

국내 시판 중인 구강세정제의 구강미생물에 대한 항미생물 효과

유민석^{1,3}, 이시영^{1,3}, 마득상^{2,3}¹강릉원주대학교 치과대학 미생물학 및 면역학교실, ²강릉원주대학교 치과대학 예방치학교실, ³강릉원주대학교 구강과학연구소*In vitro* antimicrobial activity of different mouthwashes available in KoreaMin Suck You^{1,3}, Si Young Lee^{1,3}, Deuk-Sang Ma^{2,3}¹Department of Oral Microbiology, College of Dentistry, Gangneung-Wonju National University, ²Department of Preventive and Public Health Dentistry, College of Dentistry, Gangneung-Wonju National University, ³Research Institute of Oral Science, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, Korea

Received: April 13, 2017

Revised: May 29, 2017

Accepted: June 19, 2017

Corresponding Author: Deuk-Sang Ma

Department of Preventive and Public Health Dentistry, College of Dentistry, Gangneung-Wonju National University, 7 Jukheon-gil, Gangneung 25457, Korea
Tel: +82-33-640-3194

Fax: +82-33-640-3103

E-mail: mads@gwnu.ac.kr

*This research was funded by cooperative clinical research fund in 2015 (CR1501) of Gangneung-Wonju National University Dental Hospital.

Objectives: The purpose of this study was to compare the oral antimicrobial effects of seven different mouthwashes available in Korea.**Methods:** To examine the antimicrobial effects of the seven mouthwashes, their minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) were determined using broth micro-dilution methods. *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4355, *Candida albicans* KCTC 7270, and *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 were used in this experiment. *S. mutans* and *P. gingivalis* were examined using a scanning electron microscope (SEM), after treatment with the mouthwashes containing cetylpyridinium chloride (CPC).**Results:** Mouthwashes containing CPC had lower MIC and MBC values against the four microorganisms. Their bactericidal effects were concentration-dependent. *S. mutans* and *C. albicans* were highly sensitive to the concentration of CPC in the mouthwashes. According to the SEM observation, the treatment of bacteria with mouthwashes containing CPC, changed the cell surface texture of *S. mutans* and *P. gingivalis*.**Conclusions:** Mouthwashes containing CPC showed relatively lower MIC and MBC values under the same conditions against the four microorganisms used in this study.**Key Words:** Antimicrobial activity, Mouthwash, Oral microorganisms

서론

구강 내 경조직과 연조직에서는 그람 양성균과 그람 음성균이 다양한 형태로 계속 증식을 한다¹⁾. 이러한 다양한 형태의 세균 증식은 구강 내에 세균막(biofilm)을 형성하고 세균성 구강질환을 발생시킨다. 질병의 원인되는 구강 내 세균막을 제거하는 방법으로 구강청결행위의 효능은 세치제의 사용과 더불어 세균의 성장을 억제하는 성분이 배합된 구강세정제(mouthwashes)를 사용함으로

써 증대된다. 물론 구강 내 세균을 제거하는 가장 기본적인 방법은 물리적 방법이지만, 물리적인 방법만으로 세균막을 효과적으로 제거하기 어려운 환경이나 조건 하에서는 구강세정제를 사용하여 추가적인 효과를 기대할 수 있다²⁾.

다양한 종류의 성분들이 구강세정제 배합되고 있다. 티몰(thymol) 및 유칼립톨(eucalyptol)과 같은 페놀계 화합물과 살리실산메틸(methyl salicylate)를 주성분으로 하는 구강세정제는 오래 전부터 사용되어왔으며 미국치과의사협회는 임상적으로 치면

세균막감소와 치은염에 효과가 있다고 인정하였다³⁾. 세틸피리디늄클로라이드(cetylpyridinium chloride, CPC)가 배합된 구강세정제는 치면세균막 형성을 억제하고 치은염을 예방하며 구강세균에 우수한 항균작용이 있다고 보고되어 있다⁴⁻⁶⁾. 클로르헥시딘(chlorhexidine), 에센셜 오일(essential oil) 등을 주성분으로 하는 구강세정제의 항균효과도 다양하게 보고 되고 있다⁷⁻⁹⁾. 임상연구에서는 다양한 종류의 항균물질을 포함하는 구강세정제를 사용한 후 최대 61%의 치면세균막 감소효과, 43%의 치은염 감소효과를 보였다⁹⁾. 또한, 여러 논문에서 구강세정제는 생체 외¹⁰⁻¹²⁾와 생체 내¹³⁻¹⁵⁾에서 항균효과를 나타내었다. 이처럼 다양한 종류의 구강세정제의 항균효과가 입증되면서 사용이 점차 증가하고 있고, 계속적으로 다양한 항균물질들을 포함한 구강세정제들이 개발되고 있다.

