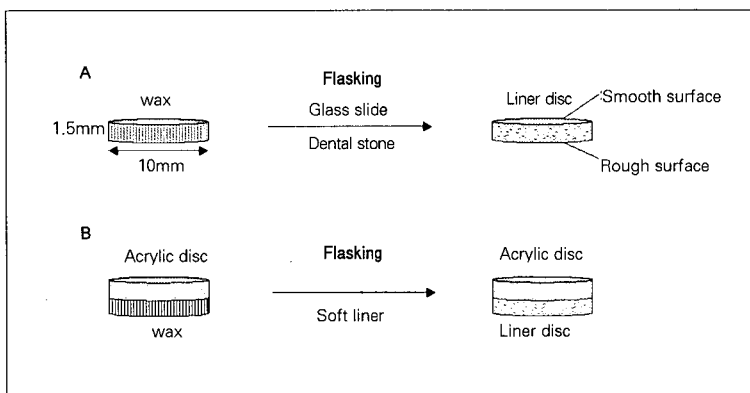


Fig. 1. Preparation of samples.

A. preparation of liner disc B. preparation of liner-acrylic resin disc.

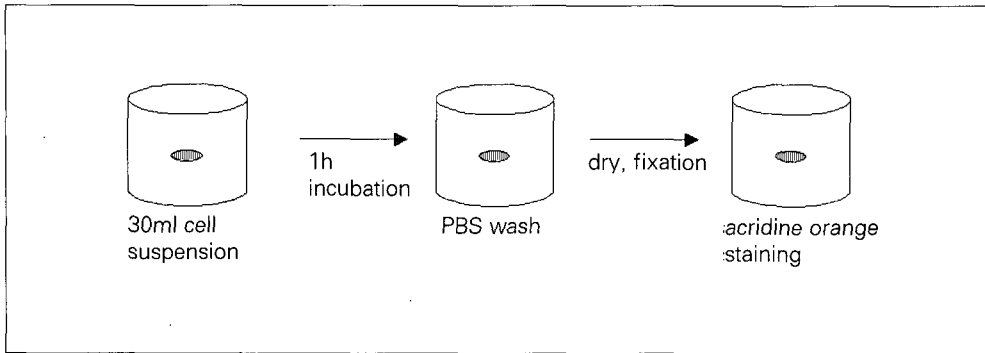


Fig. 2. Procedure of adherence of *C. albicans* into liner disc.

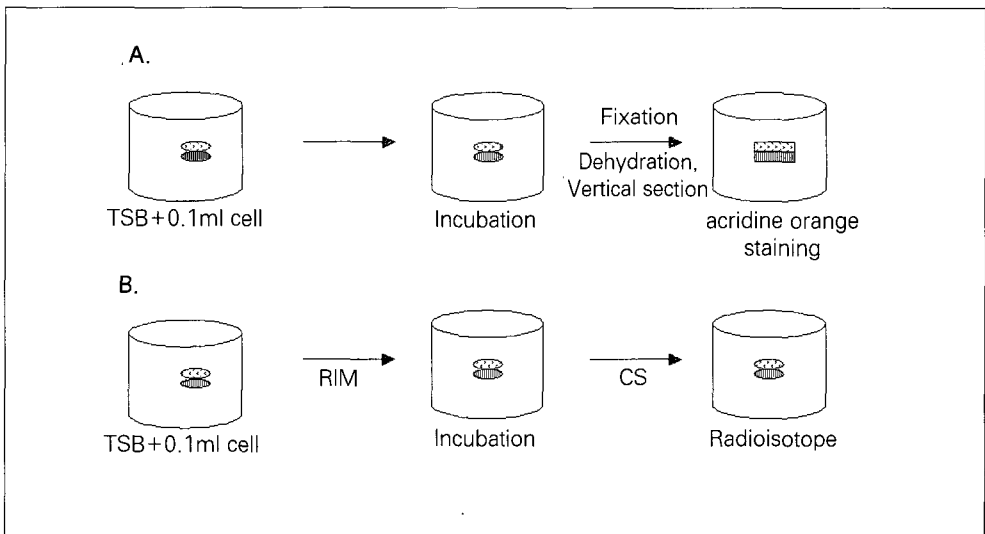


Fig. 3. C. Procedure of *C. albicans* into liner-acrylic resin discs.

