Vol. 2, 2015 ISSN 2383-5583

### 한 국 접 착 치 의 학 회 지

The Journal of Korean Academy of Adhesive Dentistry





#### **Editorial Board**

#### **Editor-in-Chief**

김덕수, DDS, MSD, PhD

서울특별시 동대문구 경희대로 23

경희대학교 치과대학 보존학교실

전화: 02-958-9330,1

Fax: 02-960-5108

E-mail: dentist96@khu.ac.kr

최 경 규 (경희대학교) 박 성 호 (연세대학교)

박 정 원 (연세대학교) 장 주 혜 (서울대학교)

김 선 영 (경희대학교) 신 유 석 (연세대학교)

장 지 현 (강동 경희대병원) 백 장 현 (경희대학교)

#### 한국접착치의학회지

#### Vol. 2, 2015

#### **CONTENTS**

5	4급 복합레진 수복법	박 정 원
11	5급 와동의 수복	박 성 호
14	치간이개의 수복 – Matrix와 임시수복재를 이용하는 방법	최 경 규
18	The change of <i>Streptococcus mutans</i> biofilm inhibition effect of composite resins containing bioactive glass-ursolic acid after 6 month water storage	김 수 민

#### 4 급 복합레진 수복법

박 정 원 연세대학교 치과대학 보존학교실



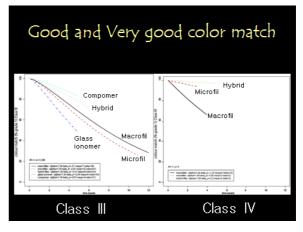
최근 치과 수복치료는 환자가 요구하는 심미적 결과를 만족시키면서 동시에 최대한 치질을 보존하는 방향으로 나아가고 있다. 과거에는 전치부의 4 급 와동을 수복해야 하는 경우 내구성의 문제나 심미적인 만족도를 위해 크라운으로 바로 넘어가는 경우가 많았으나 이는 과거 접착제의 내구성이 문제가 되거나 심미적으로 떨어지는 재료에 대한 술자의 경험으로 인한 선택이라 생각된다.

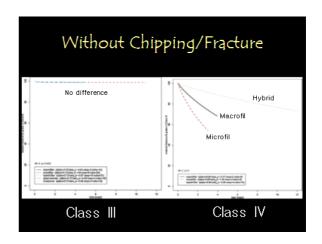
최근 보고에 의하면 4 급 복합레진 수복물의 10년 평균 성공률이 거의 90%에 달한다고 하며 재료의 개발로 인해 환자가 만족할 만한 심미적인 결과물 얻는 것이 가능해졌다

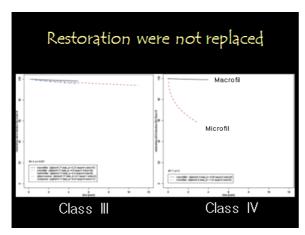
# Longevity of Class IV restoration Clinical effectiveness of direct anterior restoration – A meta-analysis - First meta-analysis in anterior teeth - 2015 Dental materials • Overall success rate after 10 years - Class III – 95% - Class IV – 90%

물론 레진의 표면 특성상 세라믹에 비해 시간이 지났을 때 변색이나 표면 거칠기가 증가하는 한계점은 있으나 이 부분도 점차 개선되고 있다. 다만 오랜 기간 좋은 결과를 유지하기 위해서는 기본적인 원칙에 충실하여야 하며 술자의 테크닉을 요하는 부분이 있다.

우선 재료의 선택을 살펴보면 4급 와동 수복시 색상의 유지, 레진의 파절 측면에서 봤을 때 hybrid type 의 재료를 선택하는 것이 유리하다.







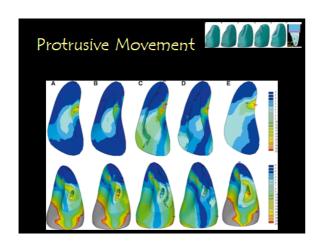
이상의 bevel을 주는 것을 추천한다. 이에 대한 최근 연구를 살펴보면 butt joint 나 1 mm bevel 을 부여한 경우가 2 mm bevel, 혹은 chamfer, stair-step chamfer 를 준 경우보다 파절 저항 측면에서 불리하다는 보고가 있다.

Cavity Preparation

• Bevel design

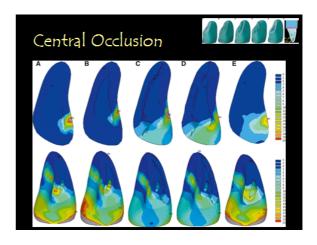
- Influence of cavity design on the biomechanics of direct composite resin restorations in Class IV preparations (Eur J Oral Sci, 2012)

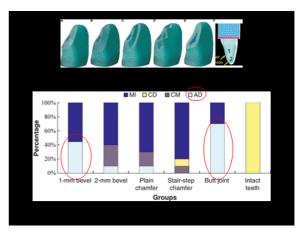
Imm bevel Emm bevel Chamber Scientific But John But Joh



다행히도 현재 시판되는 대부분의 재료는 hybrid type 이므로 특별히 microfil type 이나 macrofil type 을 찾아 사용하는 것이 아니라면 문제는 없을 것으로 생각된다.

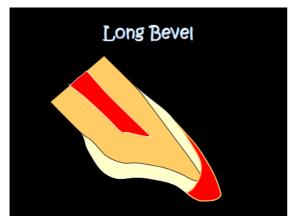
4 급 와동 수복 단계에서 제일 먼저 접하는 부분은 어떻게 와동을 형성하느냐이다. 일반적으로 4 급 와동의 순면은 최소 2 mm







그러나 본인의 경우 실제 2 mm 보다 긴 bevel 을 형성하는 편인데 이는 파절 저항성보다는 수복물과 치질간의 경계부에서 심미성을 높이기 위함이다.



다음으로 접착과정에 들어가는데 어떤 접착제를 선택하여야 할지 고민이 되는 순간이다. 사용하기 편리한 self-etch type 을 선택할지, 아니면 좀 번거로워도 etch-and-rinse (total-etch) type 을 선택하여야 할까 망설여지게 마련이다. 4 급 와동의 경우 모든 변연의 경계가 법랑질에 위치하는게 대부분이며 법랑질에 대한 산부식 효과는 인산을 사용하는 것이 가장 효과적이라 알려져 있다.



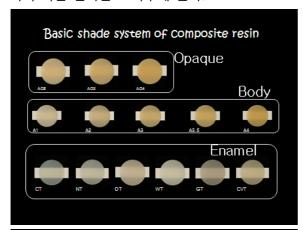
3-step 과 2-step 의 선택은 법랑질에 대한 내구성 측면에서는 큰 차이가 없다고 알려져 있으므로 어떠한 것을 선택하여도 문제가 없을 것으로 생각된다.

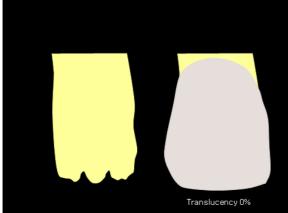


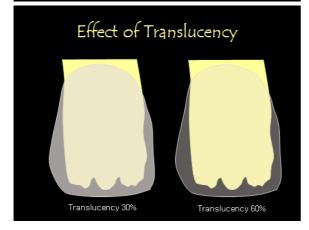
만약 self-etch 를 선택한다면 법랑질에 대해서만 인산으로 산부식하는 것을 추천한다. 다음으로 중요하고 어려운 부분이 색상의 선택이다. 이 부분은 실제 이론적인 설명으로 충분하지않으며 각 재료마다 같은 색이라고 하여도 기본 색의 차이가 있으며 여기에 투명도와 opalescence 등의 차이가 더해져 최종 결과물로 나타나기 때문에 내가 사용하는 재료의 특성을 정확히 파악하고 많은 임상 경험을 통해서만 만족스러운 결과를 얻을 수 있는 예술의 영역으로 생각된다.

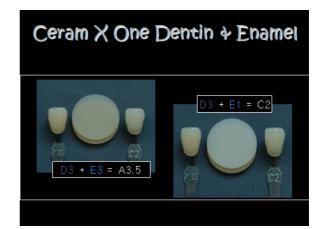
4 급 와동 수복은 일반적으로 opaque, body, enamel 혹은 transluscent 층으로 나누어 수복을 하게 되는데 각 층의 두께를 어떻게 build-

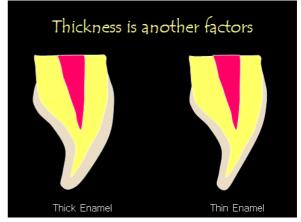
up 하느냐, 어떤 enamel shade 를 선택하느냐에 따라 다른 결과를 보여주게 된다.







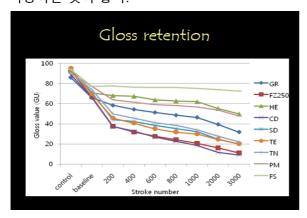




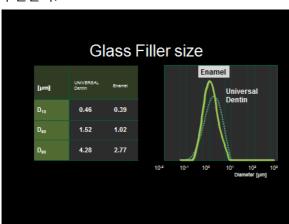
일반적으로 opaque 과 body 층을 수복하는 단계에서는 주변 자연치질에 비해 좀 더 어두운색을 보이도록 하여야 한다.



그 이유는 술식 과정 중에 자연치가 건조되어 구강내에서 타액에 젖어 있을 때 보다 밝은 색을 보인다는 것과 body 층 위에 enamel 층을 충전하게 되면 최종 수복물의 색이 밝아지게 되기 때문이다. Layering 시 고려하여야 할 또 다른 사항은 마지막 층을 수복하는 재료의 선택이다. Hybrid type 의복합레진의 경우 구강내에서 수복 후 시간이 지나면 gloss 가 소실되어 세균의 부착이 증가하고 심미성이 떨어지는 경우가 많다. 따라서 마지막 층은 필러 입자가 더 작은 재료를 사용하는 것이 좋다.



Microfil type 의 레진이 이러한 목적에는 적합하지만 국내에서 판매되는 제품이 제한적이고 투명도가 떨어져 전치부에 심미적인 목적으로 사용하기에는 적합하지 않다. 다행히 일부 제조사에서 판매하는 제품의 trans shade 혹은 enamel shade 제품은 이러한 목적에 맞게 성분을 조절해 놓았기 때문에 가장 외층에 사용하면 오랫동안 광택이 유지되면서 거칠지 않은 면을 유지할 수 있기 때문에 이러한 목적으로도 layering technique 을 사용할 것을 추천한다.



앞서 설명한 테크닉을 실제 임상 수복에 적용시킨 예를 보면 이해에 도움이 될 것이다.





















4 급 와동 수복은 접착 및 레진의 색, 환자의 교합에 대한 과학적인 지식이 바탕이 되어야 하며 모든 일이 그렇듯이 처음부터 만족할만한 결과가 나오는 것이 아니기 때문에 많은 고민과 연습을 통해 술자나 환자 모두 만족할 수 있는 수복물을 만들 수 있도록 노력하여야 한다. 여기에 미(美)에 대한 술자의 감각이 더해진다면 자연치와 유사한 레진 수복을 할 수 있을 것이라 생각된다.

#### Reference

- 1. Eid H (2002). Retention of composite resin restorations in class IV preparations. J Clin Pediatr Dent 26(3):251-256.
- 2. Hovden K (2002). Computerized shade selection and the complex Class IV composite. Dent Today 21(6):62-65.
- 3. Terry DA, Leinfelder KF (2004). An integration of composite resin with natural tooth structure: the Class IV restoration. Pract Proced Aesthet Dent 16(3):235-242; quiz 244.