국내에서도 다양한 성분이 배합된 구강세정제가 시판되고 있다. 양이온성 항균 물질인 클로르헥시딘은 구강 내 존재하는 세균들을 광범위하게 사멸시킬 수 있는 대표적인 항균제이지만 처방에 의해서만 사용할 수 있고 장기간 사용 시 치아나 연조직에 착색이 유발되고 미각변화 가능성이 보고되고 있다⁷⁾. 클로르헥시딘은 사용 기간에 제한을 갖고 있는데 반하여 비이온성 항균물질인 에센셜 오일을 주성분으로 하는 구강세정제는 장기간 사용이 가능하다는 장점이 있어서 일반적 구강위생관리과정에 많이 사용되고 있다¹⁶⁾. 그러나 사용시 점막에 대한 강한 자극으로 인하여 사용을 습관화하는데 어려움이 있다. 클로르헥시딘과 같이 양이온성 항균물질인 CPC는 잔류효과가 상대적으로 낮으나 장기간 사용이 가능하고 보조구강환경관리제제로 치면세균막관리와 치은염증 완화에 효과가 있다고 보고되고 있다¹⁷⁾.

이제까지 국내에 시판되고 있는 구강세정제에 대해서는 일부 구강세정제에 대한 항균효과를 비교 분석하거나 구강세정제 원액의 효과에 대한 논문들이 일부 보고되고 있지만^{18,19)}, 다양한 종류의 구강세정제에 대한 평가와 희석된 상태에서의 효과 분석이 미흡하다. 이에 본 연구에서는 국내에 시판되고 있는 구강세정제 중에서 서로 다른 성분이 배합되어 있는 7종의 구강세정제에 대한 항균효과를 측정하여 비교, 분석하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상 구강세정제

국내 대형 할인매장에서 시판 중인 구강세정제 중 성분이 서로 다른 7종을 선택하여 연구대상으로 하였다. 동일회사 제품으로서 성분은 동일하나 맛과 향만 다른 구강세정제의 경우는 이 중 한가지만을 선택하였다. 연구 대상 구강세정제의 종류 및 포장에 표시되어있는 성분은 Table 1과 같다(시판 제품에 배합성분의 농도는 표시되어 있지 않았음).

2. 사용 균주

4가지 종류의 구강미생물을 사용하였다. 본 연구에서 사용한 균주 *Streptococcus mutans* ATCC 25175는 강릉원주대학

교 치과대학 미생물학 및 면역학교실에 보관된 실험실 균주이며 *Candida albicans* KCTC 7270, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4355, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277은 한국미생물자원은행(조선대학교 치과대학, 광주)에서 분양 받았다.

3. 배양조건

*S. mutans*는 Brain Heart Infusion (BHI) (Becton, Dickinson and Company, MD, USA) 액체배지, *Lactobacillus*는 lactobacillus MRS (Becton, Dickinson and Company, MD, USA) 액체배지에 접종하여 37°C CO₂배양기에서 18시간 배양하였다. *P. gingivalis*는 trypticase soy broth (Becton, Dickinson and Company, MD, USA)에 효모추출물(Becton, Dickinson and Company, MD, USA) 1 mg/ml, 헤민(Hemin, Sigma Chemical Co., MO, USA) 5 µg/ml과 메나디온(Menadione, Sigma Chemicals Co., MO, USA) 1 µg/ml을 첨가한 배지를 사용하여 90% N₂, 5% CO₂, 5% H₂를 포함하는 혐기성 환경(Bactron anaerobic chamber, Sheldon Manufacturing Inc., Cornelius, Oregon, USA)에서 18-20시간 배양하였다. *C. albicans*는 Sabouraud Dextrose (Becton, Dickinson and Company, MD, USA) 액체배지에 접종하여 18시간 동안 25°C 일반 배양기에서 배양하였다.