A. Fluorescence microscopy B. Radioisotope assay. RIM, methyl ^3H -thymidine radioisotope media; CS, solid/aqueous cocktail solution.

solution(Packard, CT, USA) 5ml가 담긴 Liquid Scintillation vial(Wheaton, IL, USA)에 각각 대조군(세균을 배양하지 않은)과 표본을 넣고, β -counter machine(BD, NJ, USA)으로 방사선량을 측정하였다(Fig. 3B).

4. 통계분석

부착된 세균 수의 평균과 표준편차를 구하였다. 이

장제 각각의 표면처리 비교는 paired t-Test를 시행하였고, 이장제 종류와 표면처리의 비교분석에는 Multiway ANOVA와 Tuckey's multiple range test를 시행하였다. 이장제 종류와 배양기간에 따라 침투한 세균 수의 평균과 표준편차를 구하였다. 각 이장제의 비교분석에는 Twoway ANOVA를 시행하였고, 이장제 종류와 배양일수에 따라 Tuckey's multiple range test를 시행하였다. p value가 0.05 이하에서 유의성을 검증하였다.

III. 결 과

1. 이장재 표면에 *C. albicans*의 부착

표면에서 관찰된 세균의 형태는 단일 세균이거나 세균 덩어리 형태였다. 대다수의 세균 형태는 분아포자였으며 간혹, 가균사 형태도 관찰되었다(Fig. 4).

이장재당 5개 표본에서, 표본당 20범위에서 세균 수를 측정하였다. 네 가지 이장재의 평활면과 조면에 붙어있는 *C. albicans* 수의 평균값과 표준편차는 Table II와 Fig. 5에 나타나있다.

모든 재료에서 평활면과 조면을 비교했을 때, 부착된 *C. albicans*의 평균수는 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(paired t-Test; $p < 0.05$), 모든 재료에서 평활면에 비하여 조면에서 높은 세균 부착을 보였다. 유리 슬라이드로 처리한 평활면에 부착된 세

균의 수와 치과용 석고로 처리한 조면에 부착된 세균의 수는 이장재의 종류에 따라 통계적으로 유의한 차이가 있었다(Multiway ANOVA; $p < 0.05$). 다중비교를 시행한 결과 모든 군간에 통계적으로 유의성 있는 차이를 보였다(Tuckey's multiple range test; $p < 0.05$)(Table III).

2. 이장재 내로 *C. albicans*의 침투

1) 형광현미경 검사

절편을 현미경으로 관찰하였을 때, 세균은 이장재의 표면에서 관찰되었고 또한 이장재 내로의 침투도 관찰되었다. 분아포자와 가균사 형태가 관찰되었다(Fig. 6). 침투정도는 이장재 표면에서 이장재-아크릴릭 레진 접합부로 갈수록 감소하였고, 접합부까지 침투한 표본은 없었다.



Fig. 4. Blastopores and hyphal forms of *C. albicans* retained on the surface of soft liner(using fluorescence microscopy at $\times 400$ magnification).

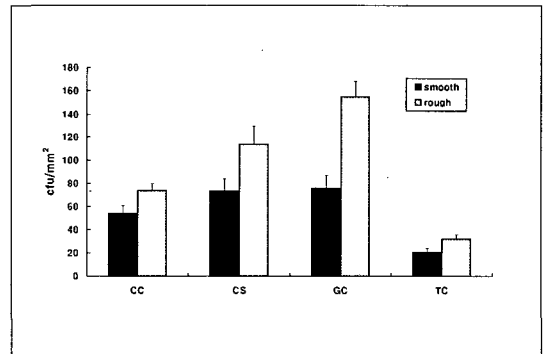


Fig. 5. Mean and standard deviation (cfu/mm²) of *C. albicans* cells adhered to the surfaces of soft liner.

