

근관세척제로써 서양산 고추냉이(Horseradish, *Armoracia rusticana*) 뿌리 추출물의 항균효과

윤효진 · 박호원 · 이주현 · 서현우

강릉원주대학교 치과대학 소아치과학교실

국문초록

치수 및 치근단의 감염은 미생물에 의해 야기되며, 성공적인 근관치료는 근관 내의 미생물의 수를 감소시키는 것에 의해 좌우된다. 서양산 고추냉이(Horseradish, *Armoracia rusticana*)의 주성분인 Allyl isothiocyanate (AIT)는 여러 연구에서 항균효과가 있음이 보고되었다.

이에 본 연구에서는 근관세척제로써 서양산 고추냉이 추출물의 항균효과를 알아보려 발거된 사람의 치아에 *Enterococcus faecalis*를 접종하여, 대표적인 근관세척제인 차아염소산나트륨(NaOCl)과 항균력을 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 치근관 내를 21일간 *E. faecalis*에 감염시키고, 근관세척제로써 각 실험군을 1분간 적용한 후 1차 표본(S1)을 채취하여 배양한 결과, 서양산 고추냉이 뿌리 추출물은 5.815×10^3 CFU/ml, NaOCl은 3.465×10^3 CFU/ml이었다 ($p=0.086$).
2. 1차 표본을 채취한 후 실험 치아를 7일 동안 더 배양하여 2차 표본(S2)을 채취한 결과 서양산 고추냉이 뿌리 추출물은 3.100×10^3 CFU/ml, NaOCl은 5.252×10^5 CFU/ml로, 서양산 고추냉이 뿌리 추출물을 적용한 실험 치아에서 더 적은 수의 세균수가 측정되었다($p<.05$).
3. NaOCl로 근관세척을 시행한 치아의 1차 표본(S1)과 2차 표본(S2)을 채취하여 배양한 결과 2차 표본에서 CFU 값이 더 증가하였다($p<.05$). 반면에 고추냉이 추출물로 근관세척을 시행한 치아의 1차 표본(S1)과 2차 표본(S2)을 채취하여 배양한 결과 유의한 차이가 없는 것($p=0.076$)으로 보아 근관세척 후 7일 후에도 항균효과가 지속됨을 알 수 있었다.

주요어: 서양산 고추냉이 뿌리 추출물, Allyl isothiocyanate (AIT), 근관세척제, *Enterococcus faecalis*

I. 서 론

치수 및 치근단의 감염은 미생물에 의해 야기되며^{1,2)}, 근관치료 시 감염된 근관 내의 미생물과 그 부산물을 효과적으로 제거하지 못한다면 증상이 지속되고 치유에 방해가 될 수 있다^{3,4)}. 따라서 성공적인 근관치료는 근관 내의 미생물의 수를 감소시키는 것에 의해 좌우되며³⁾, 복잡한 근관계에서 기구가 도달할 수 없는 부근관이나 상아세관 내로 침투한 미생물은 치수 및 치근단 질환을 재발시킬 수 있다^{3,4)}. 이러한 미생물의 제거를 위해 파일을 이용한 기계적 기구조작은 물론 항균 효과가 있는 근관세척제의 사용이 필요하다⁵⁾.

미생물의 수를 감소시키기 위하여 사용되고 있는 근관세척제

로는 차아염소산나트륨(Sodium hypochlorite, NaOCl), 클로로헥시딘(Chlorhexidine digluconate), 요오드요오드화칼륨(IKI), 수산화칼슘(Calcium hydroxide) 등이 있다⁶⁾.

NaOCl은 가장 널리 사용되고 있는 근관세척제로써, 여러 연구에 의해서 감염된 근관에서 발견되는 세균에 대한 항균작용 및 조직의 용해능력이 보고되었다⁷⁻⁹⁾. 현재 0.5-6% 농도의 NaOCl이 근관세척제로 사용되고 있으며, 농도가 높을수록 항균작용은 우월하지만 생체조직에 대한 위해성이 보고되고 있어 NaOCl의 단점을 보완할 수 있는 근관세척제의 개발이 필요하다¹⁰⁻¹²⁾.

클로르헥시딘은 넓은 항균 범위를 가지는 항균제이며¹³⁾, 많은 연구에서 근관세척제로써 효과적인 항균작용을 나타낸다고 보

교신저자 : 박 호 원

강원도 강릉시 강릉대학로 120 / 강릉원주대학교 치과대학 소아치과학교실 / 033-640-3158 / pedo@kangnung.ac.kr

원고접수일: 2010년 12월 16일 / 원고최종수정일: 2011년 03월 07일 / 원고채택일: 2011년 03월 21일

* 본 연구는 2008년도 강릉원주대학교 치과병원 학술연구비지원에 의하여 수행되었음.

고하였다¹⁴⁻¹⁶). 그러나 장기간 사용 시 미각 이상이나 작열감이 나타날 수 있으며, NaOCl에 비해 임상적인 장점이 밝혀지지 않았다¹⁷).