#### 5 급와동의 수복

박성호

#### 연세대학교 치과대학 치과보존학교실

술후 합병증이 없는 5 급 와동의 수복을 상아질접착제를 위하여 먼저 적절히 사용해야 한다. Etch & rinse system 은 인산을 사용하여 법랑질에 좋은 접착을 얻을 수 있는 반면에, 잘 못 사용하게 되면, 문제를 일으킬 수 있는 technique sensitive 한 재료이다. Etch & rinse system 은 3-step 과 2-step 으로 나눌 수 있는데, 모두 wet bonding 이 필요 하고, 법랑질 및 상아질에 인산처리를 해야 한다. 하지만 법랑질 및 상아질에 대한 인산처리 시간은 달리 해 주어야 한다. 즉 법랑질 부위는 30 초 정도 충분히 해주는 것이 좋지만 상아질은 10-15 초 정도 처리해 주는 것이 좋다.



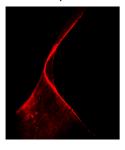


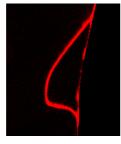
위 그림과 같이 법랑질과 상아질의 산처리 시간을 달리 한다.

2-step Etch & rinse system 은 접착제를 치아 면에 발라 줄 때 자칫 너무 얇아지게 되면, 광조사를 하여도 중합이 되지 않는 문제가 발생할 수 있다. 따라서 너무 얇아지지 않게, 조심하여야 한다. 따라서 air 로 접착제를 얇게 해주는 것 보다는, brush 로 골고루 발라지고, 너무 얇아지거나 두꺼워 지지 않고 골고루 발라주도록 노력하는 것이 중요하다. Self etching system은 2-step 과 1 step 으로 나눌 수 있는데, 인산처리를 할 필요가 없기 때문에 wet bonding 이나, 산적용 시간 골치 아픈 문제 없이 쉽게 적용할 수 있는 장점이 있니만 법랑질에 대한 산부식 효과는 etch & rinse system 보다는 떨어지는 단점이 있다. 법랑질 부위는 인산을 이용하고 상아질 부위는 self etching system 을 이용하는 방법이 접착을 쉽게 할 수 있는 방법이 될 수 있을 것이다.

다음으로 강조하고 싶은 내용은 반드시 치아를 preparation 해주는 것이 바람직하다는 것이다. 대부분의 경우, 와동의 형성은 치아의 외형에 준하여 법랑질은 bevel 을 부여하고 노출된 상아질을 아주 약간만 제거하는 것으로 충분하다. Non-carious cervical lesion (NCCL)은 해부학적으로 10-20um 정도의 hypermineralization layer 와 수십-수백 um 의 sclerotic dentine layer 로 구성되어 있다. 그런데 hypermineralization layer 에서는 산 등의 효과가 잘 나타나지 않고, 특히 self etching system 등은 접착효과를 제대로 나타내지 못한다. 그래서 적어도 이 층은 bur 를 이용하여 삭제를 하는 것이 접착에 도움이 된다. sclerotic dentine 은 dentinal tublule 부위만 막혀 있어서 그래도 hypermineralization 에서 보다는 나은 접착 효과는 얻을 수 있다.

NCCL 부위의 처치가 접착에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 교정적인 이유로 발치를 하기로 한 치아 중 NCCL 이 있는 치아를 선별하여 한 군은 약간의 preparation을 시행한 후에 접착제를 도포했고 다른 한 군은 preparation 없이 접착제를 도포하여 접착제가 침투해 들어가는 양상을 confocal microscope를 이용하여 관찰하였다.





그 결과 preparation 을 한 군에서는 접착제가 잘 침투해 들어간 반면 (좌측), preparation 을 하지 않은 군에서는 접착제의 침투가 거의 이루어 지지 않았다. (우측)

마지막으로 말씀드리고 싶은 것은 gingicord 등을 이용하여 cervical margin 을 노출하여 충전을 하자는 것이다. NCCL lesioon 의 cervical lesion 은 equi- 혹은 subgingival margin 인 경우가 대부분이다. 대부분의 경우 gingicord 를 넣으면 이것이 노출되는데, 그렇지 않은 경우 gingivectomy

나 crown lengthening 술식같이 치경부 변연을 노출시킬 수 있는 부가적인 술식이 필요하다.

더불어, 5 급 와동 충전에 flowable 레진만을 이용하는 것이 어떤지 많은 치과의사 선생님들께서 질문을 하신다. 와동의 크기가 크지 않을 때는 물론 편하고 좋은 방법이지만, 근본적으로 flowable composite 는 일반충전용 복합레진에 비하여 중합수축의 양이나 stress 가 훨씬 큰 제품이다.slide 에서 중합수축의 양이 크게 두 군으로 나뉘는 것을 볼 수 있는데, 크게 나타나는 쪽들이 다 flowable 레진 계열이다. 따라서 큰 와동을 flowable resin 만으로 수복하는 것은 좋은 방법이 아닐 것이다.

#### Reference

- 1. Kubo S, Yokota H, Yokota H, Hayashi Y (2003). Effect of low-viscosity resin-based composite on the microleakage of cervical restorations. Am J Dent 16(4):244-248.
- 2. Kubo S, Yokota H, Yokota H, Hayashi Y (2010). Three-year clinical evaluation of a flowable and a hybrid resin composite in non-carious cervical lesions. J Dent 38(3):191-200.
- 3. Reis A, Loguercio AD (2006). A 24-month follow-up of flowable resin composite as an intermediate layer in non-carious cervical lesions. Oper Dent 31(5):523-529.

#### 치간이개의 수복 - Matrix 와 임시수복재를 이용하는 방법

#### 최 경 규 경희대학교 치의학전문대학원 치과보존학교실

자연스런 치경부 외형(곡면)을 만들고 black triangle 을 최소화하는 방법으로 polyvinyl strip 과 레진계 임시충전재를 이용하는 방법이 있다. 레진계 임시수복재는 대체로 끈적거리는(sticky) 성질이 있어 matrix strip 을 일시적으로 고정시킬 수 있다(그림 1, 그림 5)

이 방법은 연습과 숙련을 필요로 하지만, 즉일 수복이 가능하고 예측 가능한 형태(predictable shape)를 만들 수 있는 장점이 있다. 복합레진에 의한 전치부의 광범위한 인접면 수복 및 치간이개의 처치 시 심미적인 치경부 형태를 얻는 것은 매우 중요하다. 임시수복재를 이용한 matrix technique 은 중등도 이상의 이개가 있는 경우, 실습 및 경험을 통하여 숙달한다면 유용한 방법이라 할 수 있다. 또한 치간이개의 처치에 있어서 불가피하게 나타나는 수직/수평 길이의 변화는 치료결과의 만족도에 큰 영향을 미친다. 따라서 복합레진에 의한 치료에 있어서 치관의 외형을 적절히 조정하고 표면의 형태 변화를 통하여 광학적 착시를 유발한다면 보다 심미적인 결과를 만들 수 있다.

그림 1. Matrix strip 과 임시수복재를 이용하여 치간이개를 수복하는 방법









- a) 시술 전 사진으로 치은압배사를 열구에 삽입한다.
- b) #11 치아의 수복을 위해 strip을 위치시키고, 반대쪽(#21) 치아와 strip 사이에 점도가 높은 임시수복재(Fermit N – Vivadent, Clip - Voco)를 충분히 채워 넣는다. 충분히 채워야 strip을 견고하게 고정시킬 수 있다.
- c) 얇은 레진기구 또는 탐침을 이용하여 절단측으로부터 시작하여 strip을 외측으로 밀면서 형태를 **자연스런** 곡면(특히, 치경부)으로 만든다. 이 과정은 시간이 많이 소요되지만(약 3~5분), 가장 중요하므로 세심한 정성이 필요하다. 수복물의 최종 형태는 이 과정에 의해 형성된 strip의 모양대로 결정된다.
- 주의 정리 및 연마에 의해 수복물의 크기가 감소될 수 있으므로 예상되는 정중선 보다 약간 크게 형성한 다음, 연마과정에서 정준선을 맞춘다.
- d) Strip의 형태가 완성되면 광중합하고, #11 치아의 표면에 산부식 및 접착제를 도포한다. \*주의- 치아의 mold를 형성하기 전에 표면을 미리 산부식하면 임시수복재가 잘 제거되지 않을 수 있다.
- e) 임시수복재에 의해 strip이 견고하게 지지되고 있으므로, 복합레진의 적절한 색조를 선택하여 부족함이 없도록 설측까지 충분히 채운다. 치경부의 색조는 절단측에 비하여 대개 vita-shade에서 1-2단계 어둡다는 것을 고려한다. 복합레진을 광중합하기 전 strip과 복합레진 사이에 얇은 탐침으로 골을 형성(ditch, 2급 아말감에서 밴드를 제거하지 전에 밴드와 아말감 사이에 골을 파주는 과정과 동일) 한다. 이는 선각을 둥글게 하여 정리 및 연마에 도움을 주기 위함이다.

- f) 복합레진의 광중합이 끝난 후 strip과 임시수복재를 제거하고 정리 및 연마를 시행하여 하나의 치아를 완성한다. 완전히 연마해야 차후에 임시수복재의 제거<i) 과정>가 용이하다.
- g) 두 번째(#21) 치아의 수복. strip을 삽입하고 #11 치아의 치경부 측에만 임시수복재를 채운다.
  - \*주의 임시수복재가 접촉점 상방까지 채워지면 수복 후 접촉점이 열리고 공간이 생긴다.
- h) 충분한 시간을 투자하여 치경부 형태를 부여한 후 광중합하여 mold를 형성한다.
- i) 산부식 및 접착제를 도포한 후, #11 치아와 동일한 방법으로 복합레진을 채우고 광중합한다.
- j) strip과 임시수복재를 제거한 후, fine diamond point 및 composite finishing bur를 이용하여 정리하고 치은측 변연은 #12 scalpel을 이용하여 overhanging margin을 제거한다.
- k) 치간부는 interproximal polishing strip(3M ESPE)을, 평활면은 polishing disc(Sof-Lex disc-3M, Pogo-Dentsply)를 이용하여 연마한다.
- l) 완성된 최종수복.

#### 임상 팁 1

Polyvinyl strip 은 항성 펴지려는 성질을 갖는다. 비록 임시수복재의 끈적이는 성질에 의해일시적으로 변형된 형태를 갖지만, 떨어지거나 외력을 가하면 다시 펴지려는 경향을 갖는다. 이를 방지하기 위해 다음과 같이 ball burnisher 로 pre-contouring 을 시킬 수 있고, 또다른 방법으로는 strip 을 유리시계(hour glass)모양으로 오려서 인접면의 곡면을 유지할 수 있다.



그림 2. A. 임시수복재에 의해 strip 을 고정시킨 후 외력을 가하면 떨어져 다시 펴진다. B. strip 을 유리시계 (hour glass) 모양으로 오려서 삽입하고 임시수복재에 의해 고정시킨다.

#### 임상 팁 2

임시수복재에 의하여 만들어진 공간에 복합레진을 채우고 광중합 했을 때 순면과 인접면이 예각으로 만나기 때문에 외형의 정리 및 연마(finishing & polishing)에 많은 시간을 소요하게 된다. 이를 해결하기 위하여 복합레진을 채우고 광중합 하기 전에 탐침이나 interproximal carver 와 같은 예리한 기구를 사용하여 strip 과 경계부에 구(ditching)를 형성한다(그림 3).



