Gutta-percha 또는 Resilon을 사용한 근관충전이 상아세관 내의 *Enterococcus faecalis*에 미치는 영향

연세대학교 대학원

치의학과

지 상 욱

Gutta-percha 또는 Resilon을 사용한 근관충전이 상아세관 내의 *Enterococcus faecalis*에 미치는 영향

지도교수 김 의 성

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2004년 12월 일

연세대학교 대학원

치 의 학 과

지 상 욱

지상욱의 석사 학위논문을 인준함

심사위원_____ 인

심사위원_____ 인

심사위원_____ 인

연세대학교 대학원

2004년 12월 일

감사의 글

보존과에 들어온 지가 엊그제 같은데 어느새 수련을 마치며 석사 학위 논문을 내게 되었습니다. 그동안 부족함이 많은 제자를 이끌어 주신 여러 선생님께 진심으로 감사를 드립니다.

이 논문의 시작부터 마무리까지 큰 힘이 되어주신 지도교수 김의성 교수님, 보다 나은 논문이 되도록 많은 조언을 해주신 정일영 교수님과 논문의 세세한 부분까지 챙겨주신 유윤정 교수님께 감사드립니다. 그리고 수련 기간 동안 지속적인 관심과 따뜻한 가르침을 주신 이찬영 교수님, 이승종 교수님, 박성호 교수님, 노병덕 교수님, 금기연 교수님께 다시 한번 감사를 드립니다.

또한 수련 기간 동안 같이 고생한 동기들과 여러 선후배 보존과 의국원들, 그리고 밤늦게까지 남아서 실험을 도와주었던 여러 인턴 선생님들께 고마움의 마음을 전합니다.

마지막으로 언제나 저를 믿어주시고 사랑해주시며 아낌없는 지원을 해주신 아버지, 어머니, 할아버지, 할머니, 그리고 사랑하는 동생과 기쁨을 함께 하고 싶습니다.

2005년 1월

저자 씀.

차 례

그림 및 표 차례 ····· ii

국문요약 ····· iii

Ⅰ. 서 론 ····· 1

Ⅱ. 재료 및 방법 ····· 4
1. 연구재료 ····· 4
2. 연구방법 ····· 4
가. 치아 시편 제작 ····· 4
나. 근관 충전 ····· 6
다. 상아세관 내에 남아있는 균수 평가 ····· 7
라. 통계 분석 ····· 8
마. 근관전색제의 항균력 평가 ····· 8

Ⅲ. 결 과 ····· 9
가. 근관충전 방법에 따른 상아세관 내 남아있는 균수의 변화 ····· 10
나. 시간의 흐름에 따른 상아세관 내 남아있는 균수의 변화 ····· 11
다. 근관전색제의 항균력 평가 ····· 11

Ⅳ. 총괄 및 고찰 ····· 13

Ⅴ. 결 론 ····· 16

참고문헌 ····· 18

영문요약 ····· 24

그림 차례

Fig. 1. Dentin disk block ····· 5

Fig. 2. Schematic illustration of incubating dentin block on BHI agar ····· 7

Fig. 3. The change of optical density in dentinal tubules with time ····· 10

Fig. 4. Agar diffusion test ····· 12

표 차례

Table 1. Experimental groups by canal filling materials ····· 6

Table 2. *E. faecalis* left in dentinal tubules ····· 9

Table 3. Antibacterial effect of sealers used in experiment ····· 11

국문요약

Gutta-percha 또는 Resilon을 사용한 근관충전이 상아세관 내의 *Enterococcus faecalis*에 미치는 영향

이번 연구의 목적은 (1) 근관충전이 상아세관 내에 남아있는 세균에 미치는 영향을 알아보고 (2) 기존의 gutta-percha와 레진 계통의 새로운 근관충전 물질의 밀폐 능력을 상아세관 내에 남아있는 세균의 생존 여부를 통하여 비교하는 것이다.

발치된 우전치 (bovine incisors)를 이용하여 높이 4 mm, 외경 6 mm, 내경 2.3 mm의 치아시편을 제작한 뒤 음성대조군 (Group 1)을 제외하고 37℃에서 7일간 *E. faecalis*에 접종하였다. 치아시편의 외면에 nail varnish를 도포하고 내경을 2.5 mm로 확대하였다. 제 1군과 제 2군은 시편의 내면을 nail varnish를 사용하여 밀폐하였는데, 제 1군은 음성대조군이며 제 2군은 세균에 감염된 상아세관을 nail varnish를 이용하여 밀폐한 것이다. 제 3군은 ZOE 계통의 근관전색제와 gutta-percha, 제4군은 레진 계통의 근관전색제와 gutta-percha, 제 5군은 레진 계통의 근관전색제와 resilon을 사용하여 근관 충전을 시행하였다. 각 시편은 BHI agar plate에서 1주, 2주, 3주 및 4주간 37℃에서 보관한 뒤 ISO 번호 027, 029, 031, 035 round bur를 이용하여 근관 내를 삭제하여 얻은 상아질을 5 ml의 BHI가 든 시험관에 넣고 37℃에서 24시간 배양하고 ELISA reader를 이용하여 530 nm에서 혼탁도 (optical density)를 측정하였다. 배양된 세균을 BHI agar에 배양하여 그람 염색법을 이용하여 순수성을 평가하고 감염 세균을 확인하였

다. 통계 처리는 95% 유의수준으로 repeated measures ANOVA와 one-way ANOVA를 이용하여 시행하였다.

