

생체막 제거 방법에 따른 비우식성 치경부 병소의 미세인장강도 비교

조선대학교 치과대학 치과보존학 교실

성건화, 민정범, 박태영*

간추린 제목 : 생체막 제거 방법에 따른 미세인장강도 비교

ORCID ID

Kun-Hwa sung,  <https://orcid.org/0000-0001-5445-9923>

Jeong-Bum Min,  <https://orcid.org/0000-0003-1502-5465>

Tae-Young Park,  <https://orcid.org/0000-0002-6215-8204>

ABSTRACT

Comparison of microtensile bond strength on non-carious cervical lesions according to biofilm removal method

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chosun University, Gwang-ju, Korea

Kun-Hwa Sung, Jeong-Bum Min, Tae-Young Park*

Running Title: Microtensile bond strength according biofilm removal method

Dentin surface of non-carious lesion is usually attached with oral biofilm. The biofilm should be removed before application of restorative material, because it may reduce the bond strength of adhesive system. The aim of this study was to evaluate the microtensile bond strength, when the biofilm was removed with brush or bur. Twenty extracted human third molars were sectioned horizontally to obtain dentin surface. Specimen were divided randomly into four group. Biofilm formation was performed in three group, except for Group 1 (negative control). Biofilm was removed as follows: Group 3, using ICB brush; Group 4, using low-speed round bur #2. Group 2 (positive control) was not removed Biofilm. And in all four groups, the adhesive system (Optibond FL, Kerr) was applied to etched dentin surface, and resin composite was built up in three 1mm increments. After 24 hour storage in distilled water, the teeth were perpendicularly sectioned to obtain beams (1 x 1 mm²). Microtensile bond strength was measured and the data were statistically analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc test ($p < 0.05$). Group 4 showed the highest microtensile bond strength ($p < 0.05$), Group 3 showed no significant improvements when compared to Group 1. Group 2 showed lowest microtensile bond strength ($p < 0.05$). When restoring a non-carious cervical lesion, it is essential to remove the biofilm present on the dentin surface. In addition, in the method of removing the biofilm, both the brush removal method and the bur removal method were effective.

Key words : Microtensile bond strength, Non-carious cervical lesion, biofilm removal method

Corresponding Author

Tae-young Park

Dept. of Conservative Dentistry, Chosun University School of Dentistry, 303 Pilmun-daero, Dong-gu, Gwang-ju, Korea 501-759

TEL : +82-62-220-3840, FAX : +82-62-223-9064, E-mail : conschosun@chosun.ac.kr

ACKNOWLEDGEMENT This study was supported by research funds from Education and Cultural Foundation of College of Dentistry, Chosun university, 2020.

I. 서론

치경부 병소는 세균에 의한 우식성 병소와 다양한 원인을 갖는 비우식성 병소로 구분된다. 이 중 비우식성 치경부 병소(noncarious cervical lesions: NCCLs)는 치아 우식증과 상관 없이 치경부의 백악질과 법랑질의 경계에서 치아 구조가 상실되는 증상을 말한다¹⁾. 비우식성 치경부 병소의 원인으로는 마모, 침식, 굴곡파절 등이 있으며, 이들이 복합적으로 작용하여 다양한 형태의 치경부 병소가 발생한다고 하였다²⁾. 비우식성 치경부 병소에 의해 치아의 경조직이 상실되면 병소의 확대를 방지하여 치아를 보호하기 위해 병소를 수복하는 방법을 이용한다³⁾. 이러한 비우식성 병소의 수복은 응력을 분산시켜 형태상 응력이 집중되는 부분의 응력을 줄여주는 역할을 한다⁴⁾.

비우식성 치경부 병소를 수복할 시에 병소 원인의 파악, 적절한 수복재의 선택, 적절한 접착제, 적절한 수복방법 등을 추가적으로 고려해야 한다. 이외에도 치경부 결손부위의 심부에 구강내 생성되는 생체막이 침착되어 있

을 수 있고 이를 고려하지 않고 수복하는 경우 접착 실패로 인한 수복물의 탈락이 생길 수 있다. 비우식성 치경부 병소의 수복시 탈락 원인에 대한 많은 연구가 있었으나 생체막의 영향에 관한 연구는 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 비우식성 치경부 병소에 있어서 생체막 제거 방법에 따른 결합강도를 평가하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험치아

우식에 이환되지 않은 건전한 20개의 하악 대구치를 사용하였다. 저속 diamond disc를 주수하에 이용하여 치아 장축에 수직으로 절단하였고, 법랑질을 제거하고 편평한 상아질면을 노출시켰다. 각 치아는 임의적으로 네 개 군으로 구분하였다(Table 1).