그림 3. 부드러운 외형을 형성하기 위한 구형성.

#### 임상 팁 3

이 방법에서 최종적으로 strip 의 두께에 대한 고려가 필요하다. wedge 를 삽입할 수 없으므로 구치부 인접면 수복 시 접촉점 회복을 위한 노력(push-in technique)과 동일하게 기구조작을 통하여 strip 의 두께를 보상하여야 한다(그림 4).

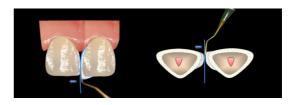


그림 4. 치간이개 수복 시 접촉점 회복. Polyvinyl strip의 두께는 약 80 μm로 시각적으로 보이며 음식물이 낄 정도의 공간이 만들어 질 수 있다. 복합레진을 채우고 광중합 하기 전에 기구의 넓적한 면을 이용하여 strip을 반대편(중심선)쪽으로 밀면서 광중합한다. #11 치아가 원심측으로 밀렸다가 광중합 후 기구를 놓으면 제자리로 돌아오면서 공간은 폐쇄된다.

#### 증례. Matrix strip 과 임시수복재 방법



그림 5. strip 과 임시수복재를 이용한 치간이개 수복.

- a) 초진 사진으로 치간유두가 소실되어 있고 공간이 약 2 mm 정도 벌어져 있다.
- b) #21 치아에 치은압배사를 삽입하고 산부식 및 접착제를 도포하였다.
- c) 기구조작이 충분히 가능한 공간이 있기 때문에 #21 치아를 직접법으로 수복하고 마무리 하였다. 이 때 인접면은 최종 연마해야 임시수복재의 부착을 방지할 수 있다.
- d) strip 을 삽입하고 반대측(#21 치아측)의 접촉점 하방에 임시수복재를 충분히 채운 후(화살표) 탐침으로 strip 의 좌측(#11 치아측)에서 형태를 부여하였다.
- e) 형태가 완성된 matrix 와 임시수복재를 광중합하였다.

f) matrix 공간과 절단측에 복합레진을 충전하여 수복을 마무리 하였다. 치간유두의 형태가 개선되었으나 약간의 black triangl 이 있다.

술 후 1개월, 치은의 형태가 완전히 회복되었고 심미적으로 안정된 결과를 보이고 있다.

#### Reference

- 1. McComb D (1989). Composite diastema closure. Univ Tor Dent J 2(2):13-18.
- 2. Prabhu R, Bhaskaran S, Geetha Prabhu KR, Eswaran MA, Phanikrishna G, Deepthi B (2015). Clinical evaluation of direct composite restoration done for midline diastema closure long-term study. J Pharm Bioallied Sci 7(Suppl 2):S559-562.
- 3. Willhite C (2005). Diastema closure with freehand composite: controlling emergence contour. Quintessence Int 36(2):138-140.

# The change of *Streptococcus mutans* biofilm inhibition effect of composite resins containing bioactive glass-ursolic acid after 6 month water storage

Soomin Kim, Jeong-won Park

<sup>1</sup> Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University, Seoul, Republic of Korea

#### \*Correspondence to Jeong-won Park, DDS, PhD.

Professor, Dept. of Conservative Dentistry, Yonsei University College of Dentistry, 211 Unjooro, Gangnam-gu, Seoul, Korea 135-720

TEL, +82-2-2019-1350; FAX, +82-2-3463-4052; E-mail, pjw@yuhs.ac

#### **Abstract**

**Objective**: This study was to compare the antibacterial effect of different composites containing BAG and/or UA in fresh and 6-month aged composites, and which incorporation sites are more effective to keep their effect in aqueous condition.

Materials and methods: Antibacterial composites containing bioactive glass (BAG) filler and ursolic acid (UA) were prepared. BAG (62 mol% SiO<sub>2</sub>, 31 mol% CaO, 4 mol% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, and 3 mol% F) was manufactured by sol-gel methods, ball milled, sieved, and micronized. For this experiment, one control and four experimental composites were prepared following the composition of Table 1: Conventional composite (10% OX50 silica nanofiller instead of BAG) as control, 10% BAG filler coated with UA containing group (UA BAG), 10% BAG filler and 0.5% UA containing matrix group (BAG+UA Monomer), and 10% BAG filler coated

with UA(0.25%) and 0.25% UA containing matrix group (UA BAG+UA Monomer). The upper surfaces of specimens were polished with 800-grit, 1200-grit, 1500-grit SiC papers. After biofilm assay on previous study (Kim, 2013), all specimens were performed ultrasonic cleaning and stored in distilled water for 6 months. Streptococcus mutans biofilm was cultured on the experimental composite surface and their CFU was measured after 48 hours incubating. The t-test for variable CFU was used for biofilm assay to analyze statistical significance between new and aged groups.

#### **Results and conclusion**

Conclusion: In glucose source, experimental new composites containing BAG and/or UA showed significant reduction of biofilm formation by S. *mutans*. However, after storage in distilled water for 6 months, experimental composites containing BAG showed decreased biofilm inhibition effect. The composites with UA added to the monomer still showed significant

inhibition effect of the biofilm formation by *S. mutans* even after storage in distilled water. In sucrose source, the new composites of UA Monomer group showed significant antibacterial effect under any salivary treatment. After storage in distilled water for 6 months, the biofilm formation was affected by salivary treatment. In Saliva non-coating groups, there were no significant difference in all groups, and in saliva coating groups, BAG + UA Monomer and UA BAG + UA Monomer groups showed lower CFU values.

Following the results of this experiment, it can be concluded that the UA incorporated in monomer was more effective method to keep the antibacterial effect in any biofilm formation condition after 6 month water storage condition.

Within the limitation of this experiment, this result indicates that UA inhibits biofilm formation by *S. mutans* and suggests that UA has potential for use as an effective antibacterial agent to prevent dental caries in the future.

#### I. Introduction

Dental caries is one of the most prevalent chronic diseases (Selwitz et al., 2007), and the composite resins have been used widely for treatment of this disease. *Streptococcus mutans* is a well-known major pathogen of this disease (Mitchell, 2003), and when it forms biofilm on the tooth and restoration surface, recurrent caries can be developed. Therefore, to control recurrent dental caries, it is necessary to inhibit the formation of cariogenic bacterial biofilm.

A number of studies have tried to develop antibacterial composite resins, using chlorhexidine diacetate (CHXA) (Hiraishi et al., 2008; Leung et al., 2005), sliver nanoparticles (Cheng et al., 2012), 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) (Imazato et al., 1997), quaternary ammonium polyethylenimine (PEI)

nanoparticles (Beyth et al., 2006), and calcium phosphate (Melo et al., 2013) for inhibiting bacterial biofilms. However, these experimental antibacterial composite resins had several limitations, for examples, short-term effectiveness, decreased physical property, toxicity, or poor color stability (Fan et al., 2011; Kohnen and Jansen, 1995; Nohr and Macdonald, 1994), and none of them were successfully used in the clinic.

Bioactive glasses (BAG) have been used as scaffolds for bone tissue engineering (Hench et al., 2004; Rezwan et al., 2006; Xynos et al., 2001), and recently also used for treatment of hypersensitive teeth (Lynch et al., 2012). Bioactive glasses contain oxides of calcium, sodium, phosphorus, and silicon in a proportion that provides the material with surface activity (Stoor et al., 1998). Recently, it was observed that Bioactive glass and other silicate-based glasses have antibacterial (Allan et al., 2001; Hu et al., 2009; Lepparanta et al., 2008; Stoor et al., 1998) and anti-inflammatory effects (Day and Boccaccini, 2005).

Stoor et al. (1998) confirmed that the bioactive glass S53P4 (SiO<sub>2</sub> 53%, Na<sub>2</sub>O 23%, CaO 20%, and P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 4%) in aqueous solutions appears to have a broad antimicrobial effect on microorganisms of both supra- and subgingival plaque (Stoor et al., 1998). But in most studies, BAGs have been used in powder form, so it is necessary to observe the antimicrobial effect when it is added to restorative material. The antibacterial effect of composite resins containing BAG has not been reported enough. Ursolic acid (UA) is one of the triterpenoid compounds that is isolated from edible and medicinal plants and has many beneficial effects, such as preventing liver damage, reducing inflammation, inhibiting tumor growth and reducing hyperlipidemia (Zhou et al., 2012). In addition, UA are relatively non-toxic (Liu,

1995). Some studies have confirmed that triterpenoid compounds have antibacterial activity (Fontanay et al., 2008; Scalon Cunha et al., 2007; Zhou et al., 2012). Zhou et al. (2012) evaluated the antibacterial activity of triterpenoic acids (ursolic acid and oleanolic acid) against cariogenic microorganisms in vitro. They demonstrated that ursolic acid and oleanolic acid can reduce bacterial biofilm formation at 1/4 MIC, whereas higher UA concentrations display antibacterial activity against *S. mutans* in mature biofilms (Zhou et al., 2012).

In the previous studies reported that antibacterial composite resin containing BAG and UA have inhibitory effect on biofilm formation of *S. mutans* (Kim, 2013; Kim et al., 2013; Kim, 2012). UA was found to suppress the bacterial growth of *S. mutans* when they were added to the matrix of commercial nanofilled composite (Kim et al., 2013). Another study evaluated whether UA has more antibacterial effect when it is incorporated to composites into BAG filler or matrix. Their study showed that antibacterial effect is largest when composites contain BAG filler and UA in the matrix group (Kim, 2013).

However, previous studies were performed right after production of fresh antibacterial composite resin specimen, within less than 24 hours. Therefore, in the previous research, we can conclude that BAG and UA suppress the bacterial growth of *S. mutans* when they are added to the composite in the early period. However, the antibacterial effect can be changed by the sites of incorporation and mechanism if they were exposed in the aqueous condition, such as intraoral environment, and it is necessary to evaluate their long-term effect.

The objective of this study was to compare the antibacterial effect of different composites containing BAG and/or UA in fresh and 6-month aged composites, and which incorporation sites are more effective to keep their effect in aqueous condition.

#### II. Materials and Methods

## 1. Preparation of experimental composite resins

Antibacterial composites containing bioactive glass (BAG) filler and ursolic acid (UA) were prepared. BAG (62 mol%  $SiO_2$ , 31 mol% CaO, 4 mol%  $P_2O_5$ , and 3 mol% F) was manufactured by sol-gel methods, ball milled, sieved, and micronized (Sturtevant, Hanover, MA, USA). Average particle size was determined by laser particle size measurements and it was ranged from 0.04 to 3.0  $\mu$ m (Beckman Coulter LS13 320, Brea, CA, USA) (Brown et al., 2011).

For making UA coated BAG (UA BAG), UA (U6753, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, U.S.A.) was dissolved in 70% ethanol and mixed with BAG. Then, the solvent was evaporated under negative pressure in vacuum condition and complete evaporation was confirmed by comparing the weight before and after the treatment. To incorporate the ursolic acid into the resin matrix (UA Monomer), the ursolic acid was mixed with TEGDMA and stirred thoroughly with magnetic stirrer. Afterwards, BisGMA was added in 50:50 ratios to the resin matrix.

For this experiment, one control and four experimental composites were prepared following the composition Table of Conventional composite (10% OX50 silica nanofiller instead of BAG) as control, 10% BAG filler containing group (BAG), 10% BAG filler coated with UA containing group (UA BAG), 10% BAG filler and 0.5% UA containing matrix group (BAG+UA Monomer), and 10% BAG filler coated with UA(0.25%) and 0.25% UA containing matrix group (UA BAG+UA Monomer).