IKI는 근관 내에서 발견된 세균에 대해 광범위한 항균작용을 보이며¹⁷, 조직 배양실험에서 상대적으로 낮은 독성을 나타내지만, 환자에게 알리지 반응을 일으킬 수 있기 때문에 사용이 제한되고 있다¹⁵). 수산화칼슘은 장기간 근관 내에 적용했을 때 세균을 박멸하는 효과가 뛰어나 근관 내 침약제로 사용되고 있지만, 단기간 적용 시에는 효과가 없어 근관세척제로써 사용에는 무리가 있다^{17,18}).

최근에는 건강에 대한 관심이 증가됨에 따라 천연물의 항균 작용에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다¹⁹⁻²⁵). 서양산 고추냉이(Horseradish, *Armoracia rusticana*)는 특유의 강렬한 향미가 있는데, 이는 Glucosinolate 화합물의 일종인 Sinigrin이 Myrosinase에 의해 가수분해되어 Allyl isothiocyanates (AIT)가 생성되면서 나타나고²⁶), AIT는 여러 연구에 의해 구강 내 세균을 비롯한 다양한 미생물에 대하여 항균효과를 나타낸다고 보고되었다²⁷⁻³²).

이 등³⁰)은 감염된 근관에서 흔히 분리되는 절대 혐기성 표준 균주에 대한 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 항균활성을, 그리고 장 등³¹)은 사람의 감염된 치근관 내에서 직접 분리한 세균에 대하여 항균작용이 있음을 보고하였다.

이에 본 연구에서는 발견된 사람의 치아에 접종된 *E. faecalis*에 대하여 근관세척제로써 서양산 고추냉이 추출물의 항균효과를 알아보고, 대표적인 근관세척제인 NaOCl과 비교하여 임상적 사용 가능성에 대해 평가해 보고자 하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

1) 실험치아

교정적인 목적으로 발견된 사람의 치아 중에서 우식이 없고 치근이 하나이며 치근단이 완성된 건전한 하악 소구치 50개를 대상으로 하였다. 이 치아들은 방사선 사진을 통해 치근관이 하나인 것을 확인하였으며, 실험 전까지 생리 식염수에 보관하였다.

2) 사용균주 및 배지

실험에 사용된 균주는 통성 혐기성 세균인 *E. faecalis* KCTC 5289로 한국생명공학연구원 유전자은행(KCTC, Daejeon, Korea)으로부터 분양받아 사용하였다. 배지는 Brain Heart Infusion broth (BHI, Difco, BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA)와 Brain Heart Infusion agar (BHI agar, Difco, BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA)를 사용하였다.

순수한 균주를 얻기 위해 분양 받은 균을 멸균된 BHI broth 10 ml가 들어 있는 Falcon™ tube (BD Biosciences, USA)에 넣고, 37°C 호기성 조건 하에서 24시간 배양하였다. 배양된 용

액을 한 백금이 취하여 BHI agar에 streak한 후, 다시 37°C 호기성 조건 하에서 24시간 배양하였다. 평판 배지에서 배양된 세균 중 독립 colony를 취하여 멸균된 BHI broth 10 ml가 들어 있는 Falcon™ tube에 넣고, 37°C 호기성 조건 하에서 24시간 배양하여 실험에 사용하였다.

3) 시료

서양산 고추냉이 뿌리 분말은 서양 와사비(Horseradish, *Armoracia rusticana*) 분말(Biocoats Co. Ltd., Seoul, Korea)을 사용하였으며, 항균 효과의 비교를 위해서 2.5% NaOCl(차아염소산나트륨, Duksan, Korea)과 생리식염수(대한 멸균 생리식염수, 대한약품공업주식회사, 안산시, 한국)를 사용하였다. 서양산 고추냉이 뿌리 추출물 중의 AIT 농도 측정에는 AIT 표준용액(Fluka Co., Haan, Germany)과 Hexane (Showa Co.,Tokyo, Japan)을 이용하였다.

4) 서양산 고추냉이 뿌리의 추출

서양산 고추냉이 뿌리를 추출하기 위해 고추냉이 분말 200 g 과 증류수 550 ml를 혼합한 후, AIT 생산을 최대로 하기 위하여 rotary evaporator (NE-1, Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)에서 40°C로 120분간 유지시켰다. 그 후 120°C의 oil bath (C-WHT, Changshin scientific co., Seoul, Korea)에서 120분간 증류시키고, 추출액 150 ml를 분획한 후, 원심 분리하여 획득한 oil의 AIT 농도를 측정하였다.

