

상아세관에서 세균부착에 관한 주사전자현미경적 연구

원광대학교 치과대학 치과보존학교실

안정모 · 임미경

Abstract

A SCANNING ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF BACTERIAL ATTACHMENT IN DENTINAL TUBULES

Jung-Mo An, D. D. S., Mi-Kyung Im, D. D. S., M. S. D., Ph. D.

Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Wonkwang University.

Microorganisms are implicated the endodontic treatment failures. Persistent endodontic infection may be the result of retention of microorganisms in the dentin of the root canal walls. Dentinal tubules of the root canal walls have been shown to harbor microorganisms. The purpose of this study was to investigate the invasion of microorganism into the root dentin and dentinal tubules. The effects of irrigation solutions and smear layer on bacterial colonization of root canal were evaluated using a scanning electron microscopy.

Canals of extracted human teeth with single and straight canals were stepback prepared using normal saline. Tooth samples were divided into four groups according to the irrigation solutions -5% sodium hypochlorite and normal saline-and smear layer treatment. The smear layer was removed by 5% NaOCl and 20% EDTA for 10 min respectively. After sterilization, they were incubated with each strains of *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Sodium hypochlorite solution reduced the adhesion of microorganisms effectively compared to normal saline. The smear layer inhibited colonization of *E. faecalis*, *S. aureus* and *E. coli* in the root canals due to their blocking of dentianl tubules. But *S. sanguis* invaded dentinal tubules in the root canals without smear layer.

It was suggested that bacterial attachment might be different according to the strains. Sodium hypochlorite inhibited bacterial attachment in the dentinal tubules dramatically. The absence or presence of smear layer affected bacterial invasion of the dentinal tubules.

I. 서 론

세균은 치수 및 치근단 질환을 유발할 뿐 아니라¹⁾ 근관치료가 실패하는 원인이 되기도 한다²⁾. 근관치료의 실패는 주로 근관계에 잔존하는 세균이 원인으로서 주근관 이외에 부근관 및 상아세관에도 세균이 잔존되어 근관치료가 완결된 후에도 근관 감염이 지속되는 이유로 세균의 부착을 고려할 수 있다. 근관벽 상아질의 상아세관내에 세균이 발견되며³⁾ 이 경우에는 근관형성만으로는 효과적으로 세균을 제거할 수 없다. 여러 연구에서⁴⁻⁵⁾ 세균이 상아세관을 침입하는 경로를 입증하고자 하였으나 이러한 임상적인 시도는 그 결과를 해석하는 어려움이 있었다. 여러 종류의 세균을 대상으로 세균의 상아질 침투를 사용되었다. Safavi 등⁶⁾은 *Streptococcus faecalis*의 상아세관 침투를 광학현미경으로 관찰하였으며 Akpata와 Blechman 등⁷⁾은 절대혐기성 세균과 통성 혐기성 세균의 상아세관 침투를 관찰하였다. Haapasalo와 Orstavik⁸⁾는 주사전자현미경과 광학현미경을 사용하여 *Enterococcus faecalis*의 근관 상아질 침투를 연구하였다.

근관치료에서 근관 기구를 사용하여 근관을 확대하는 기계적인 방법이 가장 중요한 단계라는 주장⁹⁾도 있으나 근관의 세균이나 해부학적인 구조로 인하여 근관확대시의 근관세척액의 화학적인 세균 제거 작용은 중요한 역할을 담당한다¹⁰⁾. 근관세척액으로는 NaOCl, 과산화수소수, 생리식염수, EDTA, 구연산과 기타 소독용액등이 사용되며, 화학적 성질에 따라 근관벽을 윤택하게 만들거나 상아질 기질의 유기성분을 제거한다¹¹⁻¹³⁾. Gutierrez 등¹⁴⁾은 주사전자현미경을 이용하여 NaOCl이 치태 뿐 아니라 감염된 치아의 피사조직을 용해시키는데 중요한 역할을 한다고 보고하였다.

근관 형성 후 근관벽에 남는 도말층에 관하여¹⁵⁻¹⁷⁾ McComb와 Smith 등¹⁸⁾은 도말층은 상아질에 단단하게 부착되어 있지 않다고 하였다. 도말층은 이의 존재가 보고된 이후로 연구와 논쟁의 대상이 되어 왔으나 도말층의 임상적 중요성에 관해서는 아직도 정확히 밝혀지지

않았으며, 형태, 구성 성분과 물리적 생물학적 성질 및 이의 제거 여부에 관하여 논란의 여지가 있다¹⁹⁻²¹⁾. 주사전자현미경은 근관 형성 후 근관벽에 남는 도말층, 상아세관의 개방성과 근관 기구의 사용으로 인한 근관벽에 생기는 줄이나 calcospherite 등을 관찰하여 수용기구나 초음파기구의 효용성을 비교평가하는데 사용되었다²²⁻²⁴⁾. 도말층이 근관벽 상아질에 세균이 침투하는 능력에 미치는 영향에 관한 연구에서 Drake 등²⁵⁾은 도말층이 상아세관을 폐쇄하여 세균의 집락형성을 방해한다고 하였다.

본 연구는 발거된 사람의 단근치 치근의 근관을 확대한 후 *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli*를 실험적으로 감염시킨 후 이들 세균이 근관벽과 상아세관에 부착되는 양상을 주사전자현미경으로 관찰하고자 하였다. 근관치료시 근관세척액으로 자주 사용되는 NaOCl과 생리식염수가 이들 부착된 세균을 효과적으로 근관벽과 상아세관으로부터 제거하는지를 관찰하였다. 또한 NaOCl과 EDTA를 이용하여 도말층을 제거한 근관과 제거하지 않은 근관에서 도말층의 존재가 세균의 부착능에 미치는 영향을 관찰하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 치아 시편의 준비

최근에 발거한 사람의 전치와 소구치를 본 연구의 대상으로 하였다. 발거된 치아는 치석과 치주조직 잔사를 제거한 후 실험에 사용하기 전까지 생리식염수에 넣어 4°C 냉장고에 보관하였다. 고속 bur를 이용하여 치아의 백악상아질 경계부 하방에서 치관을 자른 후 치근만을 사용하였다. 치근의 만곡도가 20도가 넘는 치아는 제외하였다. 치근부 근관의 작업장을 결정하기 위하여 15번 file을 넣은 후 근첨부에서 file이 관통되면 이 길에서 1mm를 뺀 길이를 작업길로 설정하였다. 근관을 초기 file보다 세단계 큰 file까지 확대한 후 step-back 방법으로 근관을 형성하였으며 근관세척액으로는 생리식염수를 사용하였다. 근관 형성이 완료된

치근은 생리식염수에 넣어 4°C 냉장고에 보관하였다.