실험 결과,

1. Nail varnish로 상아세관을 완전히 밀폐한 경우 (Group 2), 상아세관 내의 *E. faecalis*의 수는 gutta-percha 및 resilon으로 근관충전한 경우에 비해 통계적으로 유의차 있게 감소하였다 ($p<0.05$).
2. 레진 계통의 근관전색제와 resilon으로 근관충전을 시행한 Group 5에서는 시간의 흐름에 따라 상아세관 내의 *E. faecalis*의 수가 유의차 있게 감소하였다 ($p<0.05$).
3. Gutta-percha와 resilon으로 근관충전을 시행한 군 사이에 상아세관 내에 남아있는 *E. faecalis*의 생존 정도는 통계학적으로 유의차가 없었다 ($p>0.05$).
4. 본 실험에 사용된 U/P root canal sealer®와 RealSeal™에 포함된 근관전색제는 모두 항세균효과를 나타내었으며 이들 간에는 통계학적으로 유의차가 없었다 ($p>0.05$).

본 실험에서는 근관충전 후에도 상아세관 내의 세균의 생활력이 유지되어 gutta-percha나 resilon 모두 근관밀폐 효과가 불완전하다는 것을 알 수 있었다. 하지만 레진 계통의 근관전색제와 resilon으로 근관 충전을 시행하는 것이 장기적으로 보다 우수한 근관밀폐 효과를 보일 가능성이 높으며 앞으로 이에 대한 보다 많은 연구가 필요할 것이다.

핵심되는 말 : *Enterococcus faecalis*, resilon, 근관 밀폐 효과

Gutta-percha 또는 Resilon을 사용한 근관충전이 상아세관 내의 *Enterococcus faecalis*에 미치는 영향

<지도교수 : 김 의 성>

연세대학교 대학원 치의학과

지 상 욱

Ⅰ. 서 론

세균 및 그 부산물은 치수 괴사와 치근단 주위염을 일으키는 주요 인자로 알려져 있으며 (Kakehashi *et al.* 1965, Möller 1966, Sundqvist 1976) 근관 내의 완전한 세정과 살균은 근관 치료의 장기간의 성공에 필수 요소로 생각되어지고 있다. 그러나 근관계의 복잡성 때문에 기구 및 세정제의 도달이 힘들어 근관 내에서 세균을 완전히 제거하는 것은 거의 불가능하다 (Byström & Sundqvist 1981, Abou-Rass & Piccinino 1982, Byström *et al.* 1985).

따라서, 근관 내에 기구 및 세정제의 사용 후에도 남아있는 세균을 제거하거나 근관 내에서 증식하는 것을 막기 위해 근관내약제의 사용이 추천되어왔다 (Byström *et al.* 1985, Sjögren 1991, Chong & Pitt Ford 1992).

근관내약제에는 페놀 계통의 camphorated monochlorophenol (CMCP),

알데하이드 계통의 formocresol, 할라이드 계통의 iodine-potassium iodide, 그리고 수산화칼슘과 항생제 등이 사용되고 있다 (Walton *et al*. 2002).

이중 가장 많이 사용되고 있는 수산화칼슘이 근관 내의 세균의 증식을 완전히 억제하지는 못한다는 보고가 있는데 (Peters *et al*. 2002b), 이는 상아질의 완충효과 (buffering effect) 등 에 의하여 실제 근관 내에서는 근관내약제의 효과가 감소하기 때문이다 (Haapasalo *et al*. 2000, Portenier *et al*. 2001). 따라서, 상아세관 깊숙이 침투한 세균에 미치는 근관세정제 및 근관내약제의 효과는 제한적이라고 알려져 있다 (Ørstavik 1990, Estrela 1999). 특히, 근관치료가 실패한 치아에서 가장 흔히 발견되는 *Enterococcus faecalis* (Molender *et al*. 1998, Sundqvist *et al*. 1998)는 비교적 높은 pH 11.1에서도 살아남을 수 있어 근관내약제로 흔히 쓰이는 수산화칼슘에 높은 저항력을 가진다 (Evans *et al*. 2002). 한편, 수산화칼슘의 사용은 근관 충전 후, 치근단 미세누출을 증가 시킬 수 있다는 보고가 있으며 (Kim *et al*. 2002), 내원 회수를 증가시켜 치료 기간이 길어진다는 단점이 있다.

근관치료의 다른 접근 방법으로는 근관 세정 및 성형된 근관 내에 남아있는 세균을 즉시 충전하여 영양분을 차단하고 증식할 공간을 허용하지 않는 즉일근관치료가 있다 (Soltanoff 1978, Oliet 1983). 근관 내의 세균의 수를 일정 수준 이하로 줄일 수 있다면 근관내약제를 사용하지 않더라도 성공적인 근관치료를 할 수 있다는 것이다 (Peters 2002a).

남아있는 세균은 근관충전 물질이나 근관전색제의 항세균효과에 의해서 죽거나 (Moorer & Genet 1982, Heling *et al*. 1996, Kaplan *et al*. 1999, Fuss *et al*. 2000, Siqueira *et al*. 2000, Saleh *et al*. 2004) 영양분과 증식할 공간이 없어서 죽을 수도 있을 것이다 (Soltanoff 1978, Oliet 1983, Peters

1995 Weiger *et al*. 2000).

하지만 오랜 시간 동안 근관충전 재료로 사용되어온 gutta-percha는 밀폐 효과가 충분하지 않다고 보고되고 있다 (Swanson 1987, Torabinejad *et al*. 1990, Khayat *et al*. 1993, Magura *et al*. 1993, Gish *et al*. 1994). 완전한 치근단 밀폐가 이루어지지 않는다면 치근단 누수 (percolation)에 의하여 상아세관 내에 남아있던 세균의 활성이 유지되고 재증식하여 근관치료의 실패를 야기할 수도 있을 것이다 (Ingle 2002).