Table II. Mean and standard deviation (cfu/mm²) of *C. albicans* cells adhered to the surfaces of soft liner

Materials	smooth surface		rough surface		Paired t(p)
	M	SD	M	SD	
CC	54.20	7.25	73.90	6.11	-6.565 * (.000)
CS	73.50	10.63	113.90	16.18	-6.485 * (.000)
GC	75.90	2.17	155.20	13.89	-13.581 * (.000)
TC	20.60	3.80	32.50	3.75	-7.043 * (.000)

* , $p < 0.001$

Table III. Results of multiple range test for the number of adherent cells among all kinds of liner disc (Tuckey' s multiple range test)

	CC	CS	GC	TC
CC	-			
CS	*	-		
GC	*	*	-	
TC	*	*	*	-

* , p<0.001

Table IV. Mean and standard deviation(ppm) of *Candida albicans* cells penetrated into liner-acrylic resin disc

Day	Control		CC		CS		GC		TC	
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
1	3.33	1.53	11.00	0.00	92.67	19.14	38.33	12.67	53.67	8.08
2	4.00	1.00	33.00	0.00	278.00	57.42	142.00	13.16	149.00	12.49
3	3.33	1.53	166.67	4.73	1390.00	287.10	459.00	71.44	271.00	21.25
4	3.33	1.53	257.00	16.52	2763.33	74.22	837.33	25.70	426.33	4.73
5	3.33	1.53	386.67	27.74	4814.33	180.88	1549.00	83.14	541.33	31.64
6	3.33	1.53	442.67	24.58	5838.00	100.14	1796.20	47.74	615.00	14.73
7	3.33	1.53	633.00	15.59	5977.33	35.01	1884.67	35.16	713.67	16.56

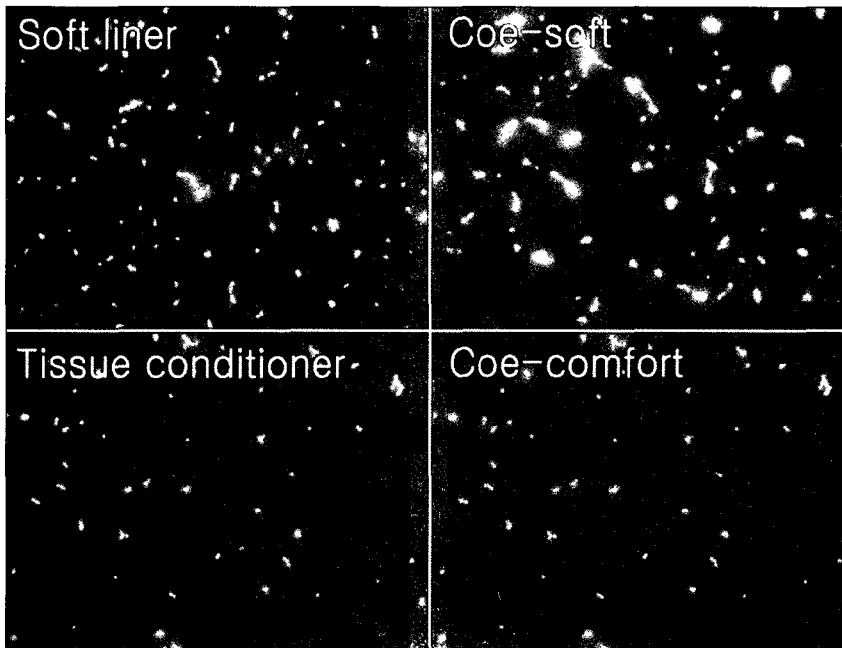


Fig. 6. *Candida albicans* penetrated into liner-acrylic resin disc(using fluorescence microscopy at $\times 400$ magnification).