4. 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)와 최소살균농도(minimal bactericidal concentration, MBC) 측정

MIC는 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 항균제 감수성 검사 방법인 미량희석법(microdilution)의 일부 변경된 방법으로 측정하였다²⁰⁾. 실험에 사용한 미생물현탁액은 배양액을 1×10⁷ CFU/ml로 희석하여 사용하였다. 96-well round bottom microtitration plates에 구강세정제를 1/2씩 단계 희석한 뒤 세균을 최종농도 5×10⁵ CFU/ml로 접종하였다. Microtitration plate well의 최종 희석액은 100 µl였다. 미량희석법 트레이(trays)는 세균배양 조건과 같은 조건으로 배양하였다. 호기성 및 혐기성 세균에 대한 구강세정제의 MIC는 각각 18시간 및 48시간 배양 후 측정하였다. Microtitration plate를 육안으로 관찰하여 혼탁도가 없는 최소농도를 MIC로 결정하였다. 구강세정제의 MBC는

Table 1. Major ingredients of mouthwashes

Mouthwash	Major ingredients
MW1	Sodium fluoride, cetylpyridinium chloride
MW2	Cetylpyridinium chloride
MW3	Sodium fluoride, euclyptol, methyl salicylate, thymol, mentol
MW4	Eucalyptol, methyl salicylate, thymol, L-mentol
MW5	Sodium fluoride, dipotassium glycyrrhizinate, isopropyl methylphenol
MW6	Sodium fluoride, xanthorrhizol bamboo salts, ursodeoxycholic acid, triclosan
MW7	Sodium fluoride

세균성장이 보이지 않는 well에서 50 μ l를 한천배지에 도말하여 99.9% 이상의 치사가 일어나 미생물이 자라지 않는 농도를 MBC로 정하였다. 한천플레이트는 호기성 세균을 2일, 혐기성 세균을 5일 배양하였다. 최종 MIC와 MBC 농도는 각각 3회 반복하여 동일한 결과가 2번 이상 일치하였을 경우에 그 값으로 결정하였다.

5. 세균의 치사효과(killing effect) 측정방법

7종의 구강세정제 중 항미생물 효과가 상대적으로 우수하였던 MW1을 사용하여 4종류의 구강미생물을 대상으로 치사효과를 측정하였다. 구강세정제를 10.0%, 6.67%, 5.0%, 2.5%, 1.25%, 1% 농도로 희석한 후 세균을 5분 동안 처리하였다. 실험에 사용한 세균 농도는 1×10^9 /ml이었다. 처리 후 각각의 한천배지에 나선형 평판 배양법(spiral plate, IUL Instrumunts, Barcelona, Spain)를 사용하여 50 μ l 도말하였다. 한천 평판은 호기성 세균의 경우 2일, 혐기성 세균은 5일 배양 후 세균 자동집락계수기(IUL Instrumunts, Barcelona, Spain)로 콜로니 수를 측정하였다. 구강미생물 종류별로 각 농도당 4회 반복 측정하였다.

6. 주사전자현미경(scanning electron microscopy, SEM)

*S. mutans*와 *P. gingivalis*를 구강세정제 처리 한 후 주사전자현미경(SUPRA55VP, Zeiss, Germany)으로 세균의 형태학적 변화를 관찰하였다. 7종의 구강세정제 중 항미생물 효과가 가장 우수하였던 MW1을 사용하였다. 18시간 배양한 지수증식기(log phase) 세균에 구강세정제를 넣고 상온에서 1분과 60분 처리하였다. 구강세정제 처리 후 세균 현탁액을 원심 분리하여 실온에서 1시간 동안 2.5% 글루타르알데히드(pH 7.4)로 고정하였다. 고정한 샘플은 10분 동안 PBS로 3회 세척한 후 에탄올로 30분씩 탈수하였다. 시료는 건조 후 스텝에 부착시켜 금으로 코팅시킨 후 SEM으로 관찰하였다.

연구 성적

1. MIC와 MBC

모든 구강세정제 원액에서는 구강 세균이 자라지 않았다. *P. gingivalis*와 *C. albicans*가 모든 구강세정제에서 높은 감수성을 보였다. 각각의 구강세정제의 효과는 모든 세균에서 유사한 경향의

MIC와 MBC를 보였지만, CPC가 주성분인 MW1, MW2 구강세정제에서 상대적으로 낮은 값을 나타내었다(Table 2).

2. 구강세정제 농도가 세균 치사에 미치는 영향

실험에 사용한 균주에 대한 MW1구강세정제의 세균 치사효과는 농도 의존적이었다(Fig. 1). 모든 균주에 대해서 MW1은 10% 농도에서 높은 살균력을 보였고 농도가 낮을수록 살균력이 떨어짐을 관찰할 수 있었다. *S. mutans*와 *C. albicans*는 낮은 농도에서도 *L. acidophilus*와 *P. gingivalis*에 비하여 상대적으로 많이 살균됨을 관찰할 수 있었다.