5) 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 AIT 함량 분석

추출한 액의 AIT 농도 측정을 위해 추출물 1 ml를 헥산(Hexane) 1 ml와 혼합한 후, 60°C 항온 수조(RW-3025G shaking water bath, Jeio Tech Co., Ltd, Kimpo, Korea)에서 1시간 동안 가열하였다. 이를 다시 실온으로 냉각하고, 헥산층 1 μl를 가스 크로마토그래프로 분석하였다. FID (flame ionization detector)가 부착된 GC (HP 6890 series, Hewlett Packard Development Co., California, USA)로 AIT 농도를 측정하였으며, column은 HP-Innowax capillary column (30 m×0.32 mm, 0.5 μm film thickness, Agilent Technologies, Inc., Palo Alto, CA, USA)을 사용하였다. Injection port와 FID의 온도는 각각 250°C, 260°C였으며, carrier gas는 질소(Nitrogen)를 사용하였다.

AIT 표준용액의 농도별 가스 크로마토그래프 결과를 수식화하여 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 AIT 함량을 측정하였으며, 그 결과 추출물은 약 600,670.97±1,370.26 ppm의 AIT를 함유하고 있었다(Fig. 1).

2. 연구 방법

1) 치아형성 및 표본 제작

치근의 표면을 치주큐렛으로 깨끗이 하고, 치관부는 다이아몬드 디스크(Diamant, Horico, Berlin, Germany)로 제거하

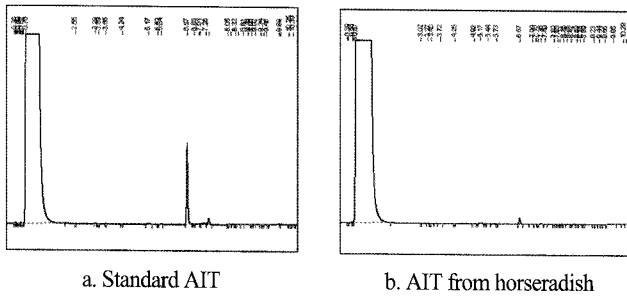


Fig. 1. Gas Chromatogram of standard AIT and AIT extracted from Horseradish (*Armoracia rusticana*) root.

여 총 치근의 길이를 20 mm로 일반화 하였다. #330 bur (Kormet, Brasseller, Germany)와 Endo Z-bur (Dentsply, Maillefer, Switzerland)를 고속 핸드피스에 장착하여 와동형성을 시행하였다. Barbed broach (MANI, Tochigi, Japan)로 치수를 제거하고, Gate Glidden bur (MANI, Tochigi, Japan)와 .04 Taper ProFile Ni-Ti rotary file (Dentsply, Maillefer, Switzerland)을 이용하여 ISO #40까지 근관형성을 시행하였으며, 각 단계마다 생리 식염수로 세척하였고, #10 K-file (MANI, Tochigi, Japan)을 이용하여 치근단 개방을 확인하였다. 도말층과 유기질 잔사를 제거하기 위해 치아를 17% EDTA 용액에 잠기게 하여 초음파 수조에 10분간 담근 후, 마찬가지로 5.25% NaOCl 용액에 잠기게 하여 초음파 수조에 10분간 담그고, 흐르는 물에 1시간 동안 세척하였다.

모든 실험 치아의 근단공을 RMGI 시멘트(GC Fuji Plus, GC corporation, Tokyo, Japan)로 밀폐하고, 5 ml 표본시약 병에 실리콘 인상재(Exahiflex tray type, GC corporation, Tokyo, Japan)를 주입하여 각 치아를 개별적으로 식립 하였다. 치근관 내에 20 µl의 BHI 용액을 채우고 121°C 30분간 가압증기 멸균을 시행하였다.

2) 세균 준비

순수배양 된 *E. faecalis*를 spectrometry (V530 UV/VIS spectrophotometer, Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 640 nm에서 흡광도 0.9가 되도록 일정하게 현탁하여 균주수를 3×10^7 CFU/ml으로 맞추었다.

3) 세균 접종

멸균된 치아의 근관 내의 BHI 용액을 멸균된 피펫을 이용하여 제거하고, *E. faecalis* 배양액 20 µl를 접종하였다. 각 치아 표본은 밀폐된 상태로 37°C 호기성 조건 하에서 21일간 배양되었고, 48시간 마다 BHI 용액을 멸균된 피펫을 이용하여 교환하였다.

4) 실험군의 분류 및 근관 세척

*E. faecalis*에 감염된 치아들을 무작위로 세 군으로 분류한

후, 다음과 같이 근관세척제를 배정하였다.

제1군(20치): 1.0% 서양산 고추냉이 뿌리 추출물

제2군(20치): 2.5% NaOCl 용액

제3군(10치): 생리식염수

근관 내의 세균 배양액을 멸균된 #40 paper point로 제거하고, 각 실험군에 해당하는 용액 20 µl를 멸균된 피펫을 이용하여 주입하고, 1분 후 paper point로 제거하였다.