Table V. Results of multiple range test for the number of penetrated cells among all kinds of liner-acrylic resin disc(Tuckey's multiple range test)

	Control	CC	CS	GC	TC
Control	-				
CC		-			
CS	**	**	-		
GC	*		**	-	
TC			**		-

*, p<0.01; **, p<0.001

Table VI. Results of multiple range test for the number of penetrated cells according to the incubation periods(Tuckey's multiple range test)

Day	1	2	3	4	5	6	7
1	-						
2		-					
3			-				
4				-			
5	*	*			-		
6	**	**	*			-	
7	**	**	*				-

*, p<0.01; **, p<0.001

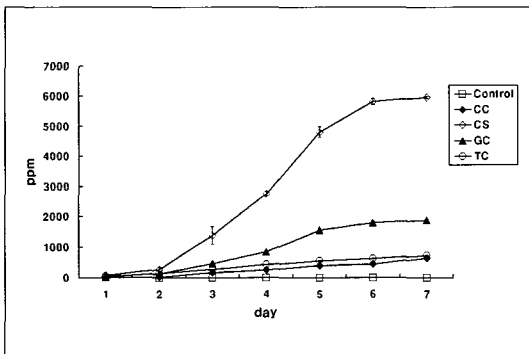


Fig. 7. Mean and standard deviation(ppm) of *C. albicans* cells penetrated into liner-acrylic resin disc.

2) 방사성동위원소 분석

Table IV와 Fig. 7에 배양기간에 따라 침투된 세균 수의 평균과 표준편차를 나타내었다. 배양기간이 증가함에 따라 네 가지 이장재 모두에서 침투한 세균

의 수는 증가되었다. 이장재 종류와 배양기간에 따라 통계적으로 유의한 차이를 보였다(Two-way ANOVA: $p < 0.05$). Table V는 이장재 종류간의, 그리고 Table VI에는 배양기간에 따른 Tuckey's multiple range test를 실시한 결과로 $p < 0.05$ 에서 유의성 있는 차이를 보이는 군을 나타내었다.

IV. 고 찰

실험상에서 이장재의 종류와 표면거칠기 정도가 *C. albicans*의 부착에 어떤 영향을 미치는가에 대해 연구하는 것은 매우 중요한 일이다.

Yamauchi 등¹²⁾은 의치상 표면을 매끄럽게 하는 것이 의치의 치태조절에 중요하다고 하였다. Verran 등²¹⁾은 표면거칠기가 보철물의 미생물 감염과 위생에 미치는 영향을 조사한 결과, 가능한 한 매끄러운 표면이 청결과 감염방지에 보다 바람직하다고 보고하였다. 또한, Radford 등¹¹⁾은 의치상 재료의 조면은

in vitro *C. albicans*의 부착을 증진시킨다고 보고하였다. Taylor 등²³⁾의 연구에 따르면, *C. albicans*는 표면거칠기가 증가(0.15~3.53 μ m)함에 따라 부착도 증가(3~9%)하였다. 이장재 표면에 silane처리를 하거나, 표면실리를 도포하면 세균부착이 성공적으로 감소되었다는 보고도 있었다.^{23,24)}

본 연구에서는 현재 통용되는 네 가지 이장재를 유리 슬라이드로 처리하여 평활면으로, 그리고 치과용 석고로 처리하여 조면으로 만들어 *C. albicans*의 부착을 연구하였다.

본 연구에서 형광현미경 검사를 위해 사용한 염색 시약인 acridine orange는 특별히 핵산, 즉 RNA와 DNA를 목표표 하고 모든 candida 종을 염색시킨다.⁶⁾

1시간만 배양시켰기 때문에 이장재 표면에서 관찰된 *C. albicans*는 대부분 분아포자 형태였으며, 약간의 가균사도 관찰되었다. 이러한 결과는 비성장환경 상에서 단기간 배양시키면, 이스트 성장이나 표면균 체화는 분아포자나 가균사만 관찰되었다는 이전 연구결과와 같다고 할 수 있다.²⁵⁾

