

이염화이소시아눌산나트륨 제제의 근관세척액 사용 가능성 평가 ; 염소이온농도, 세포독성, 항균성 및 pH

이우철 · 강봉선 · 김철호 · 손호현*

서울대학교 치과대학 치과보존학교실

ABSTRACT

EVALUATION OF SODIUM DICHLOORISOCYANURATE AS A ROOT CANAL IRRIGATION SOLUTION ; Cl⁻ CONCENTRATION, pH, CYTOTOXICITY AND ANTIMICROBIAL EFFECT IN VITRO

Woo-Cheol Lee, Bong-Sun Kang, Cheol-Ho Kim, Ho-Hyun Son*

Dept. of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Seoul National University

The purpose of this study was to evaluate the clinical applications of the Sodium Dichloroisocyanurate effervescent tablet as a routine root canal irrigant by performing several in vitro tests such as Cl⁻ content, cytotoxicity, antimicrobial effect as well as its pH level compared to the equivalent concentration of sodium hypochlorite solution.

1. Sodium Dichloroisocyanurate demonstrated lower level of Cl⁻ concentration than each dilution of sodium hypochlorite solution. Both solution has increased level of Cl⁻ as the concentration of each solution increased. There was no significant change of Cl⁻ concentration in sodium hypochlorite as time goes by. However, Cl⁻ concentration in Sodium Dichloroisocyanurate was increased.
2. The antimicrobial effects of both solutions were increased when their concentrations were increased. One day after dilution, antimicrobial effect of Sodium Dichloroisocyanurate was slightly higher than sodium hypochlorite, however, there was no difference in 1 week dilution solution. One month dilution solution of sodium hypochlorite still retain its activity, but antimicrobial effect of Sodium Dichloroisocyanurate was drastically decreased 1 month after dilution.
3. The cytotoxicity of Sodium Dichloroisocyanurate was rather higher than same concentration of sodium hypochlorite solution until 1 week after dilution. Then in 1 month, cytotoxicity of Sodium Dichloroisocyanurate was decreased than that of 1 week dilution solution, especially 4% Sodium Dichloroisocyanurate solution has almost no toxicity. However, 1% and 2% sodium hypochlorite solution has unchanged moderate degree of cytotoxicity after the dilution. Furthermore, 4% sodium hypochlorite solution showed high level of toxicity.
4. The pH level of Sodium Dichloroisocyanurate showed that the solution was weak acid (pH5). On the other hand, sodium hypochlorite was revealed as a strong alkaline solution (pH12). There was no change in pH following the dilution of each solution.

As results, Sodium Dichloroisocyanurate solution fully satisfy the basic requirements as a root canal irrigation solution. However, we strongly recommend to use this solution clinically in low concentration and try to apply into the root canal within 1 week after dilution.

Key words : Root canal irrigant, Sodium dichloroisocyanurate, Cytotoxicity, Antimicrobial effect

I. 서 론

근관치료 술식의 과정 중에서 근관세척은 근관내 치수조직 잔사와 상아질 잔사 및 근관 감염 세균을 제거하여 근관 충전에 적합한 환경을 만드는 과정으로, 여러가지 화학용액이 사용되어 왔으나 차아염소산나트륨 (sodium hypochlorite)이 1936년 Walker¹⁾에 의해 근관치료영역에 소개된 이래 60년 이상 근관세척용으로 사용되어 왔으며 여러 연구에 의해 치수용해 및 미생물 감소 등의 장점이 확인되었다.

Senia²⁾는 사람의 치수조직 용해에 있어서 5.25%의 차아염소산나트륨이 식염수보다 우수한 효과를 가진다고 보고하였으며, Hand³⁾는 차아염소산나트륨이 괴사된 치수조직 용해에도 탁월한 효과가 있음을 보고한 바 있다. 하지만 농도에 따른 조직독성이 있음이 밝혀짐에 따라 조직독성이 적은 적정 농도를 유지하면서 항균효과를 나타내는 것이 중요한 관건이 되었고^{4,5)} Spangberg⁶⁾나 Bystrom 등⁷⁾은 0.5%의 차아염소산나트륨이 근관세척액으로 충분한 농도를 가진다고 주장하였다.

근관세척액은 치수조직의 용해 외에도 근관내 미생물을 제거하는 항균효과도 가져야 하는데 Bystrom⁸⁾은 0.5%와 5.25%의 차아염소산나트륨이 가지는 항균효과는 동일한 것으로 보고하고 있고 Svec 등⁹⁾은 5.25% 용액의 사용을 주장하고 있어 적정 항균작용을 가짐과 동시에 조직유해성이 적은 근관세척 용액의 개발이 필요한 상황이다.

최근 차아염소산나트륨과 동일한 농도의 염소를 함유하면서도 발포정 형태로 제조되어 사용 및 관리가 용이하며, 식품의약품안전청의 식품첨가물공전에 식품첨가물로 분류된 이염화이소시아눌산나트륨(sodium dichloroisocyanurate; NaCl₂(CON)₃)(Table 1-2)을 주 제재로 하는 네오덴탈®-에프(Lee Chemical Ind.co., Ltd., 경기도, 대한민국)(Table 1-1)를 근관치료 과정에서 근관세척제로 사용할 가능성이 검토되었다.

따라서 본 연구의 목적은 발포정 형태의 이염화이소시아눌산나트륨 용액의 염소이온 농도, 항균효과 및 세포독성을 기존의 근관세척 용액으로 사용중인 차아염소산나트륨 용액과 비교하여 근관세척액으로서 효율적인 근관세척을 위해 유용하게 사용될 수 있는지 평가하고자 하였다.