2. 세균의 준비 및 근관내 주입

균주로는 감염된 근관에서 분리된 *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis*와 *Staphylococcus aureus*를 사용하였다. *E. coli*와 *E. faecalis*를 넣어 brain heart infusion (BHI) 액체배지에 접종하여 37°C, 10% CO₂ 배양기에서 12시간 동안 증균시켰다. 증균시킨 세균액의 농도를 10¹⁰ cfu/ml로 조정하여 각 세균마다 50ml의 증균된 세포액이 든 원심분리 튜브를 준비하였다.

대조군으로는 도말층을 제거한 근관과 세균액이 든 원심분리 튜브에 2시간 동안 침착한 후 근관세척을 하지 않은 근관을 사용하였다. 실험군으로는 20% EDTA와 5% NaOCl로 10분간 근관을 처리하여 도말층을 제거한 근관과 도말층을 제거하지 않은 근관으로 분류하고 이들을 ethylene oxide 가스로 소독하였다. 근관을 각 세균액이 든 원심분리 튜브에 16시간 동안 침적시켰다. 침적이 완료된 근관은 생리식염수로 근관을 세척한 근관과 5% NaOCl로 세척한 근관으로 분류하였다. 세균의 주입과 세척이 완료된 근관에 협설측에 bur로 수직구를 준 후 chisel을 이용하여 수직으로 절단하였다.

3. 주사전자현미경 관찰

치근을 12시간 동안 3% glutaraldehyde에 넣어 고정하였다. 에탄올의 농도를 50%, 60%, 70%, 80%, 90%와 100%로 증가시켜서 각 농도에서 15분간 침적하여 치근을 건조시켰다. 슬라이드에 고정시킨 후 두께 200Å의 금파편으로 피개한 후 주사전자현미경인 Dual stage scanning electron microscope(DS-130C, Isiagt, Japan)을 이용하여 근관과 상아세관을 관찰하였다.

근관의 각 부분에서 도말층의 존재 여부와 사용된 근관세척액에 따라 각 세균이 침투한 부위 및 세균의 집락이 형성된 양상을 관찰하고 polaroid 사진을 촬영하였다.

III. 실험 성적

생리식염수로 근관을 세척하면서 step-back 방법을 이용하여 근관을 형성한 후, *Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* 및 *Enterococcus faecalis*를 실험적으로 감염시키고 생리식염수와 NaOCl로 처리한 후 세균의 부착효과의 차이를 주사전자현미경을 이용하여 관찰하였다.

대조군 근관에서는 도말층을 제거하지 않고 근관을 형성한 후 근관을 관찰한 결과 상아질면은 형태가 불규칙하여 여러 섬유와 잔사로 덮여 있었다(Fig. 1). 반면 EDTA와 NaOCl을 사용하여 도말층을 제거한 상아질면은 바닥이 고르고 섬유나 잔사가 적고 상아세관의 입구가 개방되었으며 상아세관이 규칙적으로 잘 유지되었다(Fig. 2).

도말층을 제거한 후 생리식염수로 근관을 세척한 경우 근관의 치경부에서는 *S. sanguis*는 길게 연결된 연쇄모양의 균이 잘 관찰되었으며, 특히 일부는 상아세관 속으로 침입으로 들어가는 것이 관찰되었다(Fig. 3). 또한 *S. sanguis*를 침적시키고 생리식염수로 세척한 후에 근침부를 관찰할 경우에도 *S. sanguis*가 다수 관찰되었다(Fig. 4). 그러나 도말층을 제거하고 NaOCl로 근관을 세척한 경우에는 *S. sanguis*가 모두 제거되어 균을 관찰할 수 없었다(Fig. 5). 도말층을 제거하지 않고 생리식염수로 근관을 세척한 경우에는 *S. sanguis*를 관찰할 수가 없어서(Fig. 6) 본 실험에 사용한 나머지 *E. coli*, *E. faecalis* 및 *S. aureus* 균주와는 다른 결과를 보였다.

*E. coli*는 특징적인 막대모양을 하고 있었으며, 도말층을 제거하지 않고 세균액에 침적한 후 생리식염수로 세척한 경우에서 세균이 다수 관찰되었다(Fig. 7). 그러나 도말층을 제거하고 생리식염수로 세척한 경우에는 균수가 매우 감소하였고(Fig. 8), 도말층을 제거하고 NaOCl로 근관을 세척한 경우에는 *E. coli*가 전혀 관찰되지 않아(Fig. 9) NaOCl에 의해 효과적으로 *E. coli*가 제거된다고 사료되었다.

*S. aureus*균주에서는 도말층을 제거하지 않은

경우 생리식염수로 세척하였을 때 포도모양의 구균이 약간 보였지만(Fig. 10), 도말층을 제거하고 NaOCl로 세척하였을 때는 균이 보이지 않았다(Fig. 11).

E. faecalis 균주에서는 도말층을 제거하지 않은 경우 NaOCl로 세척하였을 때 다수의 구간균 모양의 세균이 보였지만(Fig. 12), 도말층을 제거하고 NaOCl로 처리한 경우에는 균이 거의 보이지 않았다(Fig. 13). 주사전자현미경 관찰에서 *S. sanguis*는 매우 긴 연쇄모양을 한 반면, *E. faecalis*는 주로 쌍구균 혹은 구간균 모양을 하고 있었다.

세균의 부착 상태는 전자현미경으로 관찰한 근관 부위에 따라 다소 다르게 나타났다. 치근을 수직으로 절단하여 20배의 저배율에서 치관부 중앙부, 근침부 세 부위를 확인한 후 고배율에서 이들 부위의 치아 구조의 변화와 세포 부착 양상을 관찰하였다(Fig. 14). 도말층을 제거하지 않고 근관의 치관부 1/3을 관찰한 경우에는(Fig. 15) 근관의 삭제시 형성된 도말층 및 유기조직의 잔사등이 근관벽을 피개하여 상아세관의 형태가 관찰되지 않았다. 저배율에서 나타난 구형의 입자는 근관형성시 나타난 잔사로서 고배율에서는 둘레가 불규칙하고 세균보다는 크기가 훨씬 크기 때문에 세균과는 구별되었다. *E. faecalis*를 감염시킨 후 근관의 중앙부 1/3에서는(Fig. 16) 치관부 1/3에서 나타난 바와 같은 구형의 큰 잔사는 관찰되지 않았으며 세균의 집락 형성이 관찰되었다. 그러나 이 부위에서도 도말층의 존재로 상아세관의 형태는 관찰되지 않았다. 도말층을 제거하고 *E. faecalis*를 감염시킨 후 근침부 1/3에서 관찰한 소견으로는(Fig. 17) 상아질 삭편 잔사와 세균의 집락이 다수 관찰되었다.