5) 근관 내의 1차 표본(S1) 채취

각 치아의 근관 내에 20 µl의 멸균된 BHI 용액을 채우고, 다시 흡입하여 제거하는 과정을 2번 반복하였다. 다시 멸균된 BHI 용액을 채운 후, 멸균된 paper point를 이용하여 근관내의 용액을 흡수시키고, 이를 1 ml의 멸균된 생리식염수가 들어있는 micro tube에 넣고 1분간 vortexing 하였다. Vortexing 한 용액 500 µl를 멸균된 피펫으로 BHI agar에 접종하여 37°C 호기성 조건 하에서 24시간 배양한 후 집락형성수(Colony Forming Unit, CFU) 값을 얻었다.

6) 근관 내의 2차 표본(S2) 채취

실험용액에 처리되고 1차 세균 표본을 채취한 치아의 근관 내부에 BHI 용액 20 µl를 다시 접종하였다. 각 치아 표본은 밀폐된 상태로 37°C 호기성 조건 하에서 7일간 배양되었고, 48시간 마다 BHI 용액을 멸균된 피펫을 이용하여 교환하였다. 멸균된 paper point를 이용하여 근관 내의 용액을 흡수시키고, 이를 1 ml의 멸균된 생리식염수가 들어있는 micro tube에 넣고 1분간 vortexing 하였다. Vortexing한 용액 500 µl를 멸균된 피펫으로 채취하여 4.5 ml의 멸균된 생리식염수가 들어있는 Falcon tube에 넣고 1분간 vortexing하여 용액을 희석시키고, 희석된 용액 500 µl를 BHI agar에 접종하여 37°C 호기성 조건 하에서 24시간 배양한 후 CFU 값을 얻었다.

3. 통계분석

SPSS™ Ver 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA)을 사용하여 1차 표본 및 2차 표본의 각 실험군에 따른 CFU값을 95% 유의 수준에서 t-test를 시행하였다. Independent t-test로 실험군 간의 항균효과를 비교하였고, 측정시기에 따른 항균효과를 비교를 위하여 paired t-test로 분석하였다.

Ⅲ. 연구 결과

1. 1차 표본(S1) 배양 결과

1차 표본(S1)을 채취하여 배양한 결과 고추냉이 추출물로 근관세척을 시행한 치아의 CFU값의 평균은 5.815×10^3 CFU/ml이며, NaOCl로 근관세척을 시행한 치아의 CFU값의 평균은 3.465×10^3 CFU/ml로 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p=0.086$)(Table 1).

Table 1. Mean CFU values and standard deviation of primary (S1) and secondary (S2) sampling

	Irrigant	N	Colony forming units (CFU)	
			Mean (CFU/ml)	Standard deviation (CFU/ml)
S1	Horseradish root extracts	20	5.815×10^3	5.502×10^3
	NaOCl	20	3.465×10^3	2.321×10^3
	Saline	10	>1000**	
S2	Horseradish root extracts	20	3.100×10^3	2.863×10^3
	NaOCl	20	5.252×10^5	1.604×10^5
	Saline	10	>1000**	

*There was too many numbers of bacterial growth to counting colony forming units

2. 2차 표본(S2) 배양 결과

2차 표본(S2)을 채취하여 배양한 결과 고추냉이 추출물로 근관세척을 시행한 치아의 CFU값의 평균은 3.100×10^3 CFU/ml이며, NaOCl로 근관세척을 시행한 치아의 CFU값의 평균은 5.252×10^5 CFU/ml로 이는 통계적으로 유의한 차이 ($p < .05$)가 있었다(Table 1).

3. 1, 2차 표본 배양 결과의 비교

고추냉이 추출물로 근관세척을 시행한 치아의 1차 표본(S1)을 채취하여 배양한 결과 CFU값의 평균은 5.815×10^3 CFU/ml이며, 2차 표본(S2)을 채취하여 배양한 결과 CFU값의 평균은 3.100×10^3 CFU/ml로 이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다($p = 0.076$). NaOCl로 근관세척을 시행한 치아의 1차 표본(S1)을 채취하여 배양한 결과 CFU값의 평균은 3.465×10^3 CFU/ml이며, 2차 표본(S2)을 채취하여 배양한 결과 CFU값의 평균은 5.252×10^5 CFU/ml로 이는 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < .05$)(Table 1).

IV. 총괄 및 고찰

Allyl isothiocyanate (AIT)는 고추냉이에서 추출된 정유(essential oil)의 성분 중 약 80%를 차지하며³⁹, 휘발성이 있고 액체상태 뿐만이 아니라 휘발된 기체에서도 항균효과를 나타낸다. AIT가 항균작용을 나타내는 기전은 명확히 밝혀진 바는 없으나, AIT가 단백질 구조를 변화시키고 세균의 대사기능에 영향을 준다는 주장이 있다^{34,35}.

대조군으로 사용된 NaOCl은 가장 널리 사용되는 대표적인 근관세척제이지만, 이는 특히 고농도에서 치근단 조직에 대한 자극이 심하여 근관치료 시 NaOCl이 치근단 공을 통해 치주조직으로 빠져 나간 경우 조직괴사, 동통, 궤양, 감각이상 그리고 근육 손상 등 여러 가지 부작용을 초래하며^{10,12}, 심지어는 생명을 위협하는 기도 폐쇄까지 보고된 바 있다¹¹. 따라서 최근에는 NaOCl의 부작용을 보완하기 위한 새로운 근관세척제에 대한 연구가 활발히 진행 중이다.