본 연구결과에 의하면, 재료 각각에서 평활면과 조면을 비교했을 때, 부착된 *C. albicans*의 평균수는 통계적으로 유의한 차이가 있었으며($p < 0.05$), 모든 재료에서 평활면에 비하여 조면에서 높은 세균 부착을 보였다. 평활면에 부착된 세균의 수는 이장재 종류에 따라 통계적으로 유의한 차이가 있었으며, 조면에 부착된 세균의 수도 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$). 이장재에 대한 세균부착과 관련된 인자에는 이장재의 화학적 구성과 표면거칠기가 있다. 연구결과, CC는 용액의 대부분이 가소제 BB(benzyl benzonate)로 구성되어 있어 세균부착에 대한 높은 억제효과를 나타냈고, GC는 BPBG(butyl phthalyl butyl glycolate)로 구성되어 있어 낮은 억제효과를 나타내 이전의 연구와 같은 결과를 보였다.²⁵⁾ DBP(dibutylphthalate)로 구성되어 있는 TC가 가장 높은 억제효과를 보인 점은 더 많은 연구가 필요하리라 사료된다. 치과용 석고와 접해 제작된 조면은 석고의 크리스탈 구조로 인한 소와가 나타나고 이는 주로 세균으로 채워지게 된다. 본 연구에서도 표면거칠기가 증가된 조면에서 세균부착이 증가됨을 볼 수 있었다.

*C. albicans*의 이장재 내부로의 침투를 언급한 문헌은 매우 드물다. Masella 등²⁶⁾은 *C. glabrata*를 제외하고, 모든 실험군, 즉 *C. albicans*, *C. tropicalis*, 그리고 *C. parapsilosis*가 Silastic 390 Soft liner로 침투했다고 보고하였다. Nikawa 등⁵⁾은 이장재에 항균재료인 zeomic을 혼합하면 세균침투가 억제되었다고 보고하였다.

본 연구에서는 이장재 내부로 침투한 *C. albicans*를 실험표본에서 얻어진 수직절단을 통해 관찰하였다. 세균이 표면에 존재하지 않는 경우에는 침투도 관찰되지 않았다. 이는 세척과 절단과정이 효과적으로 이루어져 세균이 표면에서 절단면 쪽으로 끌려 들어가지 않았고, 오직 재료내로의 침투정도를 평가할 수 있었음을 의미한다.

이장재 종류와 배양기간에 따라, 침투한 세균의 수는 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). 배양기간이 증가함에 따라 네 가지 이장재 모두에서 침투한 세균의 수는 증가되었다. CS가 GC, TC, 그리고 CC와 비교해서 침투한 세균수가 가장 높았다. CS는 중합된 후 기질 내에 많은 기포가 존재하고, 부착 억제효과도 낮아 세균의 침투가 용이하였다. 부착 억제효과가 높은 TC와 CC는 침투 역시 낮음을 알 수 있었다. 배양기간 1, 2일과 비교해서 5, 6, 7일 경과했을 때 침투한 세균은 증가되었고, 3일에 비해 6, 7일이 경과했을 때 증가되었다.

7일 동안의 연구결과, *C. albicans*는 이장재 전체를 통과하여 의치상까지 침투하지는 못하였다. 배양기간이 증가되면, *C. albicans*는 이장재-아크릴릭 접합부 근처까지 침투하거나 혹은 접합부를 지나 아크릴릭 레진까지 침투할 것이다. 이장재 사용으로 야기될 수 있는 의치상의 감염을 방지하기 위해 배양기간에 따른 침투깊이 연구도 필요하리라 사료된다.

본 연구에서 사용된 네 가지 이장재는 모두 acrylic type이었다. silicone type의 이장재에 대한 세균부착과 침투연구를 실시하는 것은 이장재 선택의 기초자료가 될 수 있으리라 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 in vitro에서 현재 통용되는 네 가지 의치 연성이장재 표면에 *C. albicans*의 부착 정도와 배

양기간에 따른 침투정도를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 재료 각각에서 평활면과 조면을 비교했을 때, 부착된 *C. albicans*의 평균수는 통계적으로 유의한 차이가 있었으며($p < 0.05$), 평활면에 비하여 조면에서 높은 세균부착을 보였다.
2. 평활면에 부착된 세균의 수는 이장재 종류에 따라 통계적으로 유의한 차이가 있었으며, 조면에 부착된 세균의 수도 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$).
3. 이장재 종류와 배양기간에 따라, 침투한 세균의 수는 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). CS가 GC, TC, 그리고 CC와 비교해서 침투한 세균수가 가장 높았다. 배양기간이 증가함에 따라 네 가지 이장재 모두에서 침투한 세균의 수는 증가되었다.