All specimens were prepared in uniform shape and size (5 mm in diameter, 2 mm in height) because the same Teflon mold were placed between two glass slides on both sides, and light curing was performed on composite resins in mold for 40 seconds. Since the biofilm had been formed at the upper surface, extra attention was required not to turn the specimen upside down. Thus the bottom side was marked with an oil-based pen. The upper surfaces of specimens were polished with 800-grit, 1200grit, 1500-grit SiC papers (Deerfos, Inchon, Korea) in order. The specimens for the aged resin group (stored in distilled water) were fabricated on the previous study by Kim (Kim, 2013), and re-used for this study. After biofilm assay on previous study (Kim, 2013), all specimens were performed ultrasonic cleaning and stored in distilled water for 6 months. Distilled water was replaced with new distilled

water once a week. After 6 months, specimens were sterilized with ethylene oxide gas.

To assure that this procedure can remove the previously formed biofilm, scanning electron microscopic (300M, Hitachi, Tokyo, Japan) images were taken.

Table 1. Filler and matrix compositions of experimental groups

Groups	oups Filler (%)			Matrix (%)	
	Glass	OX50	BAG	UA	
Control	61	10	0	0	29
BAG	61	0	10	0	29
UA BAG	61	0	9.5	0.5	29
BAG + UA Monomer	61	0	10	0	29 (0.5% UA included)
UA BAG + UA Monomer	61	0	9.75	0.25	29 (0.25% UA included)

The composition of matrix used in this study was 49.38% of Bis-GMA, 49.38% of TEGDMA, 0.40% of CQ, 0.80% of EDMAB, and 0.05% of MEHQ.

Control: silica nanofillers

BAG: bioactive glass UA: ursolic acid

Bis-GMA: bisphenol A diglycidyl methacrylate TEGDMA: triethylene glycol dimethacrylate

CQ: camphorquinone

EDMAB: amine-ethyl-4-dimethylaminobenzoate

MEHQ: monoethyl ether hydroquinone

UA BAG group : Ursolic acid was coated to BAG

fillers

BAG + UA Monomer group : Ursolic acid was

dissolved in resin matrix

UA BAG + UA Monomer group : Ursolic acid was

added both BAG filler and resin matrix

#### 2. Biofilm assay

## 2.1. Assignment of the experimental groups

Four experimental composite resins (BAG, UA BAG, BAG+UA Monomer, UA BAG+ UA Monomer) were compared with the control group, and comparison between aged resin group and new resin group was performed. To assess the effect of saliva, the composite resin disks were submerged in either phosphate buffered saline (PBS, pH = 7.2 : non-coating group) or unstimulated whole saliva (UWS: saliva coating group), and were placed on a rocking incubator for 2 hours. For the nutrient source provided for bacterial growth, either glucose or sucrose added to the medium. was The combinations of all these variables are displayed in Figure 1.

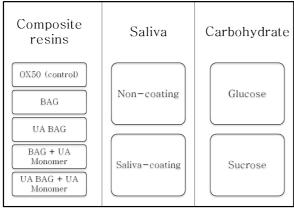


Fig. 1. Assignment of the experimental groups. Five different composites were tested with

different salivary coating and carbohydrate sources.

BAG: bioactive glass, UA: ursolic acid.

## 2.2. Preparation of *Streptococcus mutans* and saliva

UWS was collected from four healthy volunteers by the spitting method. participants had undergone dental examination prior to the experiment to ensure that they were free from any acute caries or periodontal disease. Saliva was collected between 9:00 a.m. to 11:00 a.m. to minimize the effects of diurnal variability on salivary composition (!!!)**INVALID** CITATION !!!). The collected samples were centrifuged at 3,500 g for 10 minutes to remove any cellular debris. The resulting supernatant was then filter-sterilized through a Stericup & Steritop (Millipore, Billerica, MA, USA), and stored in 4°C before use.

 $S.\ mutans$  UA159 was grown in the brain heart infusion (BHI) agar plate. A colony of  $S.\ mutans$  was transferred to BHI broth, and the broth was incubated overnight. The culture was then re-suspended to BHI broth in 1 : 20 ratio and incubated again until it reached exponential phase. The optical density at 600 nm (OD<sub>600</sub>) was measured, and the broth was used when the OD<sub>600</sub> reached 0.5 (approximately  $6.5 \times 10^7$  CFU per mL).

#### 2.3. Biofilm assay

The sterilized resin disks were transferred to a polystyrene 24-well (flat bottom) cell culture cluster (Corning Inc., Corning, City NY, USA). The prepared *S. mutans* suspension was diluted to BHI broth which was kept warm in the incubator. The medium contained 20 mM of either glucose or sucrose as a carbohydrate source. The composite resin disks which were treated

with either UWS or PBS were inoculated with 1 mL medium containing 1:100 dilution of S. mutans suspension. Biofilms were allowed to form at 37°C in a 5% CO2 for 24 hours.

Afterwards, the disks were washed twice with 2 mL of sterile PBS to remove planktonic and loosely bound cells. The specimen was then placed in a conical tube with 3 ml of PBS and sonicated using 30 seconds pulse at 20 W four times with simultaneous cooling by placing the tube in the ice box. The disrupted biofilm suspension was serially diluted, plated in duplicate on BHI agar, and incubated at 37°C in a 5% CO2 atmosphere for 48 hours. The plating was carried out by automatic sample plater (easySpiral®, Interscience, Saint Nom, France). The accuracy of dilution and plating by easySpiral® apparatus was confirmed by previous study (Kim, 2013). After 48 hours, colony forming units (CFUs) were counted visually, scaled by dilution factors. The colonies that did not grow symmetrically were excluded from counting.

If the CFU values between duplicates differed more than 20%, the data was discarded. For statistical reason, all data acquired on the same day were also discarded, too. The flow chart of procedures was summarized in Figure 2.

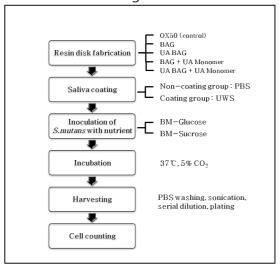


Fig. 2. Procedures of biofilm assay.

PBS : phosphate-buffered saline, UWS : unstimulated whole saliva,

BM : biofilm medium, BAG: bioactive glass, UA: ursolic acid.

## 3. Ion release measurement using ion chromatography

#### 3.1. Preparation of the specimens

Calcium and fluoride ions concentration released from new and aged specimens were analyzed quantitatively by using Ion Chromatography(IC) (790 Personal IC, Metrohm, Herisau, Switzerland).

Five disk specimens of each group were immersed and stored in individual plastic containers with 5 ml distilled water for 24 hours. At the time of ion release measurement, each specimen was removed from its container and the storage solution was extracted using a 5 cc syringe for specimen analysis. Then the transferred to a new container with 5 ml of fresh distilled water, and this storage transfer method was continued for 7 days 1-day interval. Free calcium and on fluoride ions showed well-defined retention time and the peak corresponding to ion concentration could readily be determined from the chromatogram. The ion release of IC can be measured up to 0.001ppm.

#### 4. Statistical analysis

The t-test for variable CFU was used for biofilm assay to analyze statistical significance between new and aged groups. To evaluate the effect of different storage time (new vs. aged) and composition of composite resins, two-way analysis of variance was performed. To analyze the effect of composite composition on the biofilm formation, one-

way analysis of variance (ANOVA) followed by a multiple-comparison Tukey test was performed. The amount of calcium and fluoride ions from new and aged composites was compared using t-test with adjusted P value considering repeated measurement during 7 days. The P value less than 0.05 was considered to be statistically significant (SAS 9.3 ver., SAS Institute Inc., Cary, NC).

#### III. Results

#### 1. Biofilm assay

The 2-way ANOVA demonstrated that there was no interaction between the type of composite resins and storage period in distilled water under any carbohydrate source and salivary treatment. Also, CFU values according to type of composite resins and storage period showed significant difference regardless of carbohydrate source and salivary condition (p < 0.05).

## 1.1 The influence of the storage period in distilled water

## 1.1.1. Glucose used as carbohydrate source

In Table 2 and Figure 3, there was no significant difference between new and aged resin under saliva non-coating condition. However, in saliva coating condition, the CFU value of all aged resin groups significantly increased compared to the new resin groups (p < 0.05).

## 1.1.2. Sucrose used as carbohydrate source

In Table 3 and Figure 4, in salivary non-coating condition, CFU value of aged resin significantly increased more than new resin on all experimental groups except in the control group (p < 0.05). However, in saliva coating

condition, the CFU value of aged resin was significantly lower than new resin in control, BAG and UA BAG groups (p < 0.05).

## 1.2. The influence of the type of composite resins

## 1.2.1. Glucose used as carbohydrate source

In saliva non-coating condition, only the BAG + UA Monomer group showed significantly lower CFU value than control group in aged resin (p < 0.05). However in new resins, the CFU values of all experimental groups were significantly lower than control group (p < 0.05).

In saliva coating condition, there was no significant difference between control and BAG group on aged resin. However, the CFU value of UA BAG, BAG + UA Monomer, and UA BAG + UA Monomer group was significantly lower than control group (p < 0.05). There was no significant difference among experimental groups. In the new resin groups, the CFU value of all experimental groups was significantly lower than control (p < 0.05). Also, there was no significant difference among experimental groups.

## 1.2.2. . Sucrose used as carbohydrate source

In Saliva non-coating condition, there was no significant difference between all groups of aged resins. In the new resin groups, the CFU value of BAG + UA Monomer, UA BAG + UA Monomer group was significantly lower than control (p < 0.05), but no significant difference could be seen between all experimental groups.

In saliva coating condition, the CFU value of BAG + UA monomer, UA BAG + UA Monomer group was significantly lower than control group in aged resin and new resin (p

< 0.05), but there was no significant difference between all experimental groups.

Table 2. Biofilm formation by S.mutans on various experimental groups in the presence of glucose. The amount of bacteria are expressed as CFU/ml (mean  $\pm$  S.D.)

	Group Saliva	ох	BAG	BAG UA	UA Monome +BAG	r UA Monomer +BAG UA
New resin	Saliva non-coatin	$6.01 \times 10^7$ <b>g</b> $\pm 1.80 \times 10^7$	$3.95 \times 10^7$ $\pm 1.02 \times 10^7$	$3.90 \times 10^7$ $\pm 1.37 \times 10^7$	$2.52 \times 10^7$ $\pm 1.03 \times 10^7$	3.28×10 <sup>7</sup> ±1.27×10 <sup>7</sup>
	Saliva coating	1.71×10 <sup>6</sup> ±6.92×10 <sup>5</sup>	1.01×10 <sup>6</sup> ±3.92×10 <sup>5</sup>	9.41×10 <sup>5</sup> ±2.96×10 <sup>5</sup>	6.12×10 <sup>5</sup> ±2.67×10 <sup>5</sup>	6.87×10 <sup>5</sup> ±2.95×10 <sup>5</sup>
Aged	Saliva non-coatin	6.06×10 <sup>7</sup> <b>g</b> ±3.63×10 <sup>7</sup>	4.34×10 <sup>7</sup> ±2.62×10 <sup>7</sup>	4.31×10 <sup>7</sup> ±2.85×10 <sup>7</sup>	2.53×10 <sup>7</sup> ±1.61×10 <sup>7</sup>	3.36×10 <sup>7</sup> ±2.04×10 <sup>7</sup>
resin	Saliva coating	2.53×10 <sup>6</sup> ±1.05×10 <sup>6</sup>	1.68×10 <sup>6</sup> ±9.13×10 <sup>5</sup>	1.63×10 <sup>6</sup> ±5.19×10 <sup>5</sup>	1.05×10 <sup>6</sup> ±5.33×10 <sup>5</sup>	1.27×10 <sup>6</sup> ±6.77×10 <sup>5</sup>

Table 3. Biofilm formation by S.mutans on various experimental groups in the presence of sucrose. The amount of bacteria are expressed as CFU/ml (mean  $\pm$  S.D.)