Table 1. Biofilm removal method of each group.

Group	Biofilm removal method
Negative Control (NC)	No biofilm
Positive Control (PC)	No biofilm removal
Brush	Biofilm removal with ICB brush
Bur	Biofilm removal with low-speed round bur #2

2. 생체막 형성

1) 실험세균

본 실험에 사용된 *Streptococcus mutans* (KCOM 1054) 균주는 한국인의 치면세균막에서 분리된 것으로 한국구강미생물자원은행(Korean Collection for Oral Microbiology, Gwangju, Korea)에서 분양받아 사용하

였다.

2) 세균배양

S. mutans 는 brain heart infusion (BHI, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 액체배지 및 한천배지를 사용하여 세균배양기에서 37°C에서 24시간동안 배양하여 사용하였다.

3) *In vitro* biofilm 형성

각각의 세균들은 BHI 액체 배지에 37°C, 20시간 정치배양한 후 약 1×10^8 CFU/ml 농도로 희석하였다. 인공 타액은 Adherence Buffer 용액에 1% Mucin (Mucin from porcine stomach, Type III, SIGMA M1778)을 첨가하여 제작하였으며 Adherence Buffer 용액은 KH_2PO_4 10 mM, KCl 50 mM, CaCl_2 1 mM, MgCl_2 0.1 mM을 혼합하여 pH 7.0으로 만들었다. 생체막 형성을 위한 배지는 3% sucrose를 첨가한 BHI (BHIS) 액체 배지를 사용하였다. 치아 교합면에 인공타액 코팅을 위해 교합면 주변을 소독된 utility wax로 감싸고 인공 타액 200 μl 씩 분주한 후, 실온에서 4시간 동안 천천히 교반하며 반응시켰다. 반응 후, 인공타액을 pipette를 이용해 제거하고 15분간 자연건조 하였다. Group 1(negative control)을 제외한 나머지 그룹에 1×10^8 CFU/ml 농도를 가진 각각의 세균들을 40 μl 씩 2배 농도의 BHIS 460 μl 와 혼합하고 각 2배 농도의 시료 500 μl 와 혼합한 후 인공타액 코팅된 치아 교합면에 100 μl 씩 분주하였다. 이후, 항온기에서 37°C에서 24시간 동안 배양하여 생체막을 형성하였다.

3. 시편 제작

생체막을 형성한 세 개의 군 중에서 Group 2(Positive control)는 생체막을 제거하지 않았고, Group 3는 ICB brush를 이용하여 생체막을 제거하였고, Group 4는 low-speed round bur #2를 이용하여 생체막을 제거하였다. 모든 치아 군은 상아질면을 37% 인산으로 산부식 후 Optibond FL (Kerr, Orange, CA, USA)를 접착제로 사용하였다. 광중합 후에는 Z250 (3M ESPE, St. Paul, USA)을 5mm 두께로 적층 충전하여 중합하였다. 각 시편은 20초간 B&Lite[®](B&L Biotech, Korea) with Normal mode(800mW/cm²)를 사용하여 광중합하였다.

충전 후 각 치아는 증류수에 24시간 동안 보관한 후,

주수 하에 저속 diamond saw로 치아 장축 방향으로 절단하여 가로 1mm 세로 1mm 막대 모양의 절편을 만들었다.

4. 미세인장결합강도 측정

시편은 각 군당 20개를 이용하여 미세인장결합강도를 측정하였다. Universal testing machine(EZ-test; Shimadzu, Japan)의 tensile jig에 각 시편을 cyanoacrylate 접착제인 Zapit (Ultradent Products Inc, South Jordan, UT, USA)을 이용하여 부착하였다. Cross head speed 1mm/min의 속도로 인장력을 가하여 시편이 파단될 때까지의 최대응력을 단위면적으로 환산하여 미세인장결합강도를 산출하였다.