따라서, 레진 계통의 접착제를 근관충전에 사용하여 근관 밀폐 능력을 향상시키려는 연구와 시도가 있어왔다 (Tidmarsh 1978, Leonard *et al*. 1996, Mannocci *et al*. 1998).

최근 새로운 근관충전 재료인 레질론 (Resilon)이 개발되었는데, 이것은 열가소성 합성 중합체 (polyester)를 기반으로한 근관충전 물질로서 difunctional methacrylate resin, bioactive glass, radio opaque filler 등이 포함되어있다 (Mounce *et al*. 2004). 이 재료는 레진 계통의 근관전색제와 결합하여 우수한 밀폐 효과를 얻을 수 있고 (Shipper *et al*. 2004), 치질을 강화시킬 수 있다고 알려져 있다 (Teixeira *et al*. 2004).

이에 본 연구에서는 (1) 근관충전이 상아세관 내에 남아있는 세균에 미치는 영향을 알아보고 (2) 기존의 gutta-percha와 레진 계통의 새로운 근관충전 물질의 밀폐 능력을 상아세관 내에 남아있는 세균의 생존 여부를 통하여 비교해 보고자 하였다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 연구재료

사용된 재료는 아래와 같다.

Enterocuccus faecalis (ATCC 29212)
U/P Root canal sealer® (Sultan Chemists,Inc., USA)
RealSeal™ (SybronEndo,Inc., Orange, CA, USA)
Obtura II® (Obtura Spartan, Fenton, USA)
Minitom® (Struers, Ballerup, Denmark)
ELISA reader (DynaTech Laboratories, West Sussex, UK)

2. 연구재료

가. 치아 시편 제작

발치된 우전치 (bovine incisors)의 치근의 중간 1/3 부위를 Minitom® (Struers, Ballerup, Denmark)을 사용하여 4 mm의 두께로 자른 후, ISO size 023 round bur (Edenta,Inc., Swiss)와 low speed handpiece를 이용하여 내경이 2.3 mm가 되도록 형성하였다. 그리고, 외경을 6 mm가 되도록 삭제하여 백악질 (cementum)을 의도적으로 제거하여 총 160 개의 치아 시편을 제작하였다 (Fig 1).

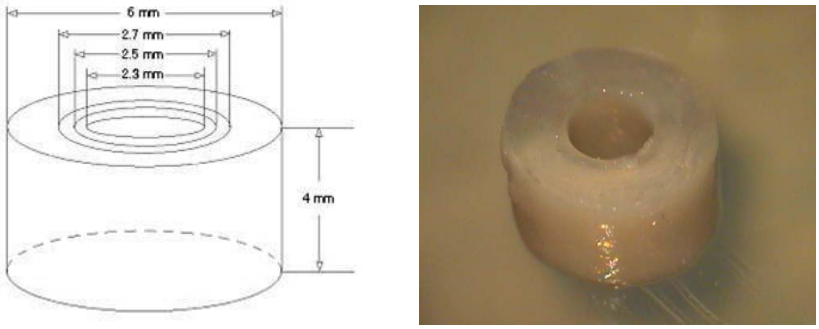

Fig 1. Dentin disk block

도말층 (smear layer)을 제거하기 위하여 치아시편을 ultrasonic bath에서 5.25% NaOCl을 10분, 17% EDTA를 다시 10분간 적용하였다. 도말층이 제거된 시편을 Brain Heart Infusion에 넣고 증기가압멸균법 (autoclave)을 사용하여 121℃에서 20분간 멸균하였고, 멸균 상태를 확인하기 위하여 37℃에서 24시간 배양하여 무균 상태를 확인하였다.

멸균된 시편의 상아세관 내에 *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)를 감염시키기 위하여, *E. faecalis*를 시편이 들어있는 BHI 용액에 접종시키고, 37℃에서 7일간 배양하였다. 배양 용액 (BHI)은 매일 교환하였으며 매일 새로운 접종원 (inoculum)을 추가하였다.

증류수를 사용하여 충분히 세척한 후, 멸균된 거즈로 건조시켰다. 치아시편의 외면에 두 겹의 nail varnish를 바르고, 내면에 있을 수 있는 세균의 제거를 위해 ISO 025 round bur를 사용하여 내경을 2.5 mm로 넓혔으며 17% EDTA 용액을 1분간 적용하여 도말층을 제거한 후, 멸균된 거즈 및 paper point를 사용하여 건조시켰다.

나. 근관 충전

Group 1과 2는 근관 충전을 시행하지 않고, 치아 시편 내면에도 nail varnish를 도포하였다 (Table 1). Gutta-percha를 사용하여 근관 충전을 시행한 Group 3과 4는 치아 시편을 유리판 위에 놓고 치아 시편의 내면에 각각 U/P Root canal sealer®와 RealSeal™에 포함된 근관전색제를 도포한 뒤, Obtura II® (Obtura Spartan, Fenton, USA)와 직경 1.2mm의 plugger (S-Kondenser, Obtura spartan, USA)를 이용하여 근관 충전을 시행하였다. 레진 계통의 근관전색제를 사용 시에는 같은 회사에서 제공되는 primer를 근관 내에 먼저 1분간 적용시켰다.

Table 1. Experimental groups by canal filling materials (n=32)

Group	*E. faecalis* inoculation	Sealer	Filling material
1	-	nail varnish	
2	+	nail varnish	
3	+	ZOE sealer	gutta-percha
4	+	resin sealer	gutta-percha
5	+	resin sealer	resilon

Resilon을 사용한 Group 5는 RealSeal™에 포함된 근관전색제와 근관충전 재료를 사용하여 Group 3, 4와 같은 방법으로 근관 충전을 시행하였다. Obtura II® (Obtura Spartan, Fenton, USA)의 온도는 제조회사의 지시에 따라 거타퍼차 (gutta-percha)를 사용할 경우에는 200℃로, 레질론 (resilon)을 사용할 경우에는 160℃로 조정하였다. 과다한 근관전색제는 소독된 거즈를 사용하여 제거하였다. 음성 대조군은 실험군과 같이 매주 평가하였다.