그중에서도 천연물의 항균성을 이용한 근관세척제들이 보고

되고 있다. Murray 등¹⁹은 근관세척제로써 노니(*Morinda citrifolia*)주스의 *E. faecalis*에 대한 항균성과 상아질 도말층 제거효과를 입증하였고, Lahijani 등²⁰은 카모마일(*Marticaria recutita*) 추출물을 근관세척제로 사용했을 때 도말층 제거효과가 있다고 보고 하였으며, Prabhakar 등²³은 허브추출물(triphala, green tea polyphenol)이 *E. faecalis*에 대해 유의성 있는 항균활성이 있다고 보고하였다. Pereira 등²¹은 근관 내 감염 시 흔히 발견되는 미생물인 *E. faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* 그리고 *Candida albicans*에 대한 우영의 항균활성을 보고하였고, Gentil 등²²은 우영(*Arctium lappa*)을 세균을 집중한 사람의 치근관에 근관 내 첨약제로 사용 하였을 때 그 효과가 수산화칼슘보다 우수하다고 보고하였다. 본 연구에서 사용된 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 항균활성도 많은 연구에서 보고되었다. 유 등²⁷은 서양산 고추냉이 뿌리 추출물이 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus casei*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *C. albicans*에 대하여 항균작용이 있음을 보고하였고, 김 등²⁸은 치태에서 분리된 *S. mutans*에 대한 항균작용을 증명하였다. 또한 이 등³⁰은 감염된 근관에서 흔히 분리되는 절대 혐기성 표준균주인 *P. nigrescens*, *F. nucleatum*, *C. perfringens*에 대한 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 항균활성을 증명한 바 있으며, 장 등³¹은 사람의 감염된 치근관 내에서 직접 분리한 *E. faecalis*와 *F. nucleatum*에 대하여 항균작용을 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서는 평판 배지 상에서 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 항균작용을 증명한 앞선 여러 연구들을 바탕으로 *E. faecalis*에 감염된 사람의 치근관 내에서도 서양산 고추냉이 뿌리 추출물이 근관세척제로써의 항균활성을 나타낼 수 있는지 알아보려고 하였다.

본 연구에서는 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 근관세척제로써 항균활성을 알아보려고 하므로 도말층과 유기질 잔사를 효과적으로 제거하기 위해 Perez 등³⁶이 추천한 실험치아를 17% EDTA 용액과 5.25% NaOCl 용액에 잠기게 하여 초음파 수조에 각각 10분간 처리하는 방법을 사용하였고, SEM(Scanning electron microscope)을 통해 도말층과 유기질 잔사가 효과적으로 제거되어 개방된 상아세관을 확인할 수 있었다.

본 실험에 사용된 균종인 *E. faecalis*는 그람 양성 구균으로 산소의 유무와 관계없이 생장할 수 있는 통성 혐기성 세균이며,

감염된 근관에서 발견되는 주요 세균 중 하나이다³⁷⁾. 이는 생존력이 강하므로 근관치료 후에도 근관 내와 상아세관 내에 잔존할 수 있으며, 치근단 병소와 같은 근관주위 질환을 재발하게 하는 원인균이다³⁷⁻⁴⁰⁾. 본 연구에서는 근관세척제를 적용한 직후인 1차 표본(S1) 뿐만 아니라 근관세척제 적용 7일 후인 2차 표본(S2)에서의 항균작용을 알아보고자 하였으므로, 근관치료 후에도 근관 내와 상아세관 내에 잔존하여 근관병소를 재발하게 하는 원인균인 *E. faecalis*를 실험에 사용하였다.

Haapasalo 등⁴¹⁾은 도말층과 유기질이 제거되어 상아세관이 개방된 사람의 치근관 내 상아질에 *E. faecalis*를 감염시키고, 상아세관 내로의 세균의 침투깊이를 시간에 따라 측정하였다. 그 결과 세균을 접종한 지 21일 후에 300-400 μm 깊이에는 밀도가 높은 세균의 침투도를 보였으며 400-500 μm 깊이에는 중등도의 세균감염이 관찰되었고, 800-1000 μm 까지 세균이 침투한 것을 알 수 있었다. 따라서 본 연구에서도 치아 표본을 *E. faecalis*에 21일 동안 감염 시켜 상아세관 내로의 세균의 침투를 유도하였다.

근관세척제에 따른 항균효과의 지속성을 평가하기 위하여 2차 표본(S2)을 채취하여 배양한 결과 고추냉이 추출물로 근관세척을 시행한 치아는 3.100×10^3 CFU/ml이며, NaOCl로 근관세척을 시행한 치아는 5.252×10^5 CFU/ml로 통계적으로 유의한 차이($p < .05$)가 있었으며, 고추냉이 추출물로 근관세척을 시행한 경우에서 항균작용이 더 지속되었다. 이는 AIT 성분이 근관 내에 잔존하거나, AIT의 휘발성으로 인해 상아세관 내까지 그 항균효과가 영향을 미치지 때문이 아닐까 추측된다.