	Group Saliva	ох	BAG	BAG UA	UA Monomer +BAG	· UA Monomer +BAG UA
New	Saliva non- coating	2.16×10 <sup>7</sup> ±1.23×10 <sup>7</sup>	1.20×10 <sup>7</sup> ±9.10×10 <sup>6</sup>	1.19×10 <sup>7</sup> ±9.01×10 <sup>6</sup>	7.63×10 <sup>6</sup> ±7.46×10 <sup>6</sup>	8.41×10 <sup>6</sup> ±8.22×10 <sup>6</sup>
resin	Saliva coating	$2.94 \times 10^{7}$ $\pm 9.19 \times 10^{6}$	$1.89 \times 10^7$ $\pm 8.84 \times 10^6$	$1.82 \times 10^7$ $\pm 7.48 \times 10^6$	$1.30 \times 10^7$ $\pm 6.78 \times 10^6$	$1.43 \times 10^7$ $\pm 7.17 \times 10^6$
Aged resin	Saliva non- coating	2.66×10 <sup>7</sup> ±6.35×10 <sup>6</sup>	2.14×10 <sup>7</sup> ±6.04×10 <sup>6</sup>	2.12×10 <sup>7</sup> ±5.24×10 <sup>6</sup>	1.97×10 <sup>7</sup> ±9.61×10 <sup>6</sup>	2.00×10 <sup>7</sup> ±8.02×10 <sup>6</sup>
	Saliva coating	1.84×10 <sup>7</sup> ±8.51×10 <sup>6</sup>	1.21×10 <sup>7</sup> ±3.87×10 <sup>6</sup>	1.18×10 <sup>7</sup> ±5.25×10 <sup>6</sup>	9.28×10 <sup>6</sup> ±4.59×10 <sup>6</sup>	9.25×10 <sup>6</sup> ±6.52×10 <sup>6</sup>

Table 4. Relative ratio (CFU mean value in experimental group/CFU mean value in control group, %) of antibacterial effect in the presence of glucose. Ratio of control group is expressed as 100%.

	<u> </u>		<i>J</i> 1	1		
		OX	BAG	BAG UA	BAG + UA	UA BAG + UA
		Ολ	DAG	DAG UA	Monomer	Monomer
Saliva	New resin	100.00	65.72	64.89	41.93	54.58
non-coating	Aged resin	100.00	71.62	71.12	41.75	55.45
Saliva	New resin	100.00	59.06	55.03	35.79	40.18
coating	Aged resin	100.00	66.40	64.43	41.50	50.20

Table 5. Relative ratio (CFU mean value in experimental group/CFU mean value in control group, %) of antibacterial effect in the presence of sucrose. Ratio of control group is expressed as 100%.

		OX	BAG	BAG UA	BAG + UA	UA BAG + UA
		Ολ	DAG	DAG UA	Monomer	Monomer
Saliva	New resin	100.00	55.56	55.09	35.32	38.94
non-coating	Aged resin	100.00	80.45	79.70	74.06	75.19
Saliva	New resin	100.00	64.29	61.90	44.22	48.64
coating	Aged resin	100.00	65.76	64.13	50.43	50.27

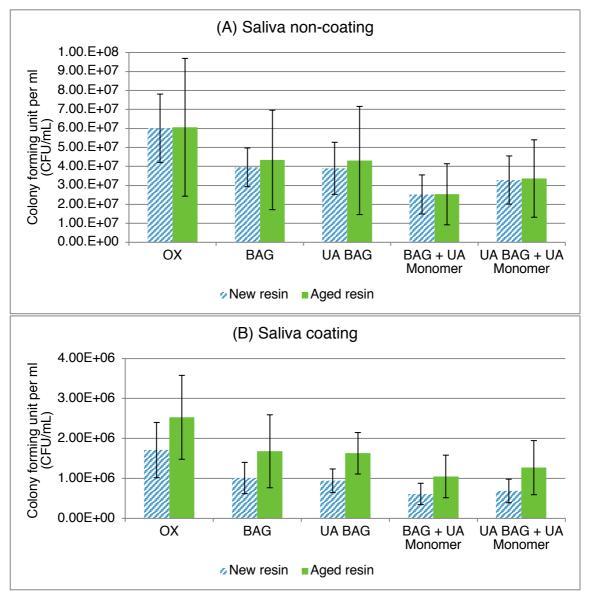


Fig.3. Biofilm formation by *s.mutans* on various experimental composite resins in BM glucose. (A) CFU per ml on saliva non-coating treatment. (B) CFU per ml on saliva coating treatment. Different letter indicates statistically significant differences between groups according to resin type (P < 0.05) (small letter: significant differences in new resin, capital letter: significant differences in aged resin). Significant differences (P < 0.05) between new resin and aged resin are indicated by asterisk.

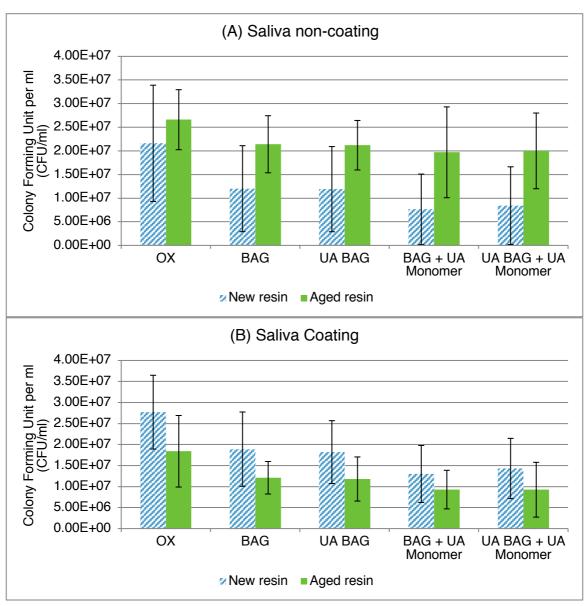


Fig. 4. Biofilm formation by *s.mutans* on various experimental composite resins in BM sucrose. (A) CFU per ml on saliva non-coating treatment. (B) CFU per ml on saliva coating treatment. Different letter indicates statistically significant differences between groups according to resin type (P < 0.05) (small letter: significant differences in new resin, capital letter: significant differences in aged resin). Significant differences (P < 0.05) between new resin and aged resin are indicated by asterisk.

## 2. Ions release measurement using ion chromatography

## 2.1. The influence of the type of composite resins (aged resin group and new resin group)

The data comparing calcium and fluoride ions release in aged resin group and new resin group during experimental period in distilled water is shown as a Table 6, 7 and a graph in Fig. 5.

#### 2.1.1. Calcium ion release

The amount of calcium ion release on new resin group was observed to be significantly higher than aged resin group on day 1, 5 (p < 0.05), not on day 2, 3, 4, 6, 7 (Fig. 5(A)).

#### 2.1.2. Fluoride ion release

The amount of fluoride ion release on new resin group was observed to be significantly higher than aged resin group on all experiment period (p < 0.05)(Fig. 5(B)).

## 2.2. The influence of the storage time of composite resins

The mean value of calcium and fluoride ion released into distilled water is presented in Table 6, 7. In all control groups, calcium and fluoride ions were not detected.

#### 2.2.1. Calcium ion release

In new resin specimen, a significantly high concentration of ion release was shown on the 1<sup>st</sup> day. The amount of ion release showed significant decrease on the 2<sup>nd</sup> day, but increased on the 3<sup>rd</sup> day. From the 3<sup>rd</sup> to

the 7<sup>th</sup> day, the ion release amount was not changed a lot.

The release of calcium ions in aged resin specimen was similar from the 1<sup>st</sup> to the 7<sup>th</sup> day.

#### 2.2.2. Fluoride ion release

The amount of fluoride ion release from new resin specimens was highest on the 1<sup>st</sup> day. The ion release steeply decreased on the 2<sup>nd</sup> day, just as shown in the calcium ion, the amount increased on the 3<sup>rd</sup> day. The fluoride ion release showed tendency to decrease from the 5<sup>th</sup> to the 7<sup>th</sup> day.

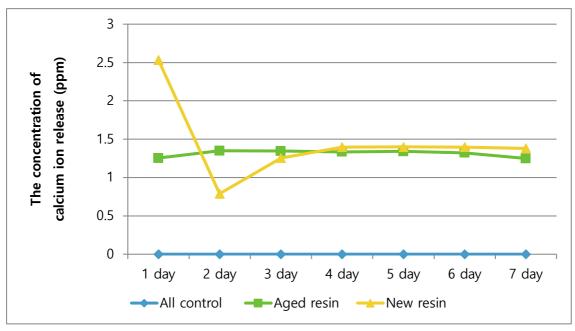
The amount of ion released from aged resin specimens was shown to be minimal on the 1<sup>st</sup> day, and stopped release completely starting from the 2<sup>nd</sup> day (ppm value=0).

Table 6. The amount of calcium ion release according to storage time on various experimental group. The concentrations of calcium ion are expressed in ppm. (mean value)

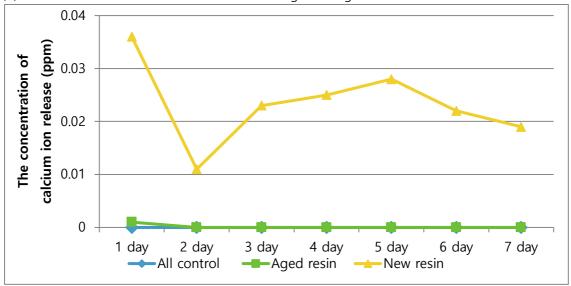
	1 day	2 day	3 day	4 day	5 day	6 day	7 day
New resin	2.532	0.789	1.256	1.397	1.400	1.397	1.380
Aged resin	1.253	1.349	1.344	1.335	1.341	1.322	1.249

Table 7. The amount of fluoride ion release according to storage time on various experimental group. The concentrations of fluoride ion are expressed in ppm. (mean value)

	1 day	2 day	3 day	4 day	5 day	6 day	7 day	
New resin	0.036	0.011	0.023	0.025	0.028	0.022	0.019	
Aged resin	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	



(A)The concentration of calcium ion release according to storage time



(B)The concentration of fluoride ion release according to storage time

Fig. 5. The concentration of calcium and fluoride ion release per day on aged resin group and new resin group (ppm). Significant differences (adjusted p value <0.05) between new resin and aged resin are indicated by asterisk. (adjusted p-value: p-value considering repeated measurement during 7 days)

#### **IV. Discussion**

There have been numerous studies investigating antibacterial effect of composite resins containing various antibacterial agents in the past. However, they all had a common limitation of focusing only on the short-term effectiveness of the antibacterial agents. The longevity of dental restorations is often determined by their ability to resist plaque

formation and consequently avoid secondary caries (!!! INVALID CITATION !!!). Although it has been suggested that early plaque formation on solid surfaces is influenced predominantly by the oral environment rather than by material-dependent parameters (!!! INVALID CITATION !!!), composite resins having antibacterial properties could successfully prevent or delay caries formation

and prolong the longevity of restorations. This study assessed the long-term antibacterial effect of composite resins containing BAG and UA on *S. mutans* biofilm formation after 6 months storage in distilled water.