IV. 총괄 및 고찰

근관과 상아세관에 대한 세균의 부착에 관한 연구로서 Shovelton등⁵⁾은 임상적으로 감염된 61 근관 중 46 근관에서 상아질벽에 세균이 존재한다고 하였다. 이런 치아 중의 일부에서 세균은 상아질 전장의 중간 부위까지 침투되어

있었다. 상아세관에 침투한 세균의 수는 근관에 따라 다양하였으나 동일한 치아에서 근관의 부위에 따른 세균 침투의 차이는 나타나지 않았다. Nair등²⁶⁾은 상아질벽에 세균이 부착됨을 보고하였고 Molven등²⁷⁾은 치근단병소가 있는 치아의 근침부의 상아질에 세균이 침착되어 있음을 보고하였다. 이들 세균은 상아질 표면에 치태와 같은 형태로 침착되어 있었다. Chirnside등⁴⁾은 발거된 견치의 치수를 무균적으로 노출시킨 후 *Serratia marcescens*를 접종하고 28일간 25°C에서 배양한 결과 상아세관에 이들 세균이 침투함을 발견하였다. 또한 임상적으로 염증이 있는 치수의 근관에서 상아질 벽에 세균은 62%의 근관에서 발견되었다. 이때 Bacilli가 구균에 비하여 침투가 자주 나타났으며 일부 중쇄에서는 그람 음성 bacilli에 의한 상아질의 용해가 일어남을 보고하였다.

근관에 세균을 배양시키는 시간에 대하여는 Haapasalo등⁸⁾은 *E. faecalis*는 2주간 배양시켜야 상아세관에 침투하며 3주가 되면 상아세관에 심한 감염을 유발한다고 하였다. 또한 Safavi등⁶⁾도 실험적으로 상아세관을 감염시킨 후 수종의 근관약제의 효과를 관찰한 실험에서 세균 배양시간을 2주로 하였다. Akpata등⁷⁾은 발거된 사람의 근관을 대상으로 근관을 형성한 후 수종의 세균을 접종하여 배지에 침적시키고 배양기간을 다양하게 하여 상아세관에 침투한 세균을 관찰하였다. 연쇄구균은 근관에서 증식하여 침적한 시간에 비례하여 상아세관으로 침투됨을 관찰하였다. Perez등²⁸⁾은 소의 치근을 대상으로 *S. sanguis*, *Actinomyces naeslundii*와 *Prevotella intermedia*등 3균주가 상아세관으로 침입하는 능력을 연구하였다. 치근 상아질 block을 제작하여 각 세균의 배양기간을 10, 20과 28일로 한 후 세균이 침투한 깊이를 투과 전자현미경과 광학현미경으로 관찰하였다. 두 방법 모두에서 상아세관으로 세균이 침투됨을 보였으며 *S. sanguis*만이 792 μ m까지 침투가 나타났다. 이 연구에서 *S. sanguis*만이 상아세관에 침입 가능한 이유로서 *S. sanguis*의 성장은 세균 세포의 주축을 따라서 연장되는 방식으로 일어나며²⁹⁾ 이러한 성장방식이 성장에서 기하

학적으로 방해를 받지 않고 이 세균이 상아세관으로 미끄러져 들어가듯 자랄 수 있도록 하는 형태학적인 요인으로 설명하였다. 운동성이 없는 *S. sanguis*가 상당한 거리를 침투한 것은 배양배지가 상아질의 충분한 깊이까지 도달되었으므로 이 배지 안에서 세균은 수동적인 과정에 의하여 증식하였거나 배양배지를 교환해주지 않아도 세균의 성장에 필요한 충분한 영양이 공급되어 세균의 침투를 증진시킬 수 있었던 것으로 설명하였다. 이 연구에서는 세균의 형태학적인 특성 뿐 아니라 세균간의 응집력에 따라 상아세관으로 침투하는 능력이 의존된다고 하였다.

Briseno등³⁰⁾은 실험적으로 근관을 감염시킨 후 NaOCl과 Fokalhydran등 2가지 근관세척액과 근관세척용 주사기를 사용한 방법과 초음파기구를 사용하여 근관을 세척하는 방법을 사용하여 근관의 정화효과를 세균 집락수를 산정하는 방법과 주사전자현미경으로 근관을 관찰하는 방법을 이용하여 이들 두가지 방법에 의한 관찰 결과는 서로 일치한다고 보고하였다. Bence등³¹⁾에 의하면 세균은 상아질에 침투하지만 이는 전상아질과 상아질의 일부에 국한된다고 하였다. Koskinen등¹³⁾은 2.5%와 5%의 NaOCl이 대부분의 전상아질을 용해하여 globular dentin을 노출시킨다고 보고하였다. Michellich등³²⁾은 여러 세균이 세포가 분열함으로써 상아질로 침투할 수 있다고 하였다. 이는 이론적으로 가능한데 저작시 노출된 상아질에 발생하는 정수압에 의하여 이들 세균이 상아질의 더 깊은 부위까지 밀려들어갈 수 있으며 때로는 상아질 전체에까지 침투될 수 있다고 하였다. 이들의 연구에 의하면 이 압력은 240 cmHg에 이르는 것으로 보고되었다.