근관전색제가 완전히 경화되도록 시편을 37℃에서 24시간 보관한 후 BHI agar plate로 옮겼다. BHI agar plate 위로 옮긴 시편을 37℃에서 보관하고, 각 군마다 1주, 2주, 3주 및 4주마다 각각 8개의 시편을 꺼내어 평가하였다.

매주 BHI agar plate를 교환하였으며, 치아 시편 하방에 증식한 세균은 멸균된 거즈로 닦아내고 BHI agar plate에 위치 시켰다 (Fig 2).

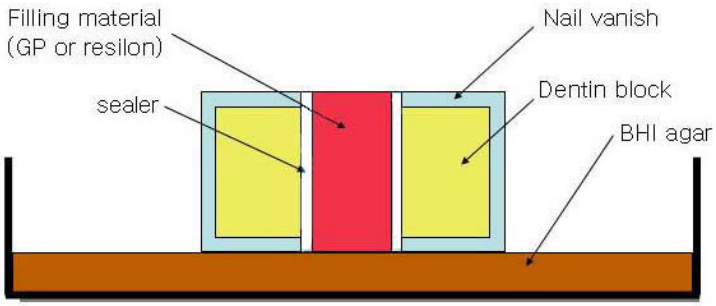

Fig 2. Schematic illustration of incubating dentin block on BHI agar

다. 상아세관 내에 남아있는 균수 평가

치아 시편을 BHI agar plate에서 떼어내고 치아 시편 하방에 증식된 세균을 멸균된 거즈로 닦은 후, 치아 시편의 외면에 묻어있는 세균을 제거하기 위하여 5.25% NaOCl 용액에 1분간 넣어 소독하였다. 멸균된 거즈로 건조시킨 뒤, ISO 023 bur를 사용하여 충전물질을 제거하였다. ISO 027, 029, 031, 035으로 bur의 크기를 증가시키며 동심원으로 치아시편 내면을 삭제하여 얻은 상아질을 각각 5 ml의 BHI가 든 시험관에 넣고 37℃에서 24시

간 배양하고 Enzyme-linked immunosorbent assay reader (DynaTech Laboratories, West Sussex, UK)를 이용하여 530 nm에서 혼탁도 (optical density)를 측정하였다.

배양된 세균을 BHI agar에 배양하여 그람 염색법을 이용하여 순수성을 평가하고 감염 세균을 확인하였다.

라. 통계 분석

시간의 흐름에 따른 세균 수의 변화를 평가하기 위하여 repeated measures ANOVA를 시행하였고, 근관충전 방법에 따른 군들 사이의 비교를 위하여 one-way ANOVA를 사용하였으며 사후검정으로는 tukey method를 사용하였다. 통계 분석은 SAS (Statistical Analysis System) for Windows v9.1 (SAS Institute, Inc. USA)를 이용하였다.

마. 근관전색제의 항균력 평가

20 ml의 BHI 한천 배지에 *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)를 접종한 후, 둥글게 접은 wire를 이용하여 직경 4 mm의 구멍을 뚫은 후, U/P Root canal sealer®와 RealSeal™에 포함된 근관전색제를 각각 구멍에 채워 넣었다 (n=10). 37℃에서 24시간 배양하여 세균 억제대의 직경을 버니어캘리퍼스로 측정하였다. 대조군으로는 sterile water를 사용하였다.

Ⅲ. 결 과

5개 군의 시간에 따른 혼탁도 (optical density)와 표준편차 (standard deviation), 그리고 p-value를 Table 2 에 표시하였다.

Table 2. *E. faecalis* left in dentinal tubules

Group	Experimental time (week)				
	1	2	3	4	p-value*
1	0.005(0.003)	0.007(0.004)	0.003(0.003)	0.004(0.003)	
2	0.196(0.215)b	0.279(0.250)b	0.167(0.202)b	0.129(0.122)b	0.0024†
3	0.446(0.219)a	0.450(0.187)a	0.444(0.206)a	0.355(0.230)a	0.1999
4	0.412(0.169)a	0.388(0.219)ab	0.374(0.136)a	0.354(0.133)a	0.0941
5	0.427(0.208)a	0.431(0.139)a	0.344(0.254)a	0.286(0.195)a	0.0155†
p-value**	<0.0001	0.0048	<0.0001	<0.0001	

Data were expressed as optical density of culture media of dentin chip.

Data description form : mean(s.d.)

* : p-value by repeated measures ANOVA with time

†: statistically significant by repeated measures ANOVA

** : p-value by one-way ANOVA among groups at given experimental time

a, b : multiple comparison using tukey method

가. 근관충전 방법에 따른 상아세관 내 남아있는 균수의 변화 (Fig 3)

충전 방법에 따른 군 사이의 비교를 위하여 one-way ANOVA를 시행하여 분석하였다.

Nail varnish로 상아세관을 완전히 밀폐한 Group 2의 배양 용액의 혼탁도가 충전 후 1주, 2주, 3주 및 4주에서 모두 다른 군 (Group 3, 4, 5)과 비교하여 유의차 있게 적게 나타났다 ($p<0.05$).