When we compared the antibacterial effect of the new and aged resins, some aged composite showed decreased antibacterial effect but some did not – for example, sucrose saliva coating and glucose saliva non-coating groups (Table 4 and 5). The possible reason why the aged groups showed decreased activity could be explained by the surface-free energy change in composite resin during distilled water storage (Tanner et al., 2001). After water storage, the contact angle of materials with high surface-free energy decreases, resulting in the increase of surface wettability. On a high surface-free energy substrate such as glass, increase in surface wettability and surface-free energy may produce more favorable condition to adhesion in terms of surface area and chemical reactivity.

However, when sucrose was used as carbohydrate source under saliva coating, the new resin showed greater decrease of CFU value than aged resin. When sucrose is applied as carbohydrate source, S. mutans forms insoluble glucan under saliva coating condition, leading to promotion of biofilm formation. Due to this phenomenon, in the new resin group, there was higher CFU value under saliva coating condition than under non-coating condition. The lower CFU value in the aged resin group may be due to the occurrence of change in surface energy under saliva condition after water storage, leading to the offset of the effect of glucan. However, this is only an assumption, so further study is necessary.

It is difficult to conclude the changes in antibacterial properties of composite resin after 6-month storage in distilled water in one sentence, due to the fact that the significant difference in CFU value occurred differently according to carbohydrate source and salivary condition. However, in each new and aged resin group, the comparison between 5 groups according to resin type can lead to an understanding of the tendency in their antibacterial property changes.

When glucose was used as carbohydrate source, regardless of the salivary condition, all experimental groups showed significantly higher antibacterial effects than the control in new resin group. On the contrary, there was no significant difference between the BAG group and the control in the aged resin group, with the exception of BAG + UA Monomer group which showed significantly higher antibacterial effects than the control group.

When sucrose was used as carbohydrate source, the group where UA was added to the monomer showed significantly high antibacterial effect in the new resin category, but in the aged resin category, there was no significant difference in all groups under saliva non-coating condition.

However, while there was no significant difference in the group where only BAG was included in the aged resin category, the group with UA added to the monomer showed significantly higher antibacterial properties than the control group in the aged resin category. Therefore, we can see that the composite with UA added to the monomer maintains its antibacterial properties even after 6-month storage in distilled water.

This result is due to difference of the antibacterial mechanism between BAG and UA. BAG manifests its antibacterial properties by releasing alkaline and alkaline earth ions in an aqueous environment (Kozai et al., 1987). The experimental composite resin used in this study is BAG filler with fluoride. Previous study explained that antibacterial effect of BAG

groups was due to the release of fluoride ions (Kim, 2013). To prove this, in this study, we evaluated whether fluoride is actually released in BAG-containing resin by ion chromatography. Actually, there was continuous fluoride ion release on new resin group, but it was not released on aged resin group. It can be assumed that all fluoride ions were released from composite disk surface after 6 month storage in distilled water.

BAGs do not containing fluoride manifests its antibacterial effect by release of several ions such as silicate, calcium, phosphorus, and sodium from the glass in an aqueous environment, resulting in an increase in pH (!!! INVALID CITATION !!!). It is speculated that anticariogenic ions in BAG had leached out these ions even after the long-term storage in distilled water.

On the contrary, the UA didn't leach out in the surrounding area. On previous study (Kim, 2013), the results of biofilm assay which is based on direct and close contact between the test microorganism and the surface of test materials was that UA had antibacterial effect. For this reason, UA must be in direct contact with the bacteria to manifest its antibacterial effects. The method of a number of study that UA showed antibacterial effect was almost biofilm assay (!!! INVALID CITATION !!!).

In current study, the result of antibacterial effect on new resin group was different from previous study (Kim, 2013). Previous study showed that experimental BAG groups had initial antibacterial effect against *S. mutans* biofilm formation comparing to control, and UA showed additional effects on reducing biofilm formation. Therefore, BAG + UA monomer group reduced the amount of biofilm formation significantly when glucose was given as a carbohydrate source. When sucrose was given, treatment with ursolic acid did not show any

additional effects of decreasing biofilm formation. In this study, there were no significant differences between all experimental groups in new resin group under all conditions. The first probable cause is the difference in statistical method. In the previous study, a 2way ANOVA with Bonferroni correction was applied. The second probable cause is the difference in experimental condition. In the previous study, 500µL medium containing carbohydrate source and *S. mutans* suspension was used. However, the CFU value in this study was obtained by inoculating and incubating 1ml of medium, leading to CFU value which was relatively quite large compared to the previous study. Kozai et al(1987) showed that UA inhibited the insoluble glucan synthesis catalysed by a crude glucosyltransferase preparation from *S. mutans*. This antibacterial effect may be suppressed under 1mL medium.

There are several limitations in the present study. First, the changes in the antibacterial effect of composite disks were evaluated after storage in distilled water, but this is quite different from actual intraoral environment. When stored in artificial saliva, the changes in antibacterial effect of BAG by ion release and uptake may show different results. Second, after storage in distilled water, due to the speculation that the changes in biofilm inhibition effect is somewhat linked to surface energy. If we could measure the surface energy of the composite disk, it may be possible to interpret the result of sucrose under saliva coating condition. Third, 6 month is not enough time to evaluate the longterm effect of these composite resins, and further studies are needed.

#### V. Conclusion

In glucose source, experimental new composites containing BAG and/or UA showed significant reduction of biofilm formation by S.

mutans. However, after storage in distilled water 6 months. experimental composites containing BAG showed decreased biofilm inhibition effect. The composites with UA added to the monomer still showed significant inhibition effect of the biofilm formation by S. mutans even after storage in distilled water. In sucrose source, the new composites of UA Monomer group showed significant antibacterial effect under any salivary treatment. After storage in distilled water for 6 months, the biofilm formation was affected by salivary treatment. In Saliva non-coating groups, there were no significant difference in all groups, and in saliva coating groups, BAG + UA Monomer and UA BAG + UA Monomer groups showed lower CFU values.

Following the results of this experiment, it can be concluded that the UA incorporated in monomer was more effective method to keep the antibacterial effect in any biofilm formation condition after 6 month water storage condition.

Within the limitation of this experiment, this result indicates that UA inhibits biofilm formation by *S. mutans* and suggests that UA has potential for use as an effective antibacterial agent to prevent dental caries in the future.

#### References

- 1. Allan I, Newman H, Wilson M (2001). Antibacterial activity of particulate bioglass against supra- and subgingival bacteria. *Biomaterials* 22(12).1683-1687.
- 2. Beyth N, Yudovin-Farber I, Bahir R, Domb AJ, Weiss EI (2006). Antibacterial activity of dental composites containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles against Streptococcus mutans. *Biomaterials* 27(21).3995-4002.
- 3. Brown ML, Davis HB, Tufekci E, Crowe JJ, Covell DA, Mitchell JC (2011). Ion release from a

- novel orthodontic resin bonding agent for the reduction and/or prevention of white spot lesions. An in vitro study. *The Angle orthodontist* 81(6).1014-1020.
- 4. Cheng L, Weir MD, Xu HH, Antonucci JM, Lin NJ, Lin-Gibson S *et al.* (2012). Effect of amorphous calcium phosphate and silver nanocomposites on dental plaque microcosm biofilms. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials* 100(5).1378-1386.
- 5. Day RM, Boccaccini AR (2005). Effect of particulate bioactive glasses on human macrophages and monocytes in vitro. Journal of biomedical materials research Part A 73(1):73-79. 6. Fan C, Chu L, Rawls HR, Norling BK, Cardenas HL, Whang K (2011). Development of an antimicrobial resin--a pilot study. Dental materials : official publication of the Academy of *Dental Materials* 27(4).322-328.
- 7. Fontanay S, Grare M, Mayer J, Finance C, Duval RE (2008). Ursolic, oleanolic and betulinic acids: antibacterial spectra and selectivity indexes. *Journal of ethnopharmacology* 120(2):272-276.
- 8. Hannig M: Transmission electron microscopy of early plaque formation on dental materials in vivo. *European Journal of Oral Science* 107(1): 55-64, 1999.
- 10. Hardt M, Witkowska HE, Webb S, Thomas LR, Dixon SE, Hall SC, et al.: Assessing the effects of diurnal variation on the composition of human parotid saliva: quantitative analysis of native peptides using iTRAQ reagents. *Analytical Chemistry* 77(15): 4947-4954, 2005.
- 11. Hench LL, Xynos ID, Polak JM (2004). Bioactive glasses for in situ tissue regeneration. *Journal of biomaterials science Polymer edition* 15(4).543-562.
- 12. Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tay FR, Pashley DH (2008). Chlorhexidine release and water sorption characteristics of chlorhexidine-

- incorporated hydrophobic/hydrophilic resins. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials* 24(10).1391-1399.
- 13. Hu S, Chang J, Liu M, Ning C (2009). Study on antibacterial effect of 45S5 Bioglass. *Journal of materials science Materials in medicine* 20(1).281-286.
- 14. Imazato S, Kinomoto Y, Tarumi H, Torii M, Russell RR, McCabe JF (1997). Incorporation of antibacterial monomer MDPB into dentin primer. *Journal of dental research* 76(3):768-772.
- 15. Kim B (2013). Antibacterial effect of composite resins containing bioactive glassursolic acid on the biofilm of streptococcus mutans. Seoul, Seoul : Graduate School, Yonsei University.
- 16. Kim S, Song M, Roh BD, Park SH, Park JW (2013). Inhibition of Streptococcus mutans biofilm formation on composite resins containing ursolic acid. *Restorative dentistry & endodontics* 38(2).65-72.
- 17. Kim Y (2012). Inhibitory effect of composite resins containing bioactive glass-triterpenoids filler on the biofilm of Streptococcus mutans =. Seoul :, Graduate School, Yonsei University.
- 18. Kohnen W, Jansen B (1995). Polymer materials for the prevention of catheter-related infections. *Zentralblatt fur Bakteriologie : international journal of medical microbiology* 283(2).175-186.
- 19. Kozai K, Miyake Y, Kohda H, Kametaka S, Yamasaki K, Suginaka H *et al.* (1987). Inhibition of glucosyltransferase from Streptococcus mutans by oleanolic acid and ursolic acid. *Caries research* 21(2).104-108.
- 20. Kurek A, Nadkowska P, Pliszka S, Wolska KI: Modulation of antibiotic resistance in bacterial pathogens by oleanolic acid and ursolic acid. *Phytomedicine* 19(6): 515-519, 2012.
- 21. Lepparanta O, Vaahtio M, Peltola T, Zhang D, Hupa L, Hupa M *et al.* (2008). Antibacterial effect of bioactive glasses on clinically important

- anaerobic bacteria in vitro. *Journal of materials* science Materials in medicine 19(2).547-551.
- 22. Leung D, Spratt DA, Pratten J, Gulabivala K, Mordan NJ, Young AM (2005). Chlorhexidine-releasing methacrylate dental composite materials. *Biomaterials* 26(34):7145-7153.
- 23. Liu J (1995). Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of ethnopharmacology* 49(2).57-68.
- 24. Lynch E, Brauer DS, Karpukhina N, Gillam DG, Hill RG (2012). Multi-component bioactive glasses of varying fluoride content for treating dentin hypersensitivity. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials* 28(2).168-178.
- 25. Melo MA, Weir MD, Rodrigues LK, Xu HH (2013). Novel calcium phosphate nanocomposite with caries-inhibition in a human in situ model. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials* 29(2):231-240.
- 26. Mitchell TJ (2003). The pathogenesis of streptococcal infections: from tooth decay to meningitis. *Nature reviews Microbiology* 1(3):219-230.
- 27. Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati ME, Breschi L, Prati C, et al.: Evaluation of bacterial adhesion of Streptococcus mutans on dental restorative materials. *Biomaterials* 25(18): 4457-4463, 2004.
- 28. Nohr RS, Macdonald JG (1994). New biomaterials through surface segregation phenomenon: new quaternary ammonium compounds as antibacterial agents. *Journal of biomaterials science Polymer edition* 5(6).607-619.
- 29. Ren D, Zuo R, Gonzalez Barrios AF, Bedzyk LA, Eldridge GR, Pasmore ME, et al.: Differential gene expression for investigation of Escherichia coli biofilm inhibition by plant extract ursolic acid. *Applied Environmental Microbiology* 71(7): 4022-4034, 2005.