측정시기에 따른 항균효과를 평가하기 위하여 고추냉이 추출물로 근관세척을 시행한 직후 치아의 1차 표본(S1)을 채취하여 배양한 결과 CFU값 평균은 5.815×10^3 CFU/ml이며, 근관세척 7일 후 2차 표본(S2)을 채취하여 배양한 결과 CFU값 평균은 3.100×10^3 CFU/ml로 이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다($p = 0.076$). 하지만, NaOCl로 근관세척을 시행한 치아의 1차 표본(S1)을 채취하여 배양한 결과 CFU값 평균은 3.465×10^3 CFU/ml이며, 2차 표본(S2)을 채취하여 배양한 결과 CFU값 평균은 5.252×10^5 CFU/ml로 이는 통계적으로 유의한 차이($p < .05$)가 있었으며, 이는 NaOCl로 근관세척을 시행한 후 잔존한 세균들이 7일 동안 성장하여 이와 같은 결과를 얻은 것으로 생각된다.

고추냉이에서 항균효과를 나타내는 AIT는 휘발성이 있으며, 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 항균활성을 알아보기 위한 앞선 연구에서는 disk paper method를 이용하였는데, AIT의 휘발성으로 인해 투명환의 경계가 불분명 하였다²⁷⁻³¹⁾. 이러한 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 휘발성은 디스크에서 떨어진 부위의 세균까지 그 영향을 받아서 세균의 성장양상도 성긴 형태였다²⁷⁻³¹⁾. 따라서 서양산 고추냉이 뿌리 추출물을 근관 내에 적용했을 때, 휘발성으로 인해 상아세관 내의 세균까지 영향을 미칠 수 있는 가능성이 있다고 생각한다.

이번 연구는 다음과 같은 몇 가지 한계점을 가지고 있다. 첫째, 본 연구에서는 감염된 치근관에서 발견되는 주요 세균 중

하나인 *E. faecalis*만을 실험에 사용하였다. 하지만 근관 내 감염은 혼합감염이므로^{1,2,42)}, 감염된 치근관에서 발견되는 여러 균종을 혼합한 경우에 대한 항균효과의 평가가 필요하다.

둘째, 본 연구에서는 근관 내 세균의 감소에 영향을 미치는 다른 요인은 배제하고 근관세척제의 항균효과만을 평가하기 위해 근관형성을 완료한 후 도말층까지 제거한 치근관 내에 세균을 접종하여 서양산 고추냉이 뿌리 추출물과 NaOCl을 1분간 적용하여 항균효과를 평가하였다. 하지만 이상적인 근관세척액은 효과적인 살균작용 뿐만이 아니라 잔사를 제거하고 괴사된 유기질을 용해할 수 있지만 건전한 조직에는 위해가 없어야 한다. 게다가 상아질 도말층을 제거하여 상아세관을 개방시키며, 비독성이며 알려지지 않아야 하기 때문에, 이에 대한 추가적인 연구가 진행되어야 한다.

마지막으로 이번 연구는 발거된 사람의 치아에서 진행된 *in vitro* 실험으로, 서양산 고추냉이 뿌리 추출물을 이용한 근관세척제의 개발을 위해서는 추후 *in vivo*에서의 항균효과를 증명할 수 있는 연구가 필요하다.

이러한 한계점에도 불구하고 이번 연구는 서양산 고추냉이 뿌리 추출물을 근관세척제로 사용했을 때 *E. faecalis*에 대한 항균효과를 NaOCl과 비교하여 평가 하였으며, 특히 근관세척 후에도 근관 내에 잔존하는 *E. faecalis*에 대한 항균효과를 확인한 것에 대해 의의가 있다. 본 연구는 천연 항생물질 중 하나인 서양산 고추냉이 뿌리 추출물을 이용한 근관세척제 개발의 근거자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결 론

본 연구에서는 발거된 사람의 치아에 접종된 *E. faecalis*에 대하여 근관세척제로써 서양산 고추냉이 추출물의 항균효과를 알아보고, 대표적인 근관세척제인 NaOCl과 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 치근관 내를 21일간 *E. faecalis*에 감염시키고, 근관세척제로써 각 실험군을 1분간 적용한 후 1차 표본(S1)을 채취하여 배양한 결과, 서양산 고추냉이 뿌리 추출물은 5.815×10^3 CFU/ml, NaOCl은 3.465×10^3 CFU/ml이다($p = 0.086$).
2. 1차 표본을 채취한 후 실험 치아를 7일 동안 더 배양하여 2차 표본(S2)을 채취한 결과 서양산 고추냉이 뿌리 추출물은 3.100×10^3 CFU/ml, NaOCl은 5.252×10^5 CFU/ml로, 서양산 고추냉이 뿌리 추출물을 적용한 실험 치아에서 더 적은 수의 세균수가 측정되었다($p < .05$).
3. NaOCl로 근관세척을 시행한 치아의 1차 표본(S1)과 2차 표본(S2)을 채취하여 배양한 결과 2차 표본에서 CFU 값이 더 증가하였다($p < .05$). 반면에 고추냉이 추출물로 근관세척을 시행한 치아의 1차 표본(S1)과 2차 표본(S2)을 채취하여 배양한 결과 유의한 차이가 없는 것($p = 0.076$)으로 보아 근관세척 후 7일 후에도 항균효과가 지속됨을 알 수 있었다.