근관 형성 후 근관벽에 남게 되는 도말층의 역할에 대하여는 논란이 있다³³⁾. Goldman등¹²⁾은 도말층의 두께는 약 1 μ m 정도라고 하였다. 도말층은 상아질의 투과성을 감소시킨다는 점과 상아세관으로 세균이 침입하는 속도를 감소시키는 관점에서는 유익하다는 주장³⁴⁾이 있는 반면 도말층이 있으면 상아세관으로 근관소독제나 충전제가 침투될 수 없는 불리한 점도 지적³⁵⁾

되고 있다. 도말층의 제거 여부에 대하여는 도말층을 제거하면 근관에 사용하는 약제가 상아세관으로 침투해 들어갈 수 있으므로 도말층을 제거해야 한다는 주장³⁶⁾과 근관을 적절히 소독한 경우나 근관 형성 후에 오염되면 도말층이 있어서 상아세관으로 세균이 침입할 수 없으므로 도말층을 남겨두는 것이 유리하다는 주장¹⁹⁾도 있다. Drake등²⁵⁾은 근관형성 후에 근관벽에 남는 도말층이 세균의 유지에 미치는 영향을 측정하기 위하여 실험적으로 *S. anginosus*를 감염시켜 관찰한 결과 도말층은 근관벽에 세균의 집락형성을 방해한다고 하였다. 일반적으로는 근관 확대시 EDTA나 구연산을 사용해야 도말층이 제거되는 것으로 생각되고 있다³⁶⁾. 도말층을 제거하는 방법에 관하여 초음파기구로 근관을 형성하면서 NaOCl로 세척하면 도말층이 제거된다는 보고^{22,37)}와 도말층 제거에는 영향이 없다는 보고³⁸⁾도 있다. Calas등³⁹⁾은 *S. sanguis*가 소의 근관상아질에 부착되는 능력을 평가하기 위하여 치아 시편을 제작한 후 tungsten carbide bur로 근관에 도말층을 형성하였다. 구연산과 sodium hypochlorite로 근관을 처리한 후 주사전자현미경으로 부착능을 평가하였다. 이들 용액으로 처리하여 도말층을 제거한 경우가 세균의 부착을 유의하게 감소시켰다. 이 연구에서 *S. sanguis*는 도말층에 가장 쉽게 부착하였으며 치근의 치관부와 치경부에서 세균 부착능의 차이가 나타나지 않고, 각 치아마다 광화도에 따른 차이가 나타났다. 이 결과는 Bystrom등⁴⁰⁾의 연구 결과와 일치한다. 이들은 여러 근관세척액을 사용한 임상연구에서 EDTA와 5% NaOCl을 사용한 경우가 NaOCl만은 단독으로 사용한 경우보다 피사치수의 세균을 더욱 효과적으로 제거한다고 하였다.

Sodium hypochlorite의 잔사제거 효과에 관해서는 근관에서 이 용액을 근관세척액으로 사용해도 잔사가 남는다는 보고⁴¹⁻⁴²⁾와 잔사제거 효과가 우수하다는 보고⁴³⁻⁴⁴⁾가 상반되어 있다. NaOCl은 잔사 제거효과가 조직과의 직접적인 접촉뿐만 아니라 접촉하는 시간과 사용한 근관세척액의 양에 의존하지만 근관을 완전히

정화하지는 못하는 것으로 사료되었다. 근관 세척액이 상아질에 침투되는 능력에 관한 연구에서 Cunningham등⁴⁵⁾은 30% 에탄올을 첨가한 NaOCl용액은 상아질의 침투능이 증가된다고 하였다. 상아세판에 세균이 침투하는 능력의 차이에 대하여 Michelich²⁹⁾는 세균의 성장 속도의 차이에 기인한다고 하였다. 도말층이 생성되면 삭제된 잔사가 상아세판으로 밀려들어가서 변성된 콜라겐과 미세 결정 구조인 이들 잔사가 smear plug을 형성한다. 기능적인 측면에서 보면 이들은 상아세판의 입구를 폐쇄하여 도말층이 형성되지 않은 경우의 투과성의 22% 정도의 투과성을 보이는 것으로 알려져 있다⁴⁶⁾.

본 연구에서는 발거된 사람의 단근치에서 근관을 형성한 후 근관벽에 남게 되는 도말층을 그대로 잔존시킨 경우와 제거시킨 경우에 대하여 각각 *S. sanguis*, *E. coli*, *S. aureus*와 *E. faecalis*등 4균주를 감염시켜서 상아세판으로 이들 세균이 침투하도록 한 후 근관세척액으로 생리식염수와 NaOCl을 이용하여 각 세균과 도말층 유무 및 근관세척액에 따른 세균의 상아세판으로의 침투능력을 비교하고자 하였다. *S. sanguis*는 도말층을 제거했을 경우에 개방된 상아세판 속으로 다수의 구균이 밀려들어가는 양상이 명확하게 관찰되었다. Fig. 3과 4에서 나타난 이러한 소견은 Perez²⁸⁾와 Hardie²⁹⁾등이 기술한 소견과 마찬가지로 소견으로서 연쇄구균이 상아세판으로 침투해 들어가면서 자라는 것으로 사료되었다. 도말층을 제거하고 *S. sanguis*의 세균액에 근관을 침적한 경우 생리식염수는 근관에 부착된 세균을 제거하는 효과가 없었으며 도말층이 근관의 입구를 막아 세균침입을 효과적으로 방지하는 것으로 나타났다. 그러나 도말층을 제거하고 NaOCl로 근관을 세척하면 세균은 완전히 제거되어 관찰되지 않았다. 따라서 도말층의 존재 여부 및 사용한 근관세척액의 종류에 따라서도 영향을 받았다. 도말층을 제거하고 생리식염수를 이용하여 근관을 세척한 경우에는 *E. coli*가 근관벽에 소수 발견된 반면 도말층이 잔존된 상태에서 생리식염수를 이용하여 세척하면 세균이 다수 발견되었다. 따라서

도말층을 제거해야 효과적으로 *E. coli*의 균 집락 형성을 방지할 수 있는 것으로 사료되었다. Sodium hypochlorite를 근관세척액으로 사용한 경우에는 도말층 제거의 여부에 관계없이 *E. coli*의 부착을 억제하였다. *S. aureus*의 경우에는 도말층을 제거하지 않고 생리식염수로 세척한 경우에만 세균의 부착이 관찰되어 도말층이 세균이 부착되는 주요한 부위로 사료되었다. Sodium hypochlorite로 세척하면 도말층의 존재 여부에 관계없이 세균을 제거하였다. *E. faecalis*는 도말층을 제거하지 않고 생리식염수로 세척한 경우에서 다수의 세균이 근관에 부착되어 나타났다. 도말층을 제거하고 생리식염수로 세척한 경우와 도말층의 잔존여부에 관계없이 sodium hypochlorite로 세척한 경우에는 *E. faecalis*는 근관에 부착되지 못하였다.