- 30. Rezwan K, Chen QZ, Blaker JJ, Boccaccini AR (2006). Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 27(18):3413-3431.
- 31. Scalon Cunha LC, Andrade e Silva ML, Cardoso Furtado NA, Vinholis AH, Gomes Martins CH, da Silva Filho AA *et al.* (2007). Antibacterial activity of triterpene acids and semi-synthetic derivatives against oral pathogens. *Zeitschrift fur Naturforschung C, Journal of biosciences* 62(9-10).668-672.
- 32. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB (2007). Dental caries. *Lancet* 369(9555).51-59.
- 33. Stoor P, Soderling E, Salonen JI (1998). Antibacterial effects of a bioactive glass paste on oral microorganisms. *Acta odontologica Scandinavica* 56(3).161-165.
- 34. Tanner J, Vallittu PK, Soderling E (2001). Effect of water storage of E-glass fiber-reinforced composite on adhesion of Streptococcus mutans. *Biomaterials* 22(12):1613-1618.
- 35. Unosson E, Cai Y, Jiang X, Loof J, Welch K, Engqvist H: Antibacterial properties of dental luting agents: potential to hinder the development of secondary caries. *Int J Dent* 2012: 529495, 2012.
- 36. Xynos ID, Edgar AJ, Buttery LD, Hench LL, Polak JM (2001). Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass 45S5 dissolution. *Journal of biomedical materials research* 55(2).151-157.
- 37. Zhou L, Ding Y, Chen W, Zhang P, Chen Y, Lv X (2012). The in vitro study of ursolic acid and oleanolic acid inhibiting cariogenic microorganisms as well as biofilm. *Oral diseases*.

#### 한국접착치의학회 회칙

- 4. 회원의 연구·개발 활동 지원 및 학술정보 교환
- 5. 국내외 관련 학회들과 학술교류 및 협력
- 6. 회원 상호 간의 친목 도모
- 7. 기타 본 회의 목적 달성에 필요한 사항

제1조 (명칭)

제1장 총칙

본 회는 "한국접착치의학회(The Korean Academy of Adhesive Dentistry)" 라 한다.

제3장 회원

제2조 (사무소)

본 회는 본부를 서울특별시에 두고 각 시, 도에 지 부를 둘 수 있다. 제5조 (회원의 자격 및 입회)

본 회 회원은 본 회의 목적에 동의하고 접착치의 학 분야에 관심이 있는 자로, 본 회에 입회 원서를 제출하고 소정의 입회비 및 연회비를 납부한 후 이사회의 승인을 거쳐 회원 자격을 취득한다.

제2장 목적 및 사업

제6조 (희원의 종류)

제3조 (목적)

본 회는 접착치의학(adhesive dentistry) 분야의 연구·개발과 학술 교류 및 회원 상호 간의 친목을 도모함을 목적으로 한다.

본 회는 다음과 같은 회원으로 구성된다.

1. 정 회원 : 본 회의 목적에 동의하는 치과의사 및 관련 분야 연구자

2. 준 회원 : 치과대학 및 관련 대학 재학생, 치과 기공사 및 치과위생사

3. 명예회원 : 정회원이 아닌 자로써 본 회의 목적 에 동의하고 본회 발전에 공로가 지대한 자

4. 원로 회원 : 만65세 이상으로 20년 이상 본회의 정회원으로 활동한 자

제4조 (사업)

본 회는 목적을 달성하기 위하여 다음의 사업을 수행한다.

- 1. 접착치의학에 대한 연구·개발
- 2. 학슬대회 및 학술집담회를 포함한 다양한 형태의 학술활동
- 3. 학회지 및 기타 접착치의학 관련 도서의 출판 및 번역

제7조 (회원의 권리)

- ① 회원은 선거권과 피선거권이 있다.
- ② 회원은 정기 총회 및 임시 총회에 출석하여 발

언권 및 의결권을 행사할 수 있다.

③ 본 회가 발간하는 각종 출판물 및 제 증명을 받는 등 회원으로서 인정되는 모든 권익을 보장받는다.

#### 제8조 (회원의 의무, 자격 상실 및 윤리)

- ① 회비 납부의 의무: 본 회 회원은 본 회 소정의 회비를 납부하여 본 회의 제반 사업 및 회무에 협조할 의무가 있다. 단, 명예 회원과 원로 회원은 회비납부의 의무를 면제 받는다.
- ② 출석의 의무: 본 회 회원은 최소 연 1회 본 회가 주관하는 학술모임에 참석 하여야 한다.
- ③ 자격 상실: 본 회 회원으로서 연속 2년간 회원의 의무를 이행하지 않을 경우, 이사회의 의결에의 회원의 자격을 상실할 수 있다.
- ④ 윤리 위배: 회원으로서 치과의사의 윤리에 위배된 행위를 하거나 본 회에 대하여 재산상 손해 또는 명예를 훼손하였을 때에는 이사회의 의결과 총회의 동의에 따라 손해배상, 징계 또는 제명 처분될 수 있다.

#### 제4장 조직

#### 제9조 (업무부)

본 회는 본 회의 목적 및 사업 달성을 위하여 다음 의 각 부를 두며, 해당 업무를 관리한다.

1. 총무부 : 회원의 입회 및 관리, 서무, 장단기 발전 계획 기획, 각 부의 업무 조정 및 본 회 목적을 달성하기 위한 기타 사항

- 2. 재무부 : 예산, 결산 편성, 재정 대책, 회비 및 보조금, 찬조금에 관한 사항
- 3. 학술부 : 학회, 학술집담회 및 각종 교육 관련사업에 관한 사항
- 4. 국제부: 국제학회 교류와 국제학회 정보 제공 및 국외학자 초청, 국외 학술지 안내에 관한 사항
- 5. 공보·섭외부: 대외 홍보 및 언론 관리, 유관 단체들과 협조, 각종 행사 진행에 관한 사항
- 6. 편집부: 학회지 편집, 출판 및 관련 학술지 수집 및 평가에 관한 사항
- 7. 보험부 : 의료보험과 관련된 부분에 대한 연구와 조사에 관한 사항
- 8. 법제부 : 회원 자격 심의, 회칙 및 관련 법규에 대한 유권해석, 치과 의료행위 자문에 관한 사항
- 9. 정보통신부 : 홈페이지 관리, 자료 구축, 회무 전 산화에 관한 사항
- 10. 자재부 : 자재 정보 및 평가, 유관 업체들과 정보 교환에 관한 사항

#### 제10조 (위원회)

- ① 본 회의 목적 수행에 필요한 경우 회장은 각종 위원회를 구성할 수 있으며, 위원장은 회장이 임명한다.
- ② 위원회의 구성과 업무 및 운영에 필요한 제반사항은 별도의 규정으로 정하고 이사회의 승인을받아야 한다.
- ③ 위원회는 임원의 임기와 관계없이 규정에 의한 업무를 독자적으로 수행한다.
- ④ 위원회 위원장은 이사회에 참석하여 업무 보고

를 한다.

제5장 임원 및 고문

제11조 (임원)

본 회는 다음의 임원을 둔다.

1. 회 장 : 1명

2. 부회장 : 4명

3. 상임이사: 10명 내외

4. 평이사 : 약간 명

5. 감 사 :

제12조 (임원 선출 및 임기)

- 1. 회장 및 감사는 총회에서 무기명 비밀투표에 의한 다수 득표자로 선출하며, 부회장, 상임이사 및 평이사는 회장이 선임한다.
- 2. 임원의 임기는 2년으로 하며, 중임할 수 있다.
- 3. 임원 교체 시에는 1/2 이상 교체하지 않는 것을 원칙으로 한다.
- 4. 상임이사의 결원이 있을 때에는 회장이 선임하며, 보궐 선임된 상임이사의 임기는 전임자의 잔여 임기로 한다.

제13조 (회장)

회장은 본 회를 대표하고 제 회무를 통괄하며, 본 회 회의 시 의장이 된다. 제14조 (부회장)

부회장은 회장을 보좌하며 회장 유고 시에 이를 승계한다.

제15조 (상임이사 및 평이사)

- 1. 상임이사는 이사회에서 본 회의 주요 회무를 심의 의결하며, 각각 총무, 재무, 학술, 국제, 공보 · 섭외, 편집, 보험, 법제, 정보통신, 자재부의 업무를 분장한다.
- 2. 상임이사 밑에 그에 상응한 하위 부서를 설치하고 간사 및 약간 명의 위원을 선정할 수 있다.
- 3. 상임이사는 본 회의 회의 및 이사회에 참석하여각 부의 회무를 보고하여야 한다.
- 4. 평이사에게는 필요한 경우 회장의 권한으로 특별업무를 위촉할 수 있다.

제16조 (감사)

감사는 회무 및 재정을 감시하고 그 결과를 총회에 보고한다.

제17조 (고문)

- 1. 역대 회장은 본 회의 고문으로 추대한다.
- 본 회의 발전에 공헌한 회원은 이사회의 추천,
   총회의 의결로 본 회의 고문으로 추대한다.

제6장 이사회

제18조 (구성)

이사회는 회장, 부회장 그리고 각 부의 상임이사들로 구성한다.

제19조 (성립 및 임무)

이사회는 과반수 이상이 출석하여 성립하고 다음 사항을 심의, 의결한다.

- 1. 본 회의 사업 계획, 운영 방침에 관한 사항
- 2. 업무 진행에 관한 사항
- 3. 예산 및 결산서 작성에 관한 사항
- 4. 지부 설치와 운영에 관한 사항
- 5. 기타 중요한 사항

제20조 (소집)

- 1. 이사회는 회장이 소집하고 그 의장이 된다.
- 이사회를 소집하고자 할 때에는 미리 목적을 제시하여 각 이사에 통보하여야 한다.
- 3. 임시 이사회는 이사 1/3 이상의 요청에 의하여 소집할 수 있다.

제21조 (의결)

- 1. 이사회의 의결은 출석 이사 과반수의 찬성으로 의결한다. 다만, 가부 동수인 경우에는 회장이 결 정한다.
- 2. 감사는 출석하여 의견을 진술할 수는 있으나 의 결권은 없다.

제7장 회의

제 22조 (회의)

본 회의 회의는 정기 총회 및 임시 총회로 한다.

- 1. 총회는 회장이 의장이 되어 진행한다.
- 2. 총회의 의결은 출석 회원의 다수결로 결정한다.

단, 회칙의 개정은 출석회원 2/3 이상의 찬성에 의하여 결정한다.