본 연구의 결과는 근관세척제로써 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 항균작용을 증명하였고, 서양산 고추냉이 뿌리 추출물을 이용한 근관세척제 개발의 근거자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Sundqvist G : Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 78:522-530, 1994.
2. Sundqvist G : Ecology of the root canal flora. *J Endod*, 18:427-430, 1992.
3. Menezes MM, Valera MC, Jorge AOC, et al. : In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J*, 37:311-319, 2004.
4. Siqueira JF, Rôças IN : Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod*, 34:1291-1301, 2008.
5. 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.
6. Zehnder M : Root canal irrigants. *J Endod*, 32:389-398, 2006.
7. Soares JA, Pires JDR : Influence of sodium hypochlorite-based irrigants on the susceptibility of intra canal microbiota to biomechanical preparation. *Braz Dent J*, 17:310-316, 2006.
8. Câmara AC, Albuquerque MM, Aquiar CM, et al. : In vitro antimicrobial activity of 0.5%, 1%, and 2.5% sodium hypochlorite in root canals instrumented with the ProTaper Universal system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 108:55-61, 2009.
9. Estrela C, Silva JA, Alencar AHG, et al. : Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*. *J Appl Oral Sci*, 16:364-368, 2008.
10. Pelka M, Petschelt A : Permanent mimic musculature and nerve damage caused by sodium hypochlorite: a case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 106:80-83, 2008.
11. Bowden JR, Ethunandan M, Brennan PA : Life-threatening airway obstruction secondary to hypochlorite extrusion during root canal treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101:402-404, 2006.
12. Serper A, Özbek M, Çalt S : Accidental sodium hypochlorite-induced skin injury during endodontic treatment. *J Endod*, 30:180-181, 2004.
13. Souza-Filho FJ, Soares Ade J, Vianna ME : Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. *Braz Dent J*, 19:28-33, 2008.
14. Ercan E, Özekinci T, Atakul F, et al. : Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: *in vivo* study. *J Endod*, 30:84-87, 2004.
15. Zamany A, Safavi K, Spångberg L : The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 96:578-581, 2003.
16. Gurgel-filho ED, Vivacqua-gomes N, Gomes BPF, et al. : In vitro evaluation of the effectiveness of the chemomechanical preparation against *Enterococcus faecalis* after single- or multiple-visit root canal treatment. *Braz Oral Res*, 21:308-313, 2007.
17. Stephen Cohen, Kenneth M. Hargreaves : Pathways of the Pulp. *신홍인터네셔널*, 서울, 318-323, 2007.
18. Sjögren U, Figdor D, Spangberg L, et al. : The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J*, 24:119-125, 1991.
19. Murray P, Farber R, Namerow K, et al. : Evaluation of *Morinda citrifolia* as an endodontic irrigant. *J Endod*, 34:66-70, 2008.
20. Lahijani MS, Kateb HR, Heady R, et al. : The effect of German chamomile (*Marticaria recutita* L.) extract and tea tree (*Melaleuca alternifolia* L.) oil used as irrigants on removal of smear layer: a scanning electron microscopy study. *Int Endod J*, 39:190-195, 2006.
21. Pereira JV, Bergamo DCB, Pereira JO, et al. : Antimicrobial activity of *Arctium lappa* constituents against microorganisms commonly found in endodontic infections. *Braz Dent J*, 16:192-196, 2005.
22. Gentil M, Pereira JV, Sousa YCS, et al. : *In vitro* evaluation of the antibacterial activity of *Arctium lappa* as a phytotherapeutic agent used in intracanal dressings. *Phytother Res*, 20:184-186, 2006.
23. Prabhakar J, Senthilkumar M, Priya MS, et al. : Evaluation of antimicrobial efficacy of herbal alternatives (Triphala and green tea polyphenols), MTAD, and 5% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilm formed on tooth sub-