E. coli, *S. aureus*와 *E. faecalis*는 근관세척액으로 생리식염수를 사용한 경우는 도말층을 잔존시킨 경우에서 도말층을 제거하는 경우보다 세균이 다수 나타나서 도말층 부위가 세균이 주로 부착되는 부위로서 근관과 상아세판에 세균 집락의 형성을 효과적으로 억제하기 위하여는 도말층을 제거해야 하는 것으로 사료되었다. 그러나 *S. sanguis*의 경우에는 도말층을 제거하고 근관세척액으로 생리식염수를 사용하면 개방된 상아세판으로 세균이 침투하여 도말층이 효과적으로 세균의 침투를 방해하는 것으로 나타났다. *S. sanguis*가 나머지 세균과 다른 결과가 나타나는 이유로서 세균의 형태 및 성장방식의 차이를 고려할 수 있다. 주사전자현미경으로 세균의 근관부착과 상아세판으로 침입하는 능력에 관한 여러 연구가 있었으나 주사전자현미경의 관찰시야는 아주 미세한 부위로 한정되므로 만일 관찰하는 부위에만 세균의 집락이 다수 형성된 경우는 이 부위가 전체 근관을 대표할 수 없으므로 광학현미경을 통한 전반적인 관찰이 반드시 선행된 이후에 병행하는 것이 정확한 방법으로 사료되었다. 또한 근관에서 세균을 배양한 후 생성된 세균의 집락수를 산정하여 주사전자현미경을 이용한 관찰결과와 비교하여야 정확한 판정을 할 수 있을 것으로 사료되었다. 주사전자현미경 하에서

나타나는 각 세균의 부착능과 부착된 세균의 수의 차이는 세균을 근관에 배양한 기간에 따라서도 차이가 나타난다. 본 실험에서 사용한 시간은 세균의 부착능 자체만을 연구의 대상으로 설정한 기존의 다른 연구의 배양시간에 비하면 비교적 단시간으로서 이러한 점이 근관에서 도말층의 제거 유무 및 사용한 근관세척액의 종류에 따라서 나타난 세균의 집락형성과 상아세관내부로의 침투 여부에 영향을 줄 수 있을 것으로 사료된다. 또한 본 실험에서 나타난 바와 같은 균주에 따른 부착능의 차이도 추후 지속적인 연구를 통하여 계속되어야 하며 혐기성 세균을 포함하여 근관감염에서 자주 분리되는 균주에 대한 전반적인 연구가 이루어져야 할 필요성이 있다고 사료되었다.

V. 결 론

세균이 근관벽과 상아세관에 부착되는 양상 및 근관치료시 근관세척액으로 자주 사용되는 NaOCl과 생리식염수가 부착된 세균을 제거하는지를 사람의 단근치를 대상으로 주자전자현미경을 이용하여 관찰하였다. 또한 NaOCl과 EDTA를 이용하여 도말층을 제거한 근관과 제거하지 않은 근관에서 도말층의 존재가 세균의 부착능에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

NaOCl용액은 생리식염수에 비하여 근관에서 세균을 제거하는 효과가 우수하게 나타났다. *E. coli*, *S. aureus*와 *E. faecalis*를 주입한 근관에서 도말층을 제거하지 않은 균에서는 생리식염수로 세척한 경우에서 세균이 도말층에 부착되어 도말층을 제거한 균보다 세균이 다수 관찰되었다. 그러나 *S. sanguis*에서는 도말층이 제거된 균에서 세균이 다수 관찰되었다. 세균의 부착은 근관세척액 및 도말층 제거 및 여부에 영향을 받으며 세균에 따른 부착능의 차이도 나타났다.

참고문헌

1. Sundqvist G : Bacteriological studies of

necrotic dental pulps. Umea University Odontological Dissertations No. 7, 1976.

2. Engstrom B and Lundberg M : The correlation between positive culture and the prognosis of root canal therapy after pulpextomy. *Odontol Revy* 16 : 193-203, 1965.

3. Shovelton DS : The presence and distribution of microorganisms within nonvital teeth. *Br Dent J* 117 : 101-7, 1964.

4. Chirnside IM : Bacteriological status of dentin around infected pulp canals. *NZ Dent J* 54 : 174-83, 1958.

5. Shovelton DA : Bacterial invasion of dentine around infected pulp canals-a preliminary report. *Alabama Dent Rev* 7 : 7-12, 1959.

6. Safavi KE, Spangberg L and Langeland K : Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endod* 5 : 207-10, 1990.

7. Akpata ES and Blechman H : Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. *J Dent Res* 61 : 435-8, 1982.

8. Haapasalo M and Orstavik D : In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 66 : 435-1982.

9. Schilder H : Cleansing and shaping the canal. *Dent Clin North Am* 18 : 269-96, 1974.

10. Moodnik RM, Dorn SO, Feldman MJ, Levey M and Borden BG : Efficacy of biomechanical instrumentation : a scanning electron microscopic study. *J Endod* 2 : 261-6, 1976.

11. Gutierrez JH and Garcia J : Microscopic and macroscopic investigation on results of mechanical preparation of root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 25 : 108-16, 1968.

12. Goldman M, Goldman LB, Cavaleri R, Bogis J and Sun Lin P : The efficacy of several endodontic irrigating solutions : a sca-