의치 연성이장재에 대한 세균의 초기부착과 침투는 이장재의 표면거칠기와 구성성분에 영향을 받는다. 이장재의 사용으로 야기될 수 있는 감염을 방지하기 위해서는 가능한 한 평활면으로 제작해야 할 것이며, 높은 세균부착을 보인 GC와 높은 침투를 보인 CS보다는 TC와 CC가 임상적으로 효과적일 것이라고 본다.

참고문헌

1. Bulad K, Taylor RL, Verran J, McCord JF. Colonization and penetration of denture soft lining materials by *Candida albicans*. Dent Mater 2004;20:167-75.
2. Nikawa H, Yamamoto T, Hayashi S, Nikawa Y, Hamada T. Growth and/or acid production of *Candida albicans* on soft lining materials in vitro. J Oral Rehabil 1994;21:585-94.
3. Dorey JL, Blasberg B, MacEntee MI, Conklin RJ. Oral mucosal disorders in denture wearers. J Prosthet Dent 1985; 53:210-3.
4. Okita N, Orstavik D, Orstavik J, Ostby K. In vivo and in vitro studies on soft denture materials: microbial adhesion and tests for antibacterial activity. Dent Mater 1991;7:155-60.
5. Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T, Rahardjo MB, Murata H, Nakanoda S. Antifungal effect of zeolite-incorporated tissue conditioner against *Candida albicans* growth and/or acid production. J Oral Rehabil 1997;24:350-7.
6. Waters MG, Williams DW, Jagger RG, Lewis MA. Adherence of *Candida albicans* to experimental denture soft lining materials. J Prosthet Dent 1997;77:306-12.
7. Gruber RG, Lucatarto EM, Molnar EJ. Fungus growth on tissue conditioners and soft denture liners. Rev Dent Liban 1968;18:36-43.
8. Williamson RT. Clinical application of a soft denture liner: a case report. Quintessence Int 1995;26:413-8.
9. Wright PS, Young KA, Riggs PD, Parker S, Kalachandra S. Evaluating the effect of soft lining materials on the growth of yeast. J Prosthet Dent 1998;79:404-9.
10. Khan Z, Martin J, Collard S. Adhesion characteristics of visible light-cured denture base material bonded to resilient lining materials. J Prosthet Dent 1989; 62:196-200.
11. Radford DR, Sweet SP, Challacombe SJ, Walter JD. Adherence of *Candida albicans* to denture-base materials with different surface finishes. J Dent 1998;26:577-83.
12. Yamauchi M, Yamamoto K, Wakabayashi M, Kawano J. In vitro adherence of microorganisms to denture base resin with different surface texture. Dent Mater J 1990;9:19-24.
13. Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T,