ZOE 계통의 근관전색제와 gutta-percha를 사용하여 근관충전을 시행한 Group 3과 resin 계통의 근관전색제와 gutta-percha를 사용하여 근관충전을 시행한 Group 4, 그리고 resin 계통의 근관전색제와 resilon을 사용하여 근관충전을 시행한 Group 5 사이에는 1주, 2주, 3주 및 4주 모두에서 통계적으로 유의차 있는 결과를 보이지 않았다 ($p>0.05$).

음성대조군인 Group 1의 경우, 처음의 배양 용액의 혼탁도에 비해 거의 변화가 없었다.

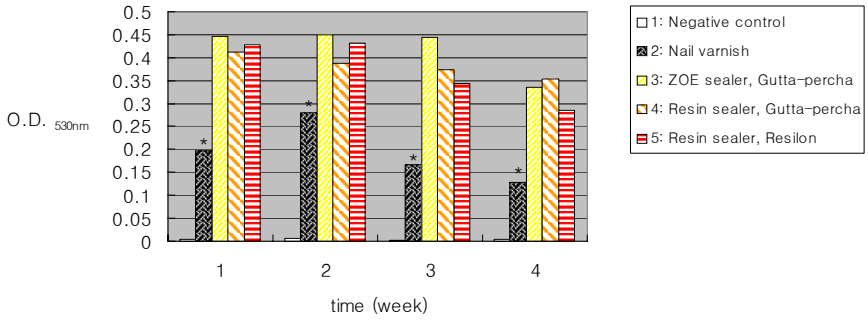

Fig 3. The change of optical density with time

* significant difference statistically ($p<0.05$)

나. 시간의 흐름에 따른 상아세관 내 남아있는 균수의 변화

시간의 변화에 따른 세균 수의 변화는 nail varnish로 상아세관을 완전히 밀폐한 경우 (Group 2)와 레진 계통의 근관전색제와 resilon으로 근관충전을 시행한 경우 (Group 5)에 시간의 흐름에 따라 상아세관 내의 *E. faecalis*의 수가 유의차 있게 감소하였으며, ZOE 계통의 근관전색제와 gutta-percha를 사용하여 충전한 Group 3과 레진 계통의 근관전색제와 gutta-percha를 사용하여 충전한 Group 4는 시간의 흐름에 따른 상아세관 내의 *E. faecalis*의 수의 감소는 나타나지 않았다 (Table 2).

다. 근관전색제의 항균력 평가

본 실험에서 사용된 근관전색제의 항세균효과를 알아보기 위하여 한천 확산법 (agar diffusion test)을 시행하였다 (Fig 4).

실험 결과, 대조군은 세균 억제대를 나타내지 않았으며, U/P root canal sealer®와 RealSeal™에 포함된 근관전색제의 세균억제대의 직경의 평균값은 각각 11.0 mm 및 11.7 mm로서, 두 근관전색제 모두 항세균효과를 나타내었다. 통계 분석을 one-way ANOVA로 시행한 결과 이들 간에는 통계적 유의차를 나타내지 않았다 ($p<0.05$) (Table 3).

Table 3. Antibacterial effect of sealers used in experiment (mm)

sealer	inhibition zone (mean ± SD)
U/P root canal sealer®	10.9 ± 1.93
RealSeal™	11.7 ± 0.71

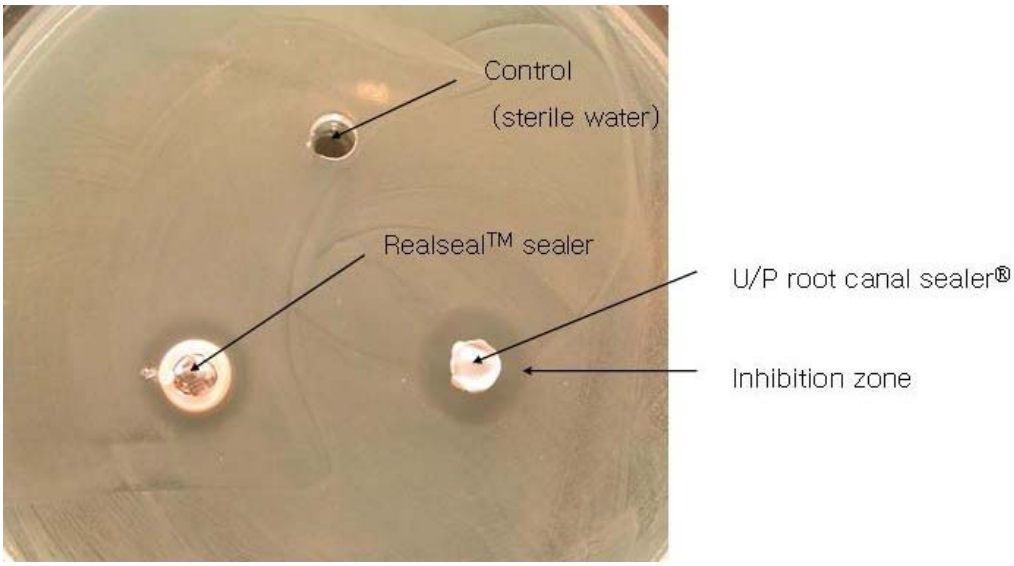

Fig 4. Agar diffusion test

IV. 총괄 및 고찰

3차원적인 근관충전은 치근단 삼출액이 근관내로 누수 (percolation)와 미세누출 (microleakage)이 되는 것을 차단하여 재감염을 일으키지 않을 뿐 아니라, 적절한 생물학적인 환경을 만들어 치유가 될 수 있도록 한다.