- nning electron microscopic study : part 2. *J Endod* 8 : 487-92, 1982.
13. Koskinen K, Meurman JH and Stenvall H : Appearance of chemically treated root canal walls in scanning electron microscope. *Scan J Dent Res* 88 : 505-12, 1980.
 14. Gutierrez JH, Jofre A and Villena F : Scanning electron microscope study on the action of endodontic irrigants on bacteria invading the dentinal tubules. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 69 : 491-501, 1990.
 15. Baker NS, Eleazer PD, Averbach RE and Seltzer S : Scanning electron microscope study of the efficacy of various irrigating solutions. *J Endod* 1 : 127, 1975.
 16. Goldberg F and Abramovich A : Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. *J Endod* 3 : 101, 1977.
 17. Mizrahi SJ, Tricho JW and Seltzer S : A scanning electron microscopic study of the efficacy of various endodontic instruments. *J Endod* 1 : 324, 1975.
 18. McComb E and Smith DC : A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1 : 238, 1975.
 19. Vojinovic O, Nyborg H and Brannstrom M : Acid treatment of cavities under resin fillings : bacterial growth in dentinal tubules and pulpal reactions. *J Dent Res* 1189-93, 1973.
 20. Brannstrom M : Smear layer : pathological consideration. *Oper Dent* 1984 ; (suppl) 3 : 35-42.
 21. Pashley DH : Smear layer : physiological consideration *Oper Dent suppl* 3 : 13-29, 1984.
 22. Martin H and Cunningham W : Endosonics-the ultrasonic synergistic system of endodontics. *Endod Dent Traumatol* 1 : 201-6, 1985.
 23. Reynolds MC, Madison S, Walton Re, Krell KV and Rittman BRJ : An in vitro histological comparison of the step-back, sonic and ultrasonic instrumentation technique in small curved root canals. *J Endod* 13 : 307-14, 1987.
 24. Langeland K, Liao K and Pascon EA : Work saving devices in endodontics : efficacy of sonic and ultrasonic techniques. *J Endod* 11 : 499-510, 1985.
 25. Drake DR, Wiemann AH, Rivera EM and Walton RE : Bacterial retention in canal walls in vitro : Effect of smear layer. *J Endod* 20 : 78-82, 1994.
 26. Nair NPN : Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod* 13 : 29-39, 1987.
 27. Molven O, Olsen I and Kerekes K : Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. *Endod Dent Traumatol* 7 : 226-9, 1991.
 28. Perez F, Rochd T, Lodter JP, Calas P and Michel G : In vitro study of the penetration of three bacterial strains into root dentin. *Oral Surg Oral med Oral Pathol* 76 : 97-103, 1993.
 29. Hardie JM : Oral streptococci, gram-positive cocci-genus streptococcus. In : Sneath PHA, Mair NS, Sharps E, eds. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore : Williams and Wilkins, 1043-71, 1986.
 30. Briseno BM, Wirth R, Hamm G and Standartinger W : Efficacy of different irrigation methods and concentrations of root canal irrigations on bacteria in the root canal. *Endod Dent Traumatol* 8 : 6-11, 1992.
 31. Bence R, Madonia JV, Weine FS and Smulson MH : A microbiologic evaluation of endodontic instrumentation in pulpless

- teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 35 : 676-83, 1973.
32. Michelich VJ, Schuster JS and Pashley DH : Bacterial penetration of human dentin in vitro. J Dent Res 59 : 1398-403, 1980.
 33. Glaser CG : Scanning electron microscopic evaluation of endosonic and hand instrumentation in the debridement of root canal system. Quint Int 20 : 525-30, 1989.
 34. Pahley DH : Clinical considerations of microleakage. J Endod 16 : 70-7, 1990.
 35. Mader CL : Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. J Endod 10 : 477-83, 1984.
 36. Goldman LB, Goldman M, Kronman JH and SunLin P : A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions ; Part 3. J Endod 9 : 137-41, 1983.
 37. Cameron JA : The synergistic relationship between ultrasound and sodium hypochlorite : a scanning electron microscope evaluation. J Endod 13 : 541-5, 1987.
 38. Mandel E, Machtou P and Friedman S : Scanning electron microscope observation of canal cleanliness. J Endod 16 : 279-83, 1990.
 39. Calas P, Rochd T and Michel G : In vitro attachment of *Streptococcus sanguis* to the dentin of root canal. J Endod 20 : 71-4, 1994.
 40. Bystrom A and Sundqvist G : The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. Int Endod J 18 : 35-40, 1985.
 41. Mandel E, Machtou P and Friedman S : Scanning electron microscope observation of canal cleanliness. J Endod 16 : 279-83, 1990.
 42. Goldman LB, Goldman M, Kronman JH and Sunlin P : The efficacy of several irrigating solutions for endodontics : a scanning electron microscopic study. Oral Surg 52 : 197-204, 1981.
 43. Cameron JA : The synergistic relationship between ultrasound and sodium hypochlorite ; a scanning electron microscope evaluation. J Endod 13 : 541-5, 1987.
 44. Griffiths BM and Stock BJR : The efficiency of irrigants in removing root canal debris when used with an ultrasonic preparation technique. Int Endod J 19 : 277-84, 1986.
 45. Cunningham WT, Cole JS and Bablekjian AY : Effect of an alcohol on the spreading ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 54 : 333-5, 1982.
 46. Pashley DH : Smear layer : overview of structure and function. Proc Finn Dent Soc 88(suppl 1) : 215-24, 1992.

Explanation of figures

- Fig. 1. Dentin debris and organic tissue remnants covered with the smear layer in control group($\times 5,000$).
- Fig. 2. Smear layer was removed with 20% EDTA and 5% NaOCl in control group. Openings of dentinal tubules were open($\times 5,000$).
- Fig. 3. *S. sanguis* invaded the dentinal tubules in coronal third of root canal which had no smear layer and was irrigated with normal saline($\times 5,000$).
- Fig. 4. *S. sanguis* aggregated in the openings of the apical third of root canal irrigated with normal saline($\times 5,000$).
- Fig. 5. Sodium hypochlorite inhibited the attachment of *S. sanguis* in the smear layer removed canals($\times 3,000$).
- Fig. 6. Normal saline inhibited the attachment of *S. sanguis* in the smear layer intact canals ($\times 3,000$).
- Fig. 7. Normal saline inhibited the attachment of *E. coli* in the smear layer intact canals($\times 4,000$).
- Fig. 8. *E. coli* attachment in the smear layer intact canals was slightly inhibited by normal saline irrigation($\times 5,000$).
- Fig. 9. Sodium hypochlorite inhibited the attachment of *E. coli* in the smear layer removed canals($\times 5,000$).
- Fig. 10. *S. aureus* was not completely removed by normal saline in the smear layer intact canals($\times 5,000$).
- Fig. 11. Sodium hypochlorite removed *S. aureus* in smear layer removed canals($\times 3,000$).
- Fig. 12. *E. faecalis* was observed in the smear layer intact and NaOCl irrigated canal($\times 5,000$).
- Fig. 13. Sodium hypochlorite inhibited attachment of *S. anguis* in the smear layer removed canals($\times 5,000$).
- Fig. 14. Root canal specimen($\times 20$).
- Fig. 15. Coronal third of root canal in the smear layer intact control group($\times 4,000$)
- Fig. 16. Middle third of root canal in the smear layer intact and *E. faecalis* incubated canal ($\times 5,000$).
- Fig. 17. Apical of root canal in the smear layer removed control group. *E. faecalis* colonies were observed($\times 5,000$).