- Kumagai H. Effects of salivary or serum pellicles on the *Candida albicans* growth and biofilm formation on soft lining materials in vitro. *J Oral Rehabil* 1997;24:594-604.
14. Nikawa H, Jin C, Hamada T, Makihira S, Kumagai H, Murata H. Interactions between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles and *Candida albicans* in vitro. Part II. Effects on fungal colonization. *J Oral Rehabil* 2000;27:124-30.
 15. Nikawa H, Jin C, Makihira S, Egusa H, Hamada T, Kumagai H. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surfaces of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers in vitro. *J Oral Rehabil* 2003;30:243-50.
 16. Nikawa H, Hayashi S, Nikawa Y, Hamada T, Samaranayake LP. Interactions between denture lining material, protein pellicles and *Candida albicans*. *Arch Oral Biol* 1993;38:631-4.
 17. Frisch J, Levin MP, Bhaskar SN. Clinical study of fungal growth on tissue conditioners. *J Am Dent Assoc* 1968;76:591-2.
 18. Abe Y, Ishii M, Takeuchi M, Ueshige M, Tanaka S, Akagawa Y. Effect of saliva on an antimicrobial tissue conditioner containing silver-zeolite. *J Oral Rehabil* 2004;31:568-73.
 19. Burns DR, Burns DA, DiPietro GJ, Gregory RL. Response of processed resilient denture liners to *Candida albicans*. *J Prosthet Dent* 1987;57:507-12.
 20. Tang RY, Gonzalez JB, Roberts GD. Polyurethane elastomer as a possible resilient material for denture protheses: a microbiological evaluation. *J Dent Res* 1975;54:1039-45.
 21. Verran J, Maryan CJ. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. *J Prosthet Dent* 1997;77:535-9.
 22. Taylor R, Maryan C, Verran J. Retention of oral microorganisms on cobalt-chromium alloy and dental acrylic resin with different surface finishes. *J Prosthet Dent* 1998;80:592-7.
 23. Price C, Waters MG, Williams DW, Lewis MA, Stickler D. Surface modification of an experimental silicone rubber aimed at reducing initial candidal adhesion. *J Biomed Mater Res* 2002;63:122-8.
 24. Olan-Rodriguez L, Minah GE, Driscoll CF. *Candida albicans* colonization of surface-sealed interim soft liners. *J Prosthodont* 2000;9:184-8.
 25. Graham BS, Jones DW, Burke J, Thompson JP. In vivo fungal presence and growth on two resilient denture liners. *J Prosthet Dent* 1991;65:528-32.
 26. Masella RP, Dolan CT, Laney WR. The prevention of the growth of *Candida* on silastic 390 soft liner for dentures. *J Prosthet Dent* 1975;33:250-7.

Reprint request to:

Sang-Wan Shin, D.D.S., M.P.H., Ph.D., MSc.

Department of Prosthodontics, Graduate School of Clinical Dentistry, Korea University
97, Gurodonggil, Guro-Gu, Seoul, 152-703, Korea
swshin@korea.ac.kr

ABSTRACT

IN VITRO STUDY ON THE ADHERENCE AND PENETRATION OF CANDIDA ALBICANS INTO DENTURE SOFT LINING MATERIALS

Min-Ju Kim, DMD, MSc., Sang-Wan Shin, DDS, MPH, Ph.D, MSc.,
Jeong-Yeol Lee, DDS, Ph.D.

Department of Advanced Prosthodontics, Graduate School of Clinical Dentistry, Korea University

Purpose: Colonization of denture soft lining materials by *Candida albicans* can result in clinical problem, and deterioration of the materials. This study aimed to compare the retention and penetration of *C. albicans* into four denture soft lining materials commonly used.

Materials and methods: Four denture soft lining materials(Coe-comfort[®], Coe-soft[®], GC soft liner[®], and Tissue conditioner[®]) discs were prepared to glass slide and dental stone. Adherence of yeast to surfaces was monitored after one hour incubation of standardized washed cell suspension with test disc surfaces. Adherent cells stained with acridine orange were counted fluorescence microscopy. Penetration of yeast into materials bonded with acrylic resin after 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7 days incubation was observed through sections stained using acridine orange and estimated to quantitative analysis using radioisotope.

Results: There was statistical significance in cell numbers between smooth and rough surfaces($p < 0.05$). Higher numbers of cells were observed on rough surfaces. There was statistical significance in adherent cell numbers into smooth and rough surfaces individually($p < 0.05$). According to the increase of incubation periods, the cells penetrated into denture soft lining materials were shown to increase. The differences among all kinds of soft liner were statistically significant($p < 0.05$), and the largest number of cells penetrated into soft liners was observed in the Coe-soft[®].

Conclusion: Initial adherence and penetration of yeast into denture soft lining materials has been influenced by surface roughness and chemical composition of them. The selection of appropriate materials and their fabrication may promote clinical performance.

Key words: *Candida albicans*, Denture soft lining material, Denture stomatitis