- strate: an *in vitro* study. J Endod, 36: 83-86, 2010.
24. Koo H, Gomes B, Rosalen P, et al. : In vitro antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. Archives of Oral Biology, 45:141-148, 2000.
 25. 안은숙, 김지혜, 신동화 : 휘발성 Allyl Isothiocyanate계 화합물의 항균 활성에 관한 연구. 한국식품학회지, 31:206-211, 1999.
 26. 박윤영, 조문수, 박신 등 : 고추냉이 부위별 Sinigrin 함량과 추출액의 항균 활성. Kor. J. Hort. Sci. Technol, 24: 480-487, 2006.
 27. 유난영, 이주현, 서현우, 박호원 : 구강내 미생물에 대한 서양산 고추냉이(*Armoracia rusticana*)뿌리 추출물의 항균 효과. 대한소아치과학회지, 33: 447-456, 2006.
 28. 김혜경, 박호원, 신일식 등 : 치태에서 분리된 *Streptococcus mutans*에 대한 서양산 고추냉이(*Armoracia rusticana*) 뿌리 추출물의 항균효과. 대한소아치과학회지, 35:225-233, 2008.
 29. 박광선, 박호원, 신일식 등 : 구강 내 미생물에 대한 서양산 고추냉이(Horseradish, *Armoracia rusticana*) 뿌리 천연추출물과 합성 Allyl isothiocyanate의 항균활성 비교. 대한소아치과학회지, 36:217-226, 2009.
 30. 이원주, 박호원, 신일식 등 : 치근관 내 편성 혐기성 세균에 대한 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 항균효과. 대한소아치과학회지, 36:237-244, 2009.
 31. 장용걸, 박호원, 신일식 등 : 구강에서 채취한 혐기성 세균에 대한 서양산 고추냉이(Horseradish, *Armoracia rusticana*) 뿌리 추출물의 항균효과. 대한소아치과학회지, 37:168-178, 2010.
 32. 이성우, 서정식, 김석동 등 : 고추냉이 부위별 Allyl isothiocyanate 함량. Korean J. Crop Sci, 42:281-285, 1997.
 33. 이성수, 서정식, 김석동 등 : 고추냉이 부위별 Allyl isothiocyanate 함량. 한국 약용 작물 학회지, 42: 281-285, 1997.
 34. Kawakishi S, T Kaneko : Interaction of oxidized glutathione with allyl isothiocyanate. Phytochemistry, 24: 715-718, 1985.
 35. Kawakishi S, Toshiyuki K : Interaction of proteins with allyl isothiocyanate. J Agric Food Chem, 35:85-88, 1987.
 36. Perez F, Calas P, Falguerolles A, et al. : Migration of a *Streptococcus sanguis* strain through root dentinal tubules. J Endod, 19:297-301, 1993.
 37. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, et al. : *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod, 32:93-98, 2006.
 38. Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M : Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. J Endod, 34:429-434, 2001.
 39. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, et al. : Microorganisms from canals from root-filled teeth with periapical lesions. Int Endod J, 36:1-11, 2003.
 40. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U : Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 85:86-93, 1998.
 41. Haapasalo M, ørstavik D : In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. J Dent Res, 66: 1375-1379, 1987.
 42. Sunde PT, Olsen I, Debelian GJ, et al. : Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. J Endod, 28:304-310, 2002.

Abstract

THE ANTIMICROBIAL EFFECT OF HORSERADISH (*ARMORACIA RUSTICANA*) ROOT EXTRACTS
AS AN ENDODONTIC IRRIGANT

Hyo-jin Yun, Ho-won Park, Ju-hyun Lee, Hyun-woo Seo

Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Gangneungwonju National University

Microorganisms are the main causative factors of pulpal and periapical diseases, therefore successful endodontic treatment is depend on the effective elimination of intracanal bacterial populations. Many studies have been reported antimicrobial effect of Allyl isothiocyanate (AIT) which the principle ingredient of Horseradish (*Armoracia rusticana*) root extracts.

The purposes of this study are to evaluate the antimicrobial effectiveness of Horseradish root extracts against *Enterococcus faecalis* in root canals of extracted human teeth and compare to sodium hypochlorite (NaOCl).

Extracted human mandibular premolar root canals were infected with *E. faecalis* for 21 days, and then irrigated with Horseradish root extracts, NaOCl solution and saline. After canal irrigation, first samples (S1) were taken. After first sampling, the canals were additionally incubated 7 days, and then second samples (S2) were taken. The samples were inoculated on BHI agar plate to determine the colony forming units (CFU).

1. Mean values of CFU in S1 were 5.815×10^3 CFU/ml at Horseradish groups, and 3.465×10^3 CFU/ml at NaOCl groups. There was no statistically significant differences ($p=0.086$).
2. Mean values of CFU in S2 were 3.100×10^3 CFU/ml at Horseradish groups, and 5.252×10^5 CFU/ml at NaOCl groups. There was statistically significant difference ($p<.05$).
3. There was no statistically significant differences ($p=0.076$) between S1 and S2 at Horseradish groups in the mean values of CFU. However, there was statistically significant differences ($p<.05$) between S1 and S2 at NaOCl groups in the mean values of CFU.

Key words : Horseradish (*Armoracia rusticana*) root extracts, Allyl isothiocyanate (AIT), Endodontic irrigant, *Enterococcus faecalis*