5. 파절 양상 관찰

미세인장결합강도 측정 후 파절된 시편을 입체 현미경으로 관찰하여 파절 양상을 다음과 같이 분류하였다.

Adhesive failure: 상아질과 접착제 사이의 계면에서 파절이 발생한 경우

Cohesive failure: 접착제 내에서 응집성 파절이 발생한 경우

Mixed failure: 상아질과 접착제가 혼재된 채 파절이 발생한 경우

6. 접착 계면 및 파절면 관찰

미세인장결합강도를 측정후 파절된 시편 중 무작위로 선택하여 주사전자현미경(scanning electron microscopy, SEM)으로 관찰하였다. 10% 인산을 5초간 처리한 후 5% NaOCl에 3분간 처리하여 오염된 부분을 제거하였다. 각 시편은 70%, 80%, 90%, 100% ethyl alcohol에

24시간씩 담구어 탈수시켰다. 탈수시킨 시편을 gold-palladium으로 표면처리 후 주사전자현미경(HITACHI S-4200, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

7. 통계 분석

조사된 자료를 SPSS(version 18.0.0, SPSS, Chicago IL)를 이용하여 분석 및 통계처리 하였으며 유의 수준은 0.05로 설정하였다. 각 군간 미세인장결합강도 비교는 one-way ANOVA test를 이용하였으며 Tukey HSD post hoc test로 사후 검정을 시행하였다.

III. 결과

측정된 미세인장결합강도는 다음과 같았다(Table 2, Fig 1). Group 4(Bur)가 가장 높은 미세인장결합강도를 보였고($p < 0.05$), Group 2(Positive control)가 가장 낮은 미세인장결합강도를 보였다($p < 0.05$). Group 3(Brush)과 Group 1(Negative control)은 미세인장결합강도에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 각 군에서 가장 많은 파절 양상은 adhesive failure 이었으며, 가장 적은 파절 양상은 cohesive failure이었다(Table 3).

파절면 관찰 양상은 다음과 같았다(Fig 2). Group 1과 Group 4는 대부분의 상아세관이 막혀 있고, 파절된 resin tag가 관찰되었다. Group 2는 대부분의 열려 있는 상아세관이 관찰되었고, Group 3는 열려 있는 상아세관과 resin tag에 의해 막혀 있는 상아세관이 혼재되어 존재하였다.

Table 2. The mean and standard deviations of the microtensile bond strength(Mpa).

Group	Mean \pm SD
Negative Control (NC)	13.74 \pm 3.90 ^a
Positive Control (PC)	6.75 \pm 4.81 ^b
Brush	14.64 \pm 4.83 ^a
Bur	18.53 \pm 4.99 ^c

Superscript notation with dissimilar across rows indicates statistically significant difference ($P < 0.05$).

Table 3. Failure mode distribution(n).

Group	Adhesive	Cohesive	Mixed
Negative Control (NC)	11	0	9
Positive Control (PC)	17	0	3
Brush	12	1	7
Bur	10	2	8

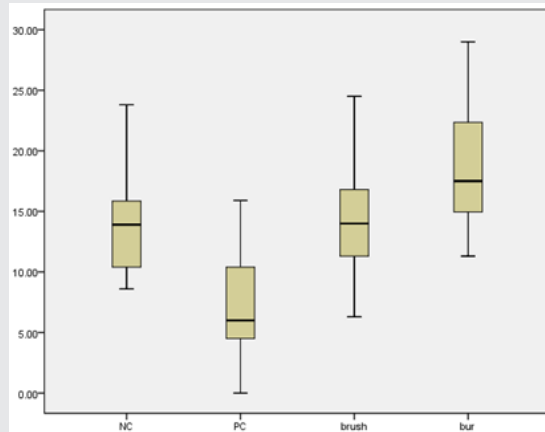


Fig. 1. Mean and standard deviation of the microtensile bond strength(MPa).