3. 전자현미경 관찰결과

MW1으로 전처리한 후 세균 표면관찰 결과 비처리 세균에 비하여 표면이 거칠어지고 세포표면에 돌기가 생기는 것을 확인하였다(Fig. 2). 또한 처리 시간이 길수록 이러한 변화가 더욱 뚜렷하게 나타났다. *S. mutans*는 *P. gingivalis*에 비해 변화가 늦게 나타났다. *S. mutans*는 MW1으로 1분 전처리 하였을 때 비처리 세균과 많은 차이를 보이지 않았지만 1시간 처리하였을 때 표면 골기의 수가 증가함을 확인할 수 있었다. *P. gingivalis*는 MW1으로 1분 처리하였을 때 표면이 거칠어지기 시작하였고 1시간 처리 시에는 세균이 더 커지는것을 확인할 수 있었다.

고 안

구강 내에는 많은 종류의 세균이 존재한다. 구강 위생 관리가 제대로 이루어지지 않는다면 치면세균막이 침착되면서 치아우식증과 치은염 및 치주질환이 유발될 수 있다²¹⁾. 구강세정제를 사용은 일반적으로 물리적인 관리와 함께 사용하면서 구강건강을 유지하는 방법 중 하나이며 꾸준히 사용하면 구강 질환인 치아우식증 및 치주염과 같은 질환을 예방할 수 있다^{8,9)}.

이번 실험에 사용한 구강세정제들 모두 원액에서는 세균들이 자라지 않았고 희석을 하였을 때 CPC가 배합된 MW1과 MW2가 상대적으로 낮은 농도에서 항균력을 보였다(Table 2). MW1과 MW2의 차이는 불화나트륨(sodium fluoride)의 유무였지만 실험 결과에서 불화나트륨의 유무에 따른 뚜렷한 차이는 보이지 않았다. 불소는 기본적으로 pH 감소에 따른 치아경조직 탈회억제 및

Table 2. Determination (%) of Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and Minimal Bactericidal Concentration (MBC) by broth dilution method

Mouthwash	<i>S. mutans</i>		<i>L. acidophilus</i>		<i>C. albicans</i>		<i>P. gingivalis</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
MW1	0.024	0.780	0.097	0.390	0.195	0.195	0.0015	0.0031
MW2	0.024	0.195	0.024	0.390	0.097	0.195	0.0015	0.0061
MW3	25	50	25	50	12.5	25	12.5	12.5
MW4	25	50	50	100	12.5	50	12.5	12.5
MW5	50	100	100	100	25	50	6.25	12.5
MW6	50	100	100	100	25	50	6.25	12.5
MW7	50	100	100	100	25	50	6.25	12.5