하지만 우리가 현재 사용하는 gutta-percha는 단독으로 사용시 미세누출이 더 크기 때문에 근관전색제가 필요하며 (Hata *et al.* 1992) 근관전색제를 사용하더라도 미세누출을 완전히 막을 수는 없다. 또한 모든 근관전색제는 경화되면서 수축하고 (Wiener & Schilder 1971) 시간의 경과에 따라 용해된다 (Ørstavik 1983, Peters 1986, Tronstad *et al.* 1988, Kontakiotis *et al.* 1997). 근관전색제의 수축 및 용해는 빈 공간을 형성하고 미세누출을 증진시킬 가능성이 있다. 또한 근관충전 과정에서 근관 내에서 근관전색제가 제거될 가능성도 있다 (Wu *et al.* 2000).

이러한 문제들과 해부학적인 근관의 복잡성으로 인해 치근단의 미세누출을 일으킬 수 있고, 근관 내에 남아있던 세균은 미세누출에 의한 치근단의 삼출액으로부터 영양분을 얻어 재증식하거나 생활력을 유지하여 치근단에 병소를 지속시키거나 유발할 수 있을 것이다. 실패한 근관치료의 경우 대부분 치근단에서 근관치료에 저항하는 미생물을 발견할 수 있었다는 연구가 이를 뒷받침한다 (Nair *et al.* 1990).

본 연구에서는 인체 내의 이러한 복잡하고 연구하기 어려운 현상을 최대한 단순화된 치아 절편 모델을 이용하여 접근하고자 하였다. 치아 절편은 근관 충전된 치아의 치근단 부분을 확대시킨 것으로 볼 수 있고, BHI agar는 세균에 영양분을 공급해 줄 수 있는 치근단 조직으로 볼 수 있다.

본 연구에서 nail varnish로 상아세관을 완전히 밀폐한 경우 (Group 2) 세균에 공급되는 영양분을 완전히 차단시켰다고 볼 수 있어, 시간의 경과에 따라 *E. faecalis*가 사멸할 것으로 생각되었으며, 실험 결과, 활성을 나타내는 *E. faecalis*가 급격히 줄어든 것을 확인할 수 있었다 (Fig 3). 그러나 Group 3, 4, 5의 결과에서 보듯이, 통상적으로 사용하는 근관전색제와 gutta-percha, 그리고 새로이 개발된 resilon으로는 치근단을 완벽히 밀폐할 수 없었고 그에 따라 *E. faecalis*의 생활력이 4주까지 유지되는 것으로 판단된다. 따라서, 치근단 부위의 상아세관에 살아있는 세균이 존재하고 치근단 밀폐가 불완전하다면 지속적으로 영양분이 공급되고 세균이 재증식하여 근관치료의 실패를 야기할 수 있을 것이다

그러나, 새로이 소개된 레진 계통의 근관충전 재료인 Resilon은 그동안 접착력이 상당히 개선된 상아질 접착제를 근관충전에 이용하려는 시도를 기반으로 개발된 것으로 보다 우수한 근관 밀폐 효과를 나타낼 것으로 기대되었고. 치관부 누출을 통하여 밀폐 효과를 평가한 실험에서는 기존의 gutta-percha와 근관전색제를 사용한 것보다 우수한 결과를 나타내었다 (Shipper *et al*. 2004). 본 연구에서 비록 근관충전 재료간의 비교에서 유의차 있는 결과를 얻지는 못하였지만, 레진 계통의 근관전색제와 resilon으로 근관충전을 시행한 group 5에서 시간의 흐름에 따라 *E. faecalis*의 수가 유의차 있게 감소한 것으로 나타났으며, 실험 기간이 4주 이상으로 연장된다면 재료 간의 근관밀폐 능력의 차이가 드러날 수도 있을 것이다. 따라서 앞으로 이를 규명하기 위한 연구가 있어야 할 것이다.

근관전색제의 높은 항세균효과를 관찰하였던 이전의 실험 (Saleh *et al*. 2004)과 달리 본 연구에서는 근관전색제의 항세균효과가 나타나지 않았다. 이번 연구에서는 근관충전된 시편이 영양분과 수분의 공급이 풍부한 BHI

한천 배지 위에 놓여졌기 때문에 근관전색제의 항세균효과에도 불구하고 세균이 생활력을 유지할 수 있었던 것으로 생각된다. 따라서, 실제 생체 내에서는 그동안 보고 되었던 근관전색제의 항세균효과가 충분히 나타나지 않을 가능성이 있으며, 앞으로 이에 대한 보다 많은 연구가 필요할 것이다.

이번 실험에서 오차를 가져올 수 있는 요인을 살펴보면, 첫째, 치아시편의 상아세관의 크기가 균일하지 않을 수 있고, 둘째, 세균 접종 중 치아시편마다 세균 감염이 균일하게 이루어지지 않았을 수 있다. 그리고 마지막으로, 배양액에 들어간 삭제된 상아질의 양이 차이가 있을 수 있다.

음성대조군인 Group 1의 경우 처음의 BHI broth와 혼탁도에 비해 거의 변화가 없었는데, 이는 실험 과정 중 다른 세균에 의해 오염되지 않았다는 것을 보여준다. 또한, 상아질 절편과 nail varnish에 의해 BHI broth 용액의 혼탁도가 거의 변화하지 않는다는 것을 알 수 있다.

이번 실험은 생체 외 (in vitro) 실험으로서 실제 생체 내 (in vivo)의 조건과는 다를 수 있어 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

이번 연구에서는 근관충전 후 상아세관 내에 남아있는 세균의 생존 여부를 알아보고 Gutta-percha와 Resilon의 밀폐 능력을 상아세관 내에 남아있는 세균의 생존 정도를 통하여 비교하려는 목적으로 시행되었으며 결론은 다음과 같다.