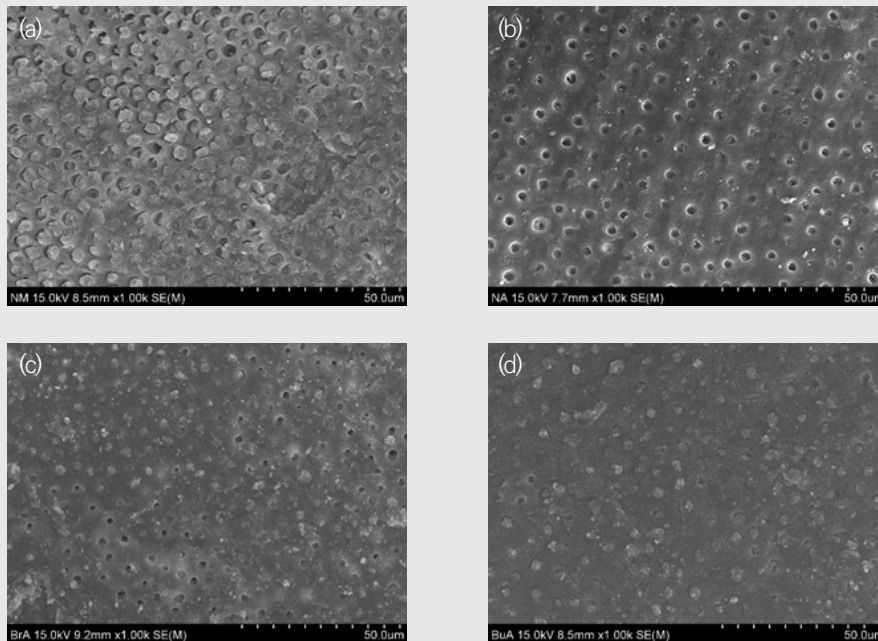


Fig. 2. Representative scanning electron microscopy images of debonded specimen after microtensile bond strength tests. (a) Negative Control, Most dentinal tubule are blocked and fractures of the resin tags are observed; (b) Positive Control, Most open dentinal tubules are observed; (c) Brush, It shows a mixture of open dentinal tubule and closed dentinal tubule; (d) Bur, Most dentinal tubules are blocked with resin tags

IV. 연구 고찰

치의학이 발달하고 심미수복이 발달함에 따라 접착 시스템과 접착재료의 많은 진보가 있었으며 이를 평가하기 위한 접착강도실험의 중요성이 증가하였다. 그러나, 상아질 내의 불균일 응력으로 인해 접착계면이 아닌 기질 내의 cohesive failure가 발생하여 접착시스템만을 평가하기 힘든 경우가 많았다⁵⁾. 미세인장결합강도 시험이 Sano등에 의해 도입되면서 작은 접착면적을 가지는 시편의 결합력을 측정할 수 있게 되었다⁶⁾. 이에 본 연구에서는 비우식성 치경부 병소에 있어서 생체막 제거 방법에 따른 결합강도를 미세인장결합강도를 측정하여 평가하였다. 이번 연구에서 Group 1(NC)은 13.74 ± 3.90 Mpa, Group 2(PC)는 6.75 ± 4.81 Mpa, Group 3(Brush)은 14.64 ± 4.83 Mpa, Group 4(Bur)는 18.53 ± 4.99 Mpa의 결합강도를 나타내었다. 이 중 Bur를 이용한 Group 4의 경우 3 step etch and rinse 시스템 접착제를 사용한 다른 연구와도 비슷한 수치를 보이고 있다⁷⁾. 2004년 Kim 등의 연구 결과와 비교해 볼 때 레진의 결합강도는 비슷하지만 파절 양상은 다른 형태를 나타낸다. 본 연구에서는 adhesive failure가 우세적으로 mixed failure와 함께 나타났으나, Kim 등의 연구에서는 mixed failure가 주로 나타났다. 이러한 차이는 사용한 복합 레진의 성상 차이로 생각된다. 두 연구에서 사용한 접착제는 filled adhesive인 3 step etch and rinse system으로 동일 하였으나 본 연구에서는 Z250이라는 packable resin을 사용한 반면에 Kim은 유동성 복합 레진을 사용하여 파절 양상의 차이가 발생하였을 것으로 추정된다. 이는 유동성 복합레진을 이장했을 때 결합강도는 개선되지 않으나 파절 양상에는 영향을 준다는 Reis 등의 연구와도 일치한다 볼 수 있다⁸⁾.