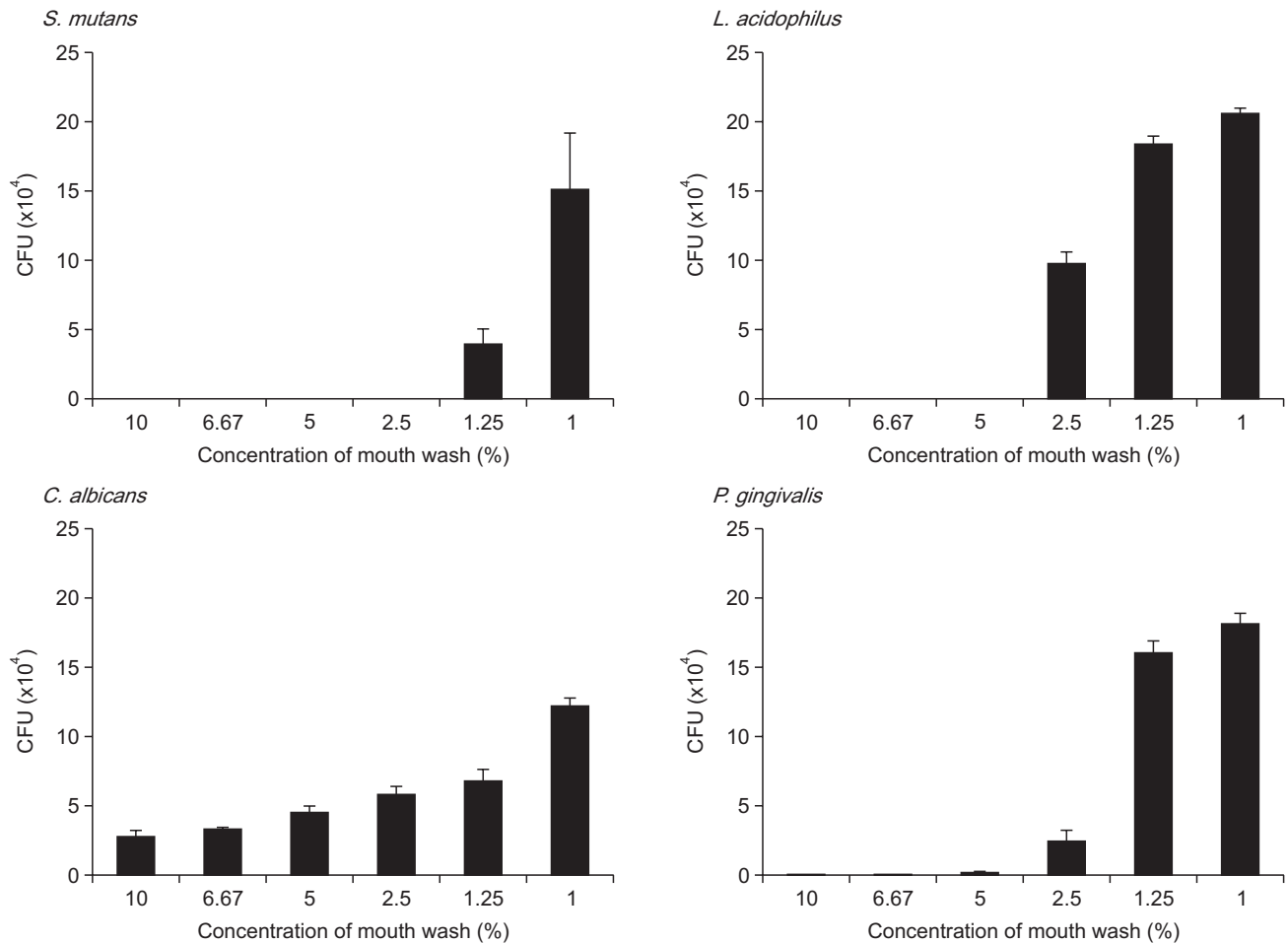


Fig. 1. Effects of MW1 on bacterial killing by concentration. Serially diluted mouth wash was added to wells containing bacteria and incubated for 5 min at 37°C to assess the effects of the mouthwash concentration. After incubation, each sample was serially diluted and the diluents were spread on agar plates. The plates were incubated for 2-5 days and the number of CFUs was measured. The values are the means of duplicate determinations and the error bars indicate standard deviations of the mean.

재광화에 기여한다²²). 또한 일부 연구에서 불소는 세균의 대사과정에 작용하여 세균의 산생성을 억제하는 작용을 할 수 있다고 하였다²³). Latimer 등²⁴)은 구강세정제 성분으로 CPC (0.075%)와 불화나트륨(225 ppm)을 각각 단독으로 사용한 경우와 복합적으로 사용한 경우를 비교 분석하였다. 불소 포함 여부와 관계없이 CPC의 포함 여부가 부유세균(planktonic bacteria)과 세균막 조건 모두에서 항균작용에 기여하였다고 보고하였다. 이번 연구에서는 실험실적으로 제조한 구강세정제가 아니라 시판되고 있는 세정제를 사용하여 그 농도가 동일한지는 알 수 없었으나, CPC와 불소가 배합된 MW1 구강세정제, CPC만 배합된 구강세정제 MW2, 불화나트륨만 배합된 구강세정제 MW7의 결과를 서로 비교해 볼 때 선행연구에서 세정제에 불소를 배합하였을 때 추가적인 항세균효과를 나타내지 못하였다고 한 결과와 일치된다고 볼 수 있었다. CPC는 뛰어난 항균 효과를 지녔고 구강 조직에 빠르게 흡착이 되어있다²⁵) 이후 서서히 방출되면서 약리 작용을 나타내지만²⁶) 클로르헥시딘에 비해 구강 조직에서 빠르게 분리되어 약리 작용이 오랜 기간 동안 지속될 수 없기 때문에 임상 실험에서 클로르헥시딘에

비해 낮은 효과를 보이는 것으로 보고되고 있다⁵). 하지만 CPC는 클로르헥시딘에 비해 치아 착색등의 부작용이 적은 편이기 때문에 많이 사용되고 있다^{27,28}).

CPC가 배합된 구강세정제 다음으로 낮은 농도에서 항균효과를 보인 구강세정제는 에센셜 오일을 배합한 구강세정제이었다 (Table 2). 에센셜 오일 배합 구강세정제의 우수한 항균효과는 여러 연구에서 보고되었다⁷⁻⁹). 또한 CPC가 배합된 구강세정제와 에센셜 오일이 배합된 구강세정제의 임상적 효과나 in vitro 항균효과에 관한 연구에서 에센셜 오일을 배합한 구강세정제가 일반적으로 우수한 효과를 가진다고 보고되었다^{29,30}). 이런 선행 연구와 비교해 볼 때 이번 연구는 상반된 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 시판 구강세정제에 배합된 유효성분의 농도 차이에서도 기인될 수 있을 것으로 추정해 볼 수 있지만, 시판 제품의 정확한 농도 정보가 제공되어있지 않아 추후 연구를 통해 실험실적으로 농도에 따른 효과를 비교 분석해 볼 필요가 있을 것으로 사료되었다.