1. Nail varnish로 상아세관을 완전히 밀폐한 경우 (Group 2), 상아세관 내의 *E. faecalis*의 수는 gutta-percha 및 resilon으로 근관충전한 경우에 비해 통계적으로 유의차 있게 감소하였다 ($p<0.05$).
2. 레진 계통의 근관전색제와 resilon으로 근관충전을 시행한 Group 5에서는 시간의 흐름에 따라 상아세관 내의 *E. faecalis*의 수가 유의차 있게 감소하였으며 ($p<0.05$), ZOE 계통의 근관전색제와 gutta-percha로 근관충전을 시행한 Group 3과 레진 계통의 근관전색제와 gutta-percha로 근관충전을 시행한 Group 4에서는 시간의 흐름에 따른 *E. faecalis*의 수의 감소는 나타나지 않았다 ($p>0.05$).
3. Gutta-percha와 resilon으로 근관충전을 시행한 군 사이에 상아세관 내에 남아있는 *E. faecalis*의 생존 정도는 통계학적으로 유의차가 없었다 ($p>0.05$).
4. 본 실험에 사용된 U/P root canal sealer®와 RealSeal™에 포함된 근관전색제는 모두 항세균효과를 나타내었으며 이들 간에는 통계학적으로 유의차가 없었다 ($p>0.05$).

본 실험에서는 근관충전 후에도 상아세관 내의 세균의 생활력이 유지되어 gutta-percha나 resilon 모두 근관밀폐 효과가 불완전하다는 것을 알 수 있었다. 하지만 레진 계통의 근관전색제와 resilon으로 근관 충전을 시행하는 것이 장기적으로 보다 우수한 근관밀폐 효과를 보일 가능성이 높으며 앞으로 이에 대한 보다 많은 연구가 필요할 것이다.

Ⅵ. 참고문헌

Abou-Rass M, Piccinino MV: The effectiveness of four clinical irrigation methods on the removal of root canal debris. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 54:323-328, 1982.

Byström A, Sundqvist G: Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res* 89:321-328, 1981.

Byström A, Claesson R, Sundqvist G: The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infectedroot canals. *Endod Dent Traumatol* 1:170-175, 1985.

Chong BS, Pitt Ford TR: The role of intracanal medication in root canal treatment. *Int Endod J* 25:97-106, 1992.

Estrela C, Pimenta FC, Ito IY, Bammann LL: Antimicrobial evaluation of calcium hydroxide in infected dentinal tubules. *J Endod* 25:416-418, 1999.

Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D: Mechanisms involved in the resistance of Enterococcus faecalis to calcium hydroxide. *Int Endod J* 35:221-228, 2002.

Fuss Z, Charniaque O, Pilo R, Weiss E: Effect of various mixing ratios on antibacterial properties and hardness of endodontic sealers. *J Endod* 26:519-522, 2000.

Gish SP, Drake DR, Walton RE, Wilcox L: Coronal leakage: bacterial penetration through obturated canals following post preparation. *J Am Dent Assoc* 125:1369-1372, 1994.

Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB: Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int Endod J* 29:235-241, 1996.

Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TM, Orstavik D, Haapasalo MP: Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J* 33:126-131, 2000.

Hata G, Kawazoe S, Toda T, Weine FS: Sealing ability of Thermafil with and without sealer. *J Endod* 18:322-326, 1992.

Heling I, Chandler NP: The antimicrobial effect within dentinal tubules of four root canal sealers. *J Endod* 22:257-259, 1996.

Ingle JI: Endodontics. 4th ed. 2002, pp. 752-753, BC Decker Inc, Hamilton.

KakehashiI S, Stanley HR, Fitzgerald RJ: The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 20:340-349, 1965.

Kaplan AE, Picca M, Gonzalez MI, Macchi RL, Molgatini SL: Antimicrobial effect of six endodontic sealers: an in vitro evaluation. *Endod Dent Traumatol* 15:42-45, 1999.

Khayat A, Lee SJ, Torabinejad M: Human saliva penetration of coronally unsealed obturated root canals. *J Endod* 19:458-461, 1993.

Kim SK, Kim YO: Influence of calcium hydroxide intracanal medication on apical seal. *Int Endod J* 35:623-628, 2002.

Kontakiotis EG, Wu MK, Wesselink PR: Effect of sealer thickness on long-term sealing ability: a 2-year follow-up study. *Int Endod J* 30:307-312, 1997.

Leonard JE, Gutmann JL, Guo IY: Apical and coronal seal of roots obturated with a dentine bonding agent and resin. *Int Endod J* 29:76-83, 1996.

Magura ME, Kafrawy AH, Brown CE, Jr., Newton CW: Human saliva coronal microleakage in obturated root canals: an in vitro study. *J Endod* 17:324-331, 1991.

Mannocci F, Ferrari M: Apical seal of roots obturated with laterally condensed gutta-percha, epoxy resin cement, and dentin bonding agent. *J Endod* 24:41-4, 1998.

Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T: Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 31:1-7, 1998.

Möller AJ, Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Heyden G: Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res* 89:475-484, 1981.

Moorer WR, Genet JM: Evidence for antibacterial activity of endodontic gutta-percha cones. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 53:503-507, 1982.

Mounce R, Glassman G: Bonded endodontic obturation: Another quantum leap forward for endodontics. *Oral Health* 94(6):13-22, 2004.

Nair PN, Sjogren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G: Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 16:580-588, 1990.

Oliet S: Single-visit endodontics: a clinical study. *J Endod* 9:147-152, 1983.

Ørstavik D: Weight loss of endodontic sealers, cements and pastes in water. *Scand J Dent Res* 91:316-319, 1983.

Ørstavik D, Haapasalo M: Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol* 6:142-149, 1990.