Table 1-1. Ingredients of NeoDental®-F

Among 1 tab. of NeoDental®-F	
Sodium Dichloroisocyanuric acid	50%
Adipic acid	25%
Sodium Bicarbonate	25%

II. 실험재료 및 방법

1. 염소이온 농도 측정

1%, 2%, 4%의 이염화이소시아눌산나트륨 용액과 차아염소산나트륨 용액을 제조하여 1일, 1주, 1달의 시간 경과에 따라 용액 내에 함유된 염소이온 농도를 서울대학교 보건대학원에 의뢰하여 측정하였다. 측정 방법은 이온크로마토그래피를 이용하였으며 제조된 각 용액 내 Cl⁻의 농도(%)를 측정하였다.

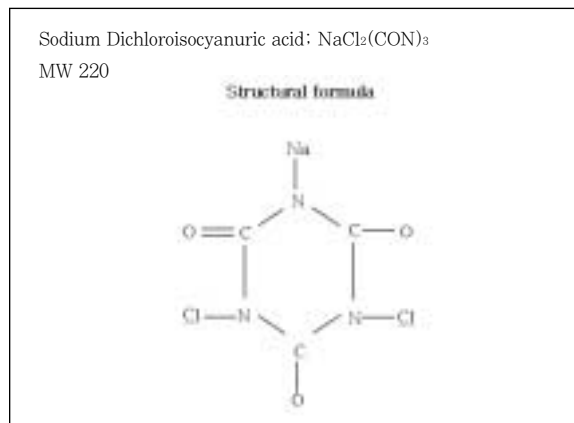
2. 항균성 실험

BHI agar plate에 *E. faecalis* (5×10⁶ CFU/ml)를 seeding한 후 1%, 2%, 4%의 이염화이소시아눌산나트륨 용액과 차아염소산나트륨 용액 제조 후 1일, 1주, 1달이 경과한 각 용액을 disc에 침윤시킨 다음 BHI agar plate의 중앙에 올려놓고 anaerobic chamber에서 24시간 동안 배양하였다. 각 용액의 항균효과는 disc 주위의 inhibition zone을 측정하여 결정하였다.

3. 세포독성 실험

MG63 세포주 세포를 α-MEM (10% FBS, 1mM sod. pyruvate, 1mM non-essential amino acid, antibiotics) 배지를 사용하여 5% CO₂ 조건에서 배양하고 confluent하게 자란 후 subculture하여 3×10⁴ cell/ml 되게 6 well plate에 넣고 24시간 배양하였다. 24시간 subculture 후 growth medium을 버리고 HBSS (Gibco, USA)로 washing하였다. 동량의 2×α-MEM과 3% agar로 agar-영양배지를 만들고 40℃정도로 식혀서 washing한 6 well plate에 부어 30분간 agar를 굳힌 후, HBSS로 희석한

Table 1-2. Molecule of Sodium Dichloroisocyanuric acid



0.01% Neutral red 용액 1ml씩을 각각의 well에 넣고 세포를 염색하기 위해 15분간 배양하였다. 여분의 Neutral red 용액은 제거하고, 1%, 2%, 4%의 이염화이소시아눌산나트륨 용액과 차아염소산나트륨 용액 제조 후, 1주, 1달이 경과한 각 용액을 침윤시킨 disc를 well 가운데에 올려놓고 4시간 배양하였다. 육안으로 변색지역을 관찰하고 세포용해지역은 현미경으로 관찰 후 ISO 수치로 환산하여 세포독성 정도를 판단하였다.

4. pH 측정

pH meter를 사용하여 차아염소산나트륨 용액과 이염화이소시아눌산나트륨 용액의 pH를 3회 이상 반복 측정하였다.

Ⅲ. 실험성적

1. 염소이온 농도

이염화이소시아눌산나트륨 용액의 염소이온 농도는 차아

염소산나트륨 용액에 비해 동일한 용액 농도에서 낮은 경향성으로 나타났으며, 두 용액 모두 용액 농도가 높아짐에 따라 염소이온 농도도 증가하였으나, 증가율은 비례하지 않았다. 용액 제조 후 시간 경과에 따른 염소이온 농도는 이염화이소시아눌산나트륨 용액의 경우 높아지는 경향을 보였으나, 차아염소산나트륨 용액은 유의한 차이를 보이지 않았다. (Table 2, Fig. 1)

2. 항균성 실험

이염화이소시아눌산나트륨 용액과 차아염소산나트륨 용액의 농도가 1%, 2%, 4%로 증가함에 따라 항균성은 높아졌으며, 용액 제조 후 1일에는 이염화이소시아눌산나트륨 용액의 항균성이 차아염소산나트륨 용액의 항균성에 비해 약간 높았으나, 1주에는 두 용액 사이에 항균성의 차이를 보이지 않았다. 용액 제조 후 시간 경과에 따라 차아염소산나트륨 용액의 항균성은 유의한 차이가 없었으나, 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 제조 후 1달에 항균성이 급격히 감소하였다. (Fig. 2)

Table 2. Cl^- concentration(%) in each solution

Time elapsed Conc. of Solution	A	B	A	B	A	B
	1 day		1 week		1 month	
1%	1.0	0.2	1.9	0.3	1.8	0.6
2%	3.6	0.3	3.4	0.6	3.9	1.1
4%	7.8	0.4	8.0	1.2	8.0	2.0

A : Sodium Dichloroisocyanurate

B : Sodium Hypochlorite