SEM 연구를 통한 파괴 양상 분석 결과 대부분에서 혼성층 중간 부위에서의 adhesive failure 및 일부 혼성

층에서의 접착성 파괴를 보이는 mixed failure가 나타났는데, resin tag에 의해 상아 세관이 폐쇄 있고 접착제가 관간 상아질에 침투되어 있는 것을 알 수 있다. 다른 연구 결과에서도 파괴 양상 분석 결과, 혼성층에서의 adhesive failure를 보이며, CHX를 적용하면 혼성층 기저부에서 상부로 파괴 부위가 옮겨가는 양상을 나타낸다고 하였다⁹⁾. 이로 미루어 볼 때 생체막 제거 후 접착 과정을 시행하면 정상적인 결합이 이루어진다는 것을 알 수 있다.

본 연구에서 Group 1(NC)과 Group 3(Brush)의 미세인장결합강도는 비슷한 수치를 나타내고 유의한 차이가 존재하지 않았으나, Group 4(Bur)를 이용하는 경우 미세인장결합강도가 증가한 값을 나타내었다. Group 2(PC)에서는 유의하게 결합강도가 감소하였으므로, 생체막 제거가 접착과정에 있어서 중요한 부분임을 알 수 있으며, 인산 산부식으로는 생체막 제거가 되지 않음을 알 수 있다. 이는 타액 오염은 재산부식으로 결합강도가 돌아오는 연구 결과와 상이하다고 볼 수 있다¹⁰⁾. Group 1과 Group 3이 비슷한 결과가 나왔으므로, Brush를 이용하여 생체막을 제거하는 경우에 생체막의 온전한 제거가 이루어짐을 알 수 있다. 다만, Bur를 이용한 경우 미세인장결합강도가 증가한 이유는 생체막 제거시 상아질 표면이 삭제되고 거친면이 형성되어서 접착력이 증가한 것으로 생각된다.

본 연구에서 비우식성 치경부 병소에서 생체막을 제거하는 과정이 수복전에 필요함을 알 수 있다. 그러나 이번 연구는 시편 수가 제한되어 있어 더 많은 시편을 통한 평가가 필요할 것으로 생각되며, sandpaper를 활용하여 비우식성 치경부 병소에 더 가까운 환경을 조성하여 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결론

비우식성 치경부 병소를 수복하는 경우 상아질 표면에 존재하는 생체막을 제거하는 것은 필수적이다. 또한, 생체

막을 제거하는 방법에 있어서는 brush로 제거하는 방법과 bur로 제거하는 방법 모두 효과적이었다. Bur가 닿을 수 없는 좁고 깊은 썩기형 병소에서는 brush로 생체막을 제거하는 것이 추천된다.

참 고 문 헌

1. Pecie R, Krejci I, Garcia-Godoy F, Bortolotto T. Noncarious cervical lesions—A clinical concept based on the literature review. Part 1: Prevention. *American journal of dentistry* 2011;24:49.
2. Grippo JO, Simring M, Schreiner S. Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited: a new perspective on tooth surface lesions. *The Journal of the American Dental Association* 2004;135:1109-1118.
3. Grippo JO. Noncarious cervical lesions: the decision to ignore or restore. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 1992;4:55-64.
4. 김광훈, 우성관, 손권, 박정길. 5급 병소가 있는 치아 유한요소 모델의 수복 방법 최적화. *대한기계학회 논문집 A 권* 2008;32:678-684.
5. Pashley DH, Sano H, Ciocchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dental Materials* 1995;11:117-125.
6. Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciocchi B, Carvalho R, et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength—evaluation of a micro-tensile bond test. *Dental Materials* 1994;10:236-240.
7. Kim H-J, Hur B, Kim H-C. The effect of adhesive property on micro-tensile bond strength to human dentin. *Journal of Korean Academy of Conservative Dentistry* 2004;29:281-287.
8. Reis AF, Giannini M, Ambrosano GMB, Chan DC. The effects of filling techniques and a low-viscosity composite liner on bond strength to class II cavities. *Journal of dentistry* 2003;31:59-66.
9. 오은화, 최경규, 김종률, 박상진. Chlorhexidine 처리가 상아질 접착제의 미세인장결합강도에 미치는 영향. *대한치과보존학회지* 2008;33:148-161.
10. Park J, Lee K. The influence of salivary contamination on shear bond strength of dentin adhesive systems. *OPERATIVE DENTISTRY-UNIVERSITY OF WASHINGTON-*. 2004;29:437-442.