이번 연구에서 상대적으로 낮은 농도에서 항균효과를 나타낸 MW1 구강세정제를 이용하여 세정제의 농도에 따른 세균 치사효

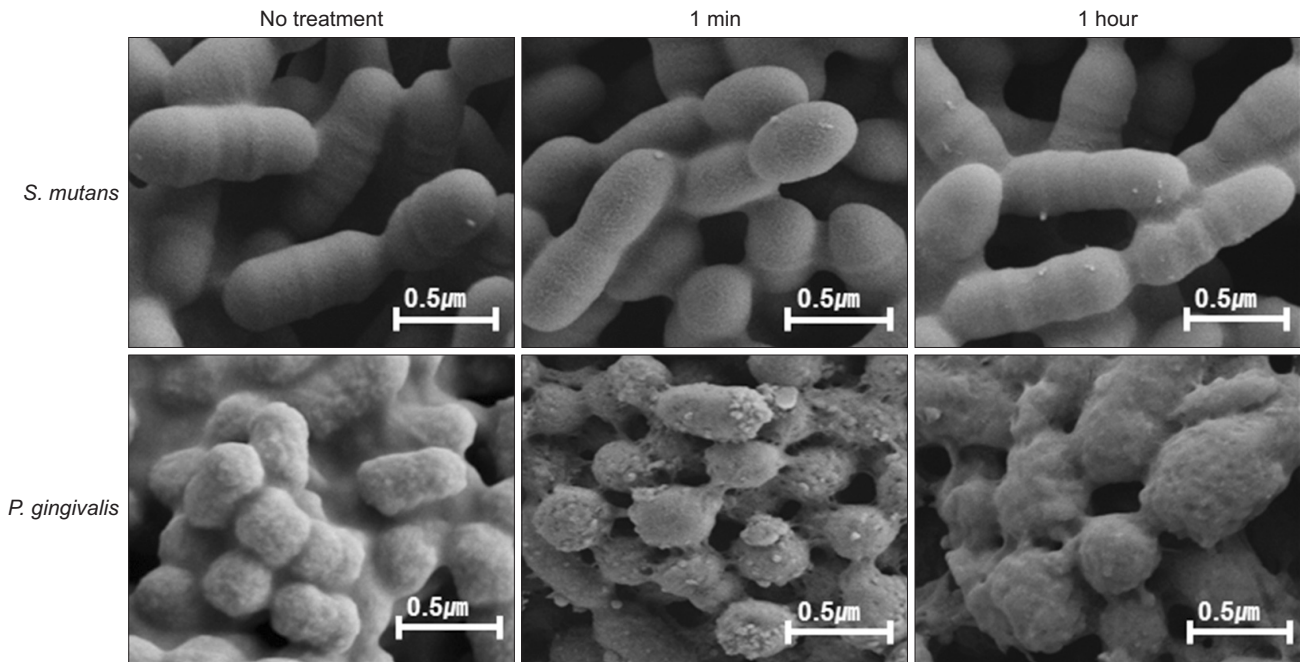


Fig. 2. Scanning electron microscopy (SEM). *S. mutans* and *P. gingivalis* were treated with MW1 mouthwash solution for 1 min and 60 min at 25°C. The bacterial suspensions after treatment were centrifuged and bacterial pellets were fixed in glutaraldehyde in PBS. The fixed samples were then washed and dehydrated in a graded series of ethanol, substituted with a series of isoamyl acetate. After critical point drying, the samples were mounted on stub, coated with gold and observed with SEM.