Peters DD: Two-year in vitro solubility evaluation of four Gutta-percha sealer obturation techniques. *J Endod* 12:139-145, 1986.

Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR: The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. *Int Endod J* 28:95-99, 1995.

Peters LB, Wesselink PR: Periapical healing of endodontically treated teeth in one and two visits obturated in the presence or absence of detectable microorganisms. *Int Endod J* 35:660-667, 2002a.

Peters LB, van Winkelhoff AJ, Buijs JF, Wesselink PR: Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with periapical bone lesions. *Int Endod J* 35:13-21, 2002b.

Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M: Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. *Int Endod J* 34:184-188, 2001.

Saleh IM, Ruyter IE, HaapasaloM, Orstavik D: Survival of Enterococcus faecalis in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro. *Int Endod J* 37:193-198, 2004.

Shipper G, Orstavik D, Teixeira FB, Trope M: An evaluation of microbial leakage in roots filled with a thermoplastic synthetic polymer-based root canal filling material (Resilon). *J Endod* 30:342-347, 2004.

Siqueira Junior JF, Favieri A, Gahyva SM, Moraes SR, Lima KC, Lopes HP: Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. *J Endod* 26:274-277, 2000.

Sjögren U, Figdor D, Spangberg L, Sundqvist G: The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J* 24:119-125, 1991.

Soltanoff W: A comparative study of the single-visit and the multiple-visit edodontic procedure. *J Endod* 4:278-281, 1978.

Sundqvist G: Bacteriological studies of nectrotic dental pulps. Thesis. Umea Univ. Odont.Diss. Ref Type: Generic 7, 1-94. 1976.

Sundqvist G, Figdor D: Microbiological analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 35:86-93, 1998.

Swanson K, Madison S: An evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth. Part I. Time periods. *J Endod* 13:56-59, 1987.

Teixeira FB, Teixeira EC, Thompson JY, Trope M: Fracture resistance of roots endodontically treated with a new resin filling material. *J Am Dent Assoc* 135:646-652, 2004.

Tidmarsh BG: Acid-cleansed and resin-sealed root canals. *J Endod* 4:117-21, 1978.

Torabinejad M, Ung B, Kettering JD: In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. *J Endod* 16:566-569, 1990.

Tronstad L, Barnett F, Flax M: Solubility and biocompatibility of calcium hydroxide-containing root canal sealers. *Endod Dent Traumatol* 4:152-159, 1988.

Walton RE, Torabinejad M: Principles and Practice of Endodontics. 3rd ed. 2002, pp 232-234, W.B. Saunders company. Weiger R, Rosendahl R, Lost C: Influence of calcium hydroxide intracanal dressings on the prognosis of teeth with endodontically induced periapical lesions. *Int Endod J* 33:219-226, 2000.

Wu MK, Ozok AR, Wesselink PR: Sealer distribution in root canals obturated by three techniques. *Int Endod J* 33:340-345, 2000.

Abstract

The effect of canal filling with Gutta-percha or Resilon on *Enterococcus faecalis* in bovine dentinal tubules

Sang-Wook Jee

Department of Dentistry,
The Graduate school, Yonsei University
(Directed by Professor Eui-Seong Kim)

The purpose of this study was to observe the effect of canal filling on the bacteria left in the dentinal tubules and to compare the sealing ability of Gutta-percha and Resilon.

The dentin block models were prepared using extracted bovine incisors. The teeth were sliced into 4 mm of thickness, 6 mm of external diameter and 2.3 mm of internal diameter. *E. faecalis* was innoculated to dentin blocks and incubated at 37℃ for 7 days, except for the negative control (Group 1). The outer surface was coated with nail varnish and the internal diameter was increased to 2.5 mm by using ISO 025 round bur. The dentin blocks were divided into 5 groups by canal filling method.

Group 1 was the negative control. Group 2 was the positive control. In Group 1 and 2, the internal surface of the dentin blocks was coated with nail varnish. Group 3 was filled with ZOE based sealer and Gutta-percha, Group 4 with resin based sealer and Gutta-percha, and Group 5 with resin based sealer and Resilon. After 24 hour at room temperature, the blocks were incubated at 37℃ for 1, 2, 3 and 4 weeks on BHI agar plates. BHI agar plate was changed weekly.

The internal dentin portion of the blocks was removed using ISO 027, 029, 031, 035 round burs and the dentin chips were incubated on culture medium at 37℃ for 24 hour. Following incubation, the optical density of the medium was measured using spectrophotometer. The purity of the positive cultures was confirmed by Gram staining, and colony morphology on BHI agar.

The data were statistically analysed using repeated measures ANOVA and one-way ANOVA.

The results were as follows,

1. There was statistically significant reduction in the number of *E. faecalis* of the group where dentinal tubules were completely sealed with nail varnish in comparison with the groups obturated with gutta-percha or resilon ($p<0.05$).
2. In group 5, the number of *E. faecalis* in the dentinal tubules decreased significantly with time ($p<0.05$), whereas in Group 3 and 4, there was no reduction in its number ($p>0.05$).

3. Under the conditions of this experiment, *E. faecalis* survived up to 4 weeks after obturation with gutta-percha or resilon ($p>0.05$).
4. The U/P root canal sealer®and RealSeal™ used in this experiment had an antibacterial effect. There was no statistically significant difference between the effects of them ($p>0.05$).

This experiment demonstrated that both Gutta-percha and Resilon have an incomplete root canal sealing ability from the fact that *E. faecalis* survived in the dentinal tubules after the obturation. There is, however, a possibility that resin based sealer and Resilon would exhibit a better root canal sealing ability in the long-term. Further studies on this, is required.

Key words : *Enterococcus faecalis*, resilon, root canal sealing effect