사진부도①

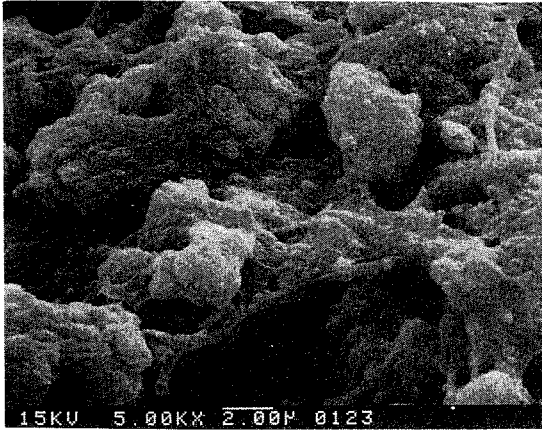


Fig. 1.

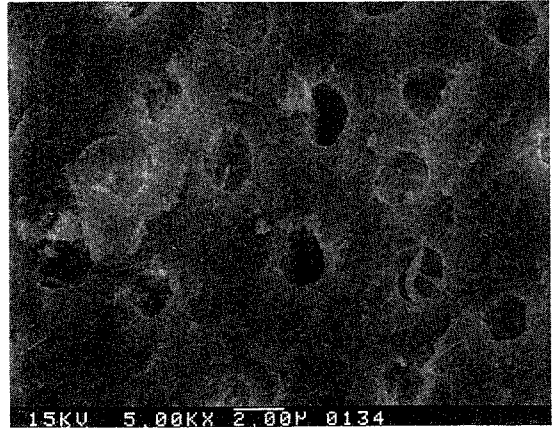


Fig. 2.

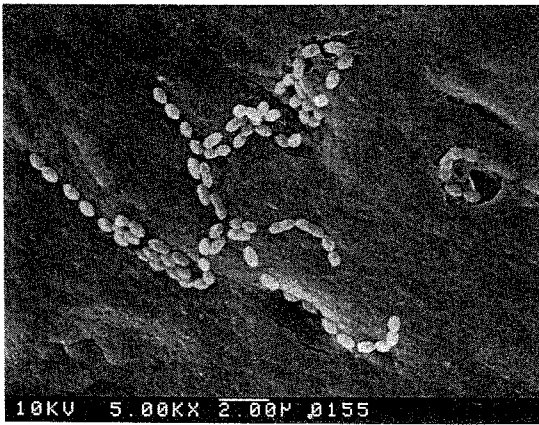


Fig. 3.

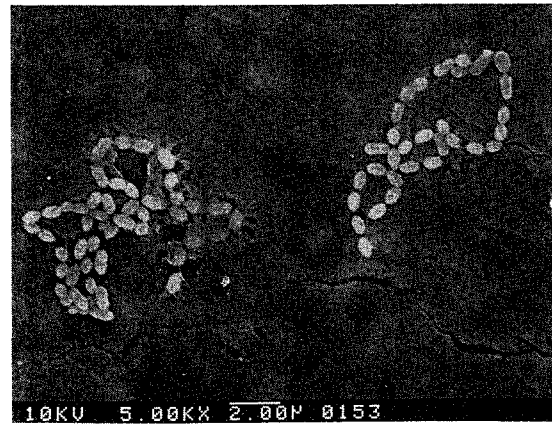


Fig. 4.

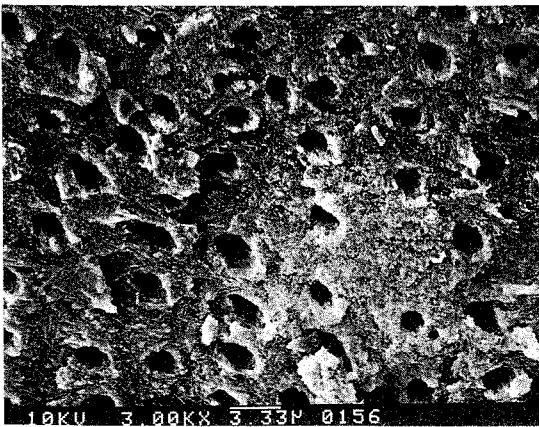


Fig. 5.

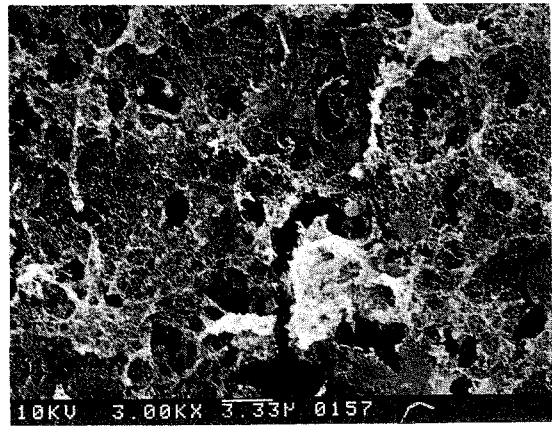


Fig. 6.

사진부도②

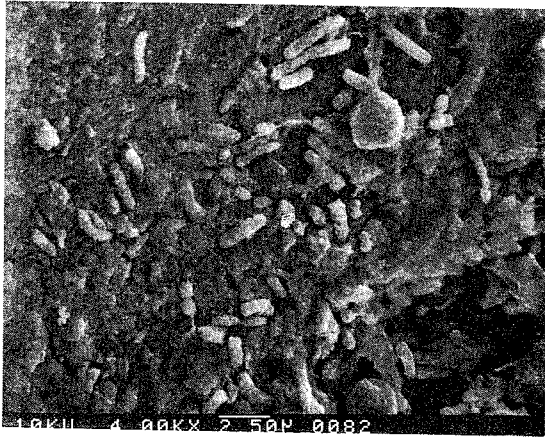


Fig. 7.

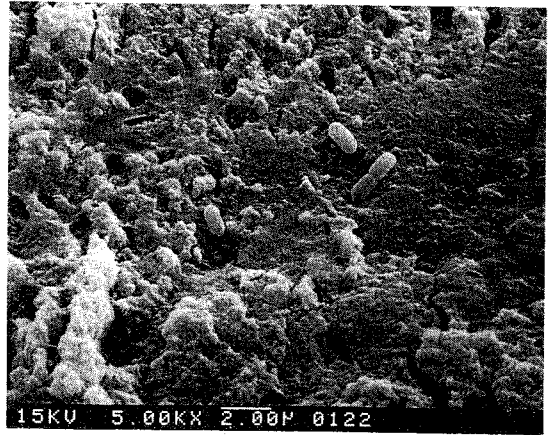


Fig. 8.