과를 분석하였다(Fig. 1). 이전 연구에서 국내에 시판 중인 여러 가지 구강세정제로 구강 내 미생물에 대한 항균효과를 확인한 연구가 있었다¹⁸⁾. 하지만 이번에 사용한 연구 대상 구강세정제와 차이가 있고 구강세정제의 원액에 대한 항균효과 만을 보았다는 한계가 있었다. 이번 연구에서는 세균에 대한 치사효과가 구강세정제의 농도에 의존적이며 세균의 종류에 따라 치사효과가 다르게 나타남을 확인 할 수 있었다. 구강세정제를 구강 내에 적용하였을 때 시간이 지남에 따라 농도가 희석되므로 농도에 따른 세균의 치사효과 비교는 의미가 있다고 볼 수 있다. *S. mutans*와 *C. albicans*는 낮은 농도의 구강세정제에서도 *L. acidophilus*와 *P. gingivalis*에 비하여 상대적으로 많은 세균 치사효과를 나타내었다. 그러나 세균의 치사효과는 부유상태의 세균에 적용하는 것과 여러 종류의 세균들이 세균막을 형성하였을 때 적용하는 것과는 차이가 있어서³¹⁾, 이번 연구결과를 생체 내 치면세균막에 확대 해석하는 데는 한계가 있다. 본 연구에서는 MIC 및 MBC 측정을 위하여 타액 내에서 세균을 성장시키며 항균효과를 측정하는 것이 아니고 세균 배양 배지를 사용하는 CLSI 방법을 사용하였다. 이러한 점은 실험에 사용한 세균 배지의 성분이 구강세정제에서 항균 성질을 가지는 유효 성분에 작용하여 항균 작용 억제에 영향을 초래할 가능성을 완전히 배제할 수는 없다. 또한 호기성 및 혐기성 세균에 대한 구강세정제의 MIC는 각각 18시간 및 48시간 배양한 후 측정하기 때문에 구강세정제 사용 시 세균이 노출될 수 있는 실제 시간인 수 분내의 짧은 시간에서의 항균 작용은 본 실험 결과와 차이가 있을 수도 있다. 그러나 향후 여러 종류의 세균으로 세균막 모형을 구성하는데

기초자료로서 의미가 있다고 볼 수 있다.

CPC는 제4 암모늄 화합물(quaternary ammonium compound)에 속하는 양이온성의 계면활성제로 세균의 세포막을 구성하고 있는 인산과 결합하여 세포벽을 손상시키고 투과력을 증가 시킴으로써 항균작용을 나타내는데, 이런 작용의 결과로 CPC를 배합한 구강세정제를 규칙적으로 사용하였을 경우 치면세균막 형성을 억제하고 치은염을 완화시킨다는 여러 연구 보고가 있다^{5,6)}. 선행 연구결과에서와 같이 이번 연구서도 SEM관찰을 통해 CPC를 배합한 MW1 구강세정제 적용이 세포벽에 손상을 초래함을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

본 연구는 실험실적으로 제조한 구강세정제가 아니라 시판되고 있는 제품을 대상으로 하였으며, 또한 구강에 사용할 때 희석될 수 있다는 점으로 고려하여 구강세정제 원액을 사용하지 않고 희석하여 분석하였다는데 의미를 둘 수 있지만, 시판제품의 라벨에는 유효 성분만이 표시되어 있고 정확한 농도가 파악되어 있지 않아서, 유효성분 자체의 효과를 직접적으로 비교 분석하는데 그 한계점이 있다.

결론

국내에 시판 중인 구강세정제 7종의 항미생물 효과를 확인하기 위해 구강 내에서 질환을 유발하는 대표적 구강미생물인 *S. mutans*, *L. acidophilus*, *C. albicans*, *P. gingivalis*를 대상으로 MIC와 MBC측정하여 비교 분석한 결과 CPC가 배합되어 있는 구

강세정제가 동일조건에서 상대적으로 낮은 농도의 MIC 및 MBC 값을 나타내었다.