- 3. 총회의 의결에서 가부동수인 경우에는 회장이 결정권을 가진다.
- 4. 정기총회는 매년 1 회 개최하며, 11월 중에 개 최한다.
- 5. 임시총회는 이사회의 1/2 또는 회원의 1/3이상의 요청에 의하여 회장이 이를 소집한다.

제23조 (의결 사항)

총회에서의 의결사항은 다음과 같다.

- 1. 회칙에 관한 사항
- 2. 예산 결산에 관한 사항
- 3. 감사의 보고에 관한 사항
- 4. 사업 계획에 관한 사항
- 5. 임원 선거에 관한 사항
- 6. 의장이 필요하다고 인정한 사항

제8장 재정

제24조 (수입)

본 회의 재정은 다음 수입으로 충당한다.

1. 입회비

제28조 (회계 연도)

2. 연회비

본 회의 회계 연도는 11월 1일부터 익년 10월 말일까지로 한다.

3. 찬조금 및 기타

제9장 부칙

제25조 (회비)

본 회의 회비는 이사회에서 의결하여 총회에서 인 준을 받아야 한다.

제29조 (회칙의 개정)

제26조 (회계의 구성)

본 회의 회칙을 개정하고자 할 때에는 이사회의 승인을 거쳐 총회에서 출석 회원 3분의 2이상의찬 성으로 의결하며 의결과 동시에 발효한다.

본 회의 회계는 일반회계, 기금회계, 특별회계로 구성한다.

제30조 (예외 사항)

제27조 (관리)

본 회 회칙에 규정되지 않은 사항은 일반 관례에 준하되, 이사회의 동의를 요한다.

 각 회계는 본 회의 명의로 금융기관에 계좌를 설정하고, 그 증서를 재무이사가 보관한다.

제31조 (회칙의 발효)

2. 수입 및 지출과 관련된 장부는 재무이사가 작성하여 보관하고, 매 이사회 때 보고하여야 한다.

본 회의 회칙은 2006년 창립 총회에서 통과된 날로부터 시행한다.

#### 한국접착치의학회지 투고규정

2014년 6월 1일 제정

#### 1. 투고자격

한국접착치의학회 회원, 접착치의학 및 관련 분야 연구자는 모두 본 학회지에 투고할 수 있다.

#### 2. 원고의 제출처 및 제출 시기

원고는 한국접착치의학회의 홈페이지(www.kaad.or.kr)를 이용하여 전자 투고하는 것을 원칙으로 한다. 원고의 제출 시기는 특별히 정하지 않으며, 원고가 제출된 순서와 진행상황에 따라 순서대로 게재한다. 편집장에게 질문이 필요한 경우 연락처는다음과 같다.

김덕수, 편집장(Editor-in-Chief)

한국접착치의학회

서울특별시 동대문구 경희대로 23

경희대학교 치과병원 4층 한국접착치의학회 사무 실

전화: 02-958-9330,1

Fax: 02-960-5108

E-mail: dentist96@khu.ac.kr

#### 3. 원고의 종류

본 학회지는 원저(Original article), 증례 보고 (Case report) 및 종설(Review article) 등을 게재한다. 위에 속하지 않은 기타 사항 및 공고 등의 게재는 편집위원회에서 심의 결정한다.

#### 4. 연구윤리 및 책임

한국접착치의학회지는 인간 및 동물실험에 따른 연구윤리 문제에 대해 대한민국 교육인적자원부 와 학술진흥재단의 연구윤리 가이드라인을 준수 하며 이차 게재와 이중 게재에 대한 대한의학학술 지 편집인협의회의 지침을 준수한다. 본 학술지에 실린 논문을 포함한 제 문헌에서 밝히고 있는 의 견. 치료방법, 재료 및 상품은 저자 고유의 의견 과 발행인, 편집인 혹은 학회의 의견을 반영하고 있지 않으며 그에 따른 책임은 원저의 저자 자신 에게 있다.

#### 5. 원고의 언어

원고 및 초록은 국문 또는 영문으로 작성함을 원칙으로 한다. 공식 학술 용어를 사용해야 하며 이해를 돕기 위해 괄호 속에 원어나 한자를 기입할수 있다. 국문 용어가 없을 경우 원어를 그대로 사용한다. 약어를 사용할 경우에는 본문 중 그 원어가 처음 나올 때 원어 뒤 괄호 속에 약어를 표기하고 그 이후에 약어를 사용한다. 이는 초록에서도동일하게 적용한다.

표 (table) , 그림설명 (figure legend) , 참고문헌 (reference)은 국문이나 영문으로 표기한다.

#### 6. 원고의 저작권

제출된 원고를 편집위원회에서 재고 및 편집함에 있어 해당 원고가 본 학회지에 게재될 경우 저작 권은 본 학회지에 있다

#### 7. 동의의 획득

연구 대상이 사람이나 동물인 경우 해당연구 기관의 연구윤리위원회(IRB)의 승인을 얻어야 하며 논문 투고 시 반드시 첨부하여 제출하여야 하고 투고 논문의 재료 및 방법에도 이에 관한 문구를 반드시 명시하여야 한다. 또한, 다음의 경우 원저자및 당사자의 동의를 사전에 얻어야 한다.

- 1) 이미 출판된 자료나 사진
- 2) 아직 발표되지 않은 자료나 타 연구자와의 개인적인 의견 교환을 통해 입수한 정보
- 3) 인식 가능한 인물 사진 등

원고의 제출 시 위 사항에 대해 본 학회지 에서는 원고의 저자가 당사자의 동의를 획득한 것으로 간 주하며, 이에 대한 책임은 원고의 저자에게 있다.

#### 8. 원고의 구성

모든 원고는 가능한 한 간결하게 기술하여야 한다. 단위와 기호, 그림, 표, 참고문헌 등의 표기법은 한국접착학회지의 예시를 참조하여 통일되게 작 성한다.

#### 1) 표지 (Title page)

제목 (국문투고 시 국문, 영문 모두 표기), 저자명, 학위, 직위, 교신저자 표기(\*) 및 모든 저자의소속을 표기하며, 하단에는 교신저자의 소속, 직위, 주소, 전화 및 Fax 번호, E-mail 주소를표기한다.

#### 2) 초록 (Abstract)

초록은 국문 또는 영문으로 작성하여 제출한다. 연구 목적, 재료 및 방법, 결과, 결론을 소제목으로 사용하여 국문인 경우 500자, 영문인 경우 250단어 이내로 기술한다. 초록의 말미에는 6개 이내의 주요 단어(key word)를 국문 초록에서는 국문으로, 영문 초록에서는 영문으로 표기한다. 단, 국문 원고의 경우 제목, 저자명, 교신저자의 표기 및 그 소속이 별도로 영문으로 표기되어야한다.

#### 3) 서론 (Introduction)

연구의 의의와 배경 , 가설 및 목적을 구체적으로 기술한다. 이를 위해 다른 논문을 인용하되 서론

의 기술에 필요하며 학계에서 인정되고 있는 필수 적인 논문을 가급적 제한하여 인용한다.

#### 4) 연구재료 및 방법 (Materials and methods)

재료와 술식 및 과정을 기술하며, 독창적이거나 필수적인 것만을 기술한다. 통상적인 술식 및 과 정으로 이미 알려진 사항은 참고 문헌을 제시하는 것으로 대신한다. 상품화된 재료 및 기기를 표기 할 때에는 학술적인 명칭을 기록하고 괄호 속에 상품의 모델명, 조회사명, 도시, 국가명을 표기 한다.

#### 5) 결과 (Results)

결과는 총괄적으로 기술하며 필수적이고 명확한 결과만을 제시한다. 표, 그림 등을 삽입하여 독자의 이해를 돕고, 결과를 간략하게 기술하며 세부적인 수치의 열거는 표와 그림을 인용함으로써 대신한다. 표나 그림에 나타나 있는 단위는 국제단위체계(Le Systeme Internationale d'Unites, SI)에 준하여 표기해야 한다.

#### 6) 총괄 및 고안 (Discussion)

서론의 내용을 반복하지 않도록 하고 결과의 의미와 한계에 대해 지적하며, 편견을 줄이기 위해 타연구의 결과와 어떻게 다른지 반대 견해까지 포함하여 기술한다. 마지막 단락에 전체적인 결론을 간략하고 명확하게 정리하고, 필요한 경우 연구의 발전방향을 제시한다.

#### 7) 감사의 표시 (Acknowledgement)

연구비 수혜 내용과 저자 이외에 연구의 수행에 도움을 준 대상에 대한 감사의 내용 혹은 연구비 수혜 내용에 대하여 기술할 수 있다.

#### 8) 참고문헌 (References)

인용 순서대로 본문에서는 일련번호의 어깨번호

를 부여한다. 본문에서 저자명을 표기할 때는 성만을 표기하며, 저자가 2인 이상인 경우 성사이에 '과(와)' 또는 'and' 를 삽입하고, 3인 이상인 경우 제 1저자의 성만을 표기하고 그 뒤에 '등' 또는 'et a1 '을 표기한다. 참고문헌 항에서는 본문에서의 인용 순서대로 기재하며 EndNote (Thomson

Scientific) 프로그램을 이용하여 참고문헌을 정 리하도록 권장한다. 참고문헌은 영문으로 작성하며, 인용 형식은 Journal of Dental Research의 형식과 동일하게 작성한다.

#### 9) 기타

종설은 접착치의학에 관련한 특정 주제로 하되 개인적인 의견이 아니라 근거에 기반을 둔 결론을 도출하도록 한다. 증례 보고의 양식은 서론, 치료과정, 총괄 및 고안으로 하는 것을 권장한다.

#### 9. 원고의 제출양식

원고는 워드파일에서 글자크기 10으로 작성하고, 원고 전체에 대해서, 2줄 간격으로 저장하여 제 출한다. 표와 그림의 경우 출판에 적합한 용량의 파일로 제출하며 , 최소 300 dpi에서 5cm X 5cm 이상의 화질(1200 DPI 권장)을 가져야 한다.

\*원고 투고 시에 반드시 설명 편지 (cover letter)를 제출하여야 한다. 이 편지를 통해 저자는 원고에 대한 설명과 저작권의 양도, 이해관계 및 동의의 획득에 관련된 필요한 사항이 있는 경우 그 내용을 기술하여 원고와 함께 제출한다.

#### 10. 원고의 게재 결정

제출된 원고는 편집위원회에서 위촉한 3명의 학계의 권위자에게 재고 의뢰 후, 게재 여부 및 수정의 필요성을 결정한다. 원고의 게재 결정 후 저자 요청 시 게재예정증명서를 발급할 수 있다.

#### 11. 게재료

원고가 본 학회지에 게재된 경우 게재료는 저자가 부담함을 원칙으로 한다.

#### 한국접착치의학회지

#### The Journal of Korean Academy of Adhesive Dentistry

3호

2015년 7월 1일 발행

발행인 : **손 호 현** 

편집인 : **김 덕 수** 

발행처 : **한국접착치의학회** 

서울특별시 동대문구 경희대로 23

경희대학교 치과병원 4층

한국접착치의학회 사무실

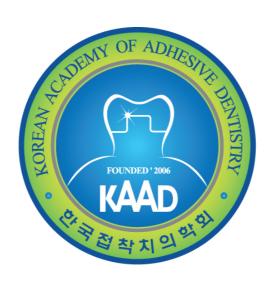
전화: 02-958-9330,1

Fax: 02-960-5108

E-mail: dentist96@khu.ac.kr



TEL: 02)958-9330/2/FAX: 02) 960-5108/www,kaad,or,kr



한/국/접/착/치/의/학/회