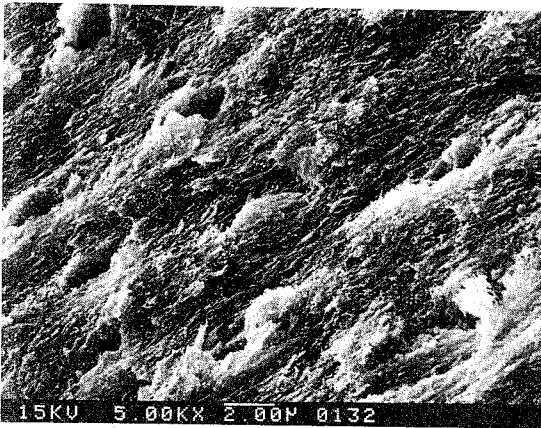


Fig. 9.

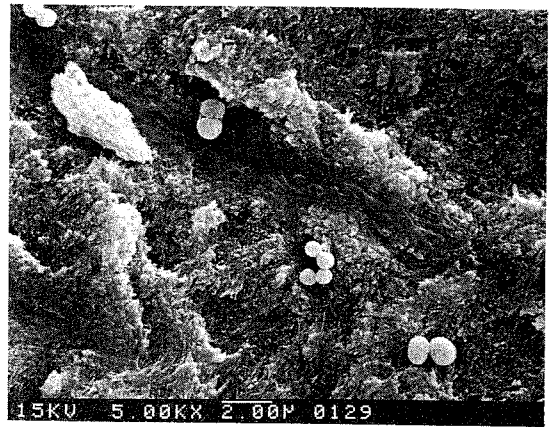


Fig. 10.

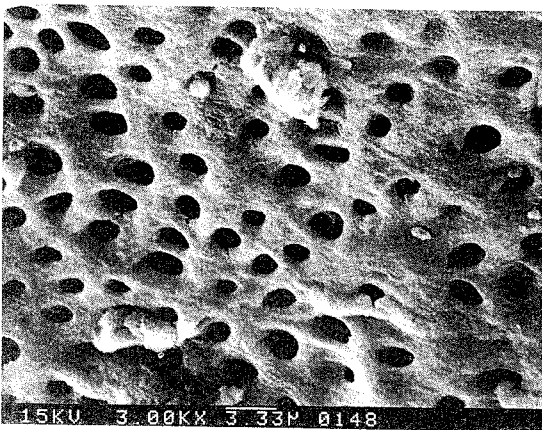


Fig. 11.



Fig. 12.

사진부도③

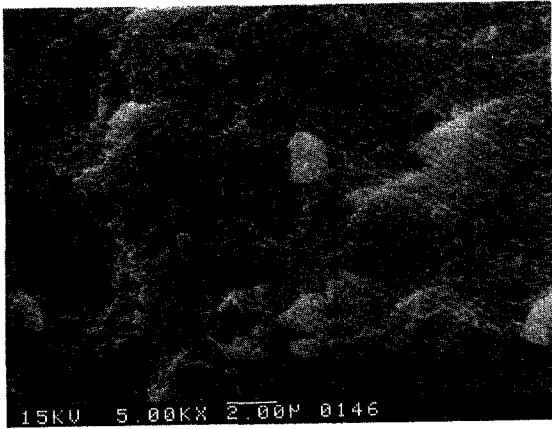


Fig. 13.

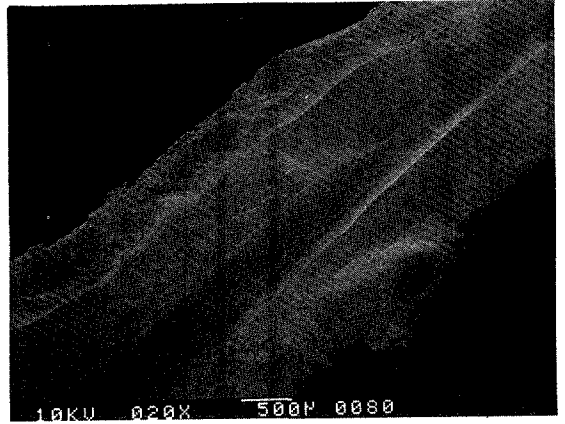


Fig. 14.

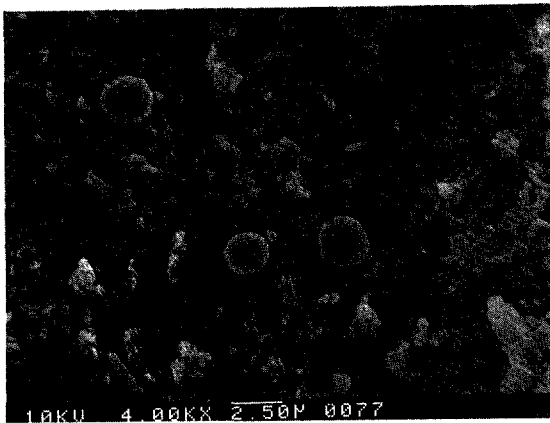


Fig. 15.

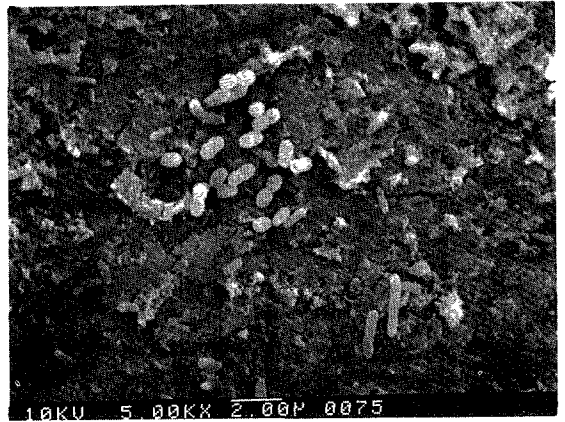


Fig. 16.

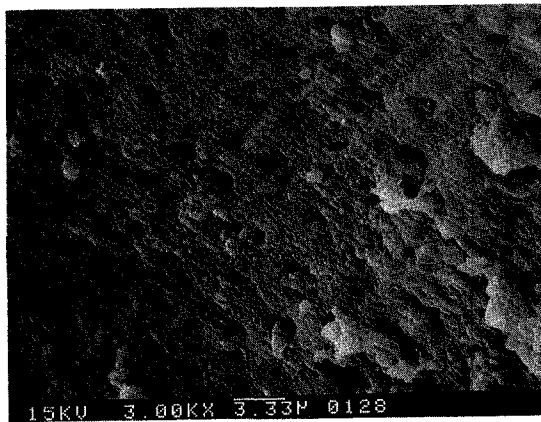


Fig. 17.