References

- ten Cate JM. Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. *Odontology* 2006;94:1-9.
- Wu CD, Savitt ED. Evaluation of the safety and efficacy of over-the-counter oral hygiene products for the reduction and control of plaque and gingivitis. *Periodontol* 2000 2002;28:91-105.
- Council on Dental Therapeutics accepts Listerine. *J Am Dent Assoc* 1988;117:515-516.
- Allen DR, Davies R, Bradshaw B, Ellwood R, Simone AJ, Robinson R, et al. Efficacy of a mouthrinse containing 0.05% cetylpyridinium chloride for the control of plaque and gingivitis: A 6-month clinical study in adults. *Compend Contin Educ Dent* 1998;19 Suppl 2:20-26.
- Mandel ID. Chemotherapeutic agents for controlling plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* 1988;15:488-498.
- Renton-Harper P, Addy M, Moran J, Doherty FM, Newcombe RG. A comparison of chlorhexidine, cetylpyridinium chloride, triclosan, and C31G mouthrinse products for plaque inhibition. *J Periodontol* 1996;67:486-489.
- James P, Worthington HV, Parnell C, Harding M, Lamont T, et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;31:3:CD008676.
- Gunsolley JC. Clinical efficacy of antimicrobial mouthrinses. *J Dent* 2010;38 Suppl 1:S6-10.
- Barnett ML. The role of therapeutic antimicrobial mouthrinses in clinical practice: Control of supragingival plaque and gingivitis. *J Am Dent Assoc* 2003;134:699-704.
- Baker PJ, Coburn RA, Genco RJ, Evans RT. The in vitro inhibition of microbial growth and plaque formation by surfactant drugs. *J Periodontol Res* 1978;13:474-485.
- Gjerme P, Baastad KL, Rolla G. The plaque-inhibiting capacity of 11 antibacterial compounds. *J Periodontol Res* 1970;5:102-109.
- Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res* 1977;85:255-265.
- Roberts WR, Addy M. Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of antiseptic mouthrinses containing chlorhexidine, alexidine, cetyl pyridinium chloride and hexetidine. relevance to mode of action. *J Clin Periodontol* 1981;8:295-310.
- Emilson CG. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. *J Dent Res* 1994;73:682-691.
- Jenkins S, Addy M, Newcombe RG. A comparison of cetylpyridinium chloride, triclosan and chlorhexidine mouthrinse formulations for effects on plaque regrowth. *J Clin Periodontol* 1994;21:441-444.
- Araujo MW, Charles CA, Weinstein RB, McGuire JA, Parikh-Das AM, Du Q, et al. Meta-analysis of the effect of an essential oil-containing mouthrinse on gingivitis and plaque. *J Am Dent Assoc*. 2015;146:610-622.
- Haps S, Slot DE, Berchier CE, Van der Weijden GA. The effect of cetylpyridinium chloride-containing mouth rinses as adjuncts to toothbrushing on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg*. 2008;6:290-303.
- Kwon YR, Lee YS, Jeon JG, Han SK, Ahn JH, Chang KW. Preventive dentistry : Effect on biofilm formation of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus by some mouth rinsing solution sold in Korea. *J Korean Acad Dent Health* 2008;32:1-9.
- Song JH, Ban SH, Kim JB, Ahn JH, Kim JC, Ha WH, et al. Antibacterial effect of some mouth rinsing solution in Korea. *J Korean Acad Dent Health* 2007;31:482-488.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: M02-A10, vol.29, no.1. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute;2009:1.
- Thomas JG, Nakaishi LA. Managing the complexity of a dynamic biofilm. *J Am Dent Assoc* 2006;137 Suppl:S10-15.
- ten Cate JM. Contemporary perspective on the use of fluoride products in caries prevention. *Br Dent J* 2013;214:161-167.
- Bradshaw DJ, Marsh PD, Hodgson RJ, Visser JM. Effects of glucose and fluoride on competition and metabolism within *in vitro* dental bacterial communities and biofilms. *Caries Res* 2002;36:81-86.
- Latimer J, Munday JL, Buzza KM, Forbes S, Sreenivasan PK, McBain AJ. Antibacterial and anti-biofilm activity of mouthrinses containing cetylpyridinium chloride and sodium fluoride. *BMC Microbiol* 2015;15:169.
- Moran J, Addy M. The pattern of adsorption of cationic antiseptics to polymethylmethacrylate. *J Oral Rehabil* 1985;12:81-90.
- Bonesvoll P, Gjerme P. A comparison between chlorhexidine and some quaternary ammonium compounds with regard to retention, salivary concentration and plaque-inhibiting effect in the human mouth after mouth rinses. *Arch Oral Biol* 1978;23:289-294.
- Addy M, Roberts WR. The use of polymethylmethacrylate to compare the adsorption and staining reactions of some cationic antiseptics. *J Periodontol* 1981;52:380-385.
- Llewelyn J. A double-blind crossover trial on the effect of cetylpyridinium chloride 0.05 per cent (merocet) on plaque accumulation. *Br Dent J* 1980;148:103-104.
- Pan PC, Harper S, Ricci-Nittel D, Lux R, Shi W. In-vitro evidence for efficacy of antimicrobial mouthrinses. *J Dent* 2010 ;38 Suppl 1:S16-20.
- Elias-Boneta AR, Toro MJ, Noboa J, Romeu FL, Mateo LR, Ahmed R, Chaknis P, et al. Efficacy of CPC and essential oils mouthwashes compared to a negative control mouthwash in controlling established dental plaque and gingivitis: A 6-week, randomized clinical trial. *Am J Dent* 2015;28 Spec No A:21A-26A.
- Nyvad B, Crielaard W, Mira A, Takahashi N, Beighton D. Dental caries from a molecular microbiological perspective. *Caries Res* 2013;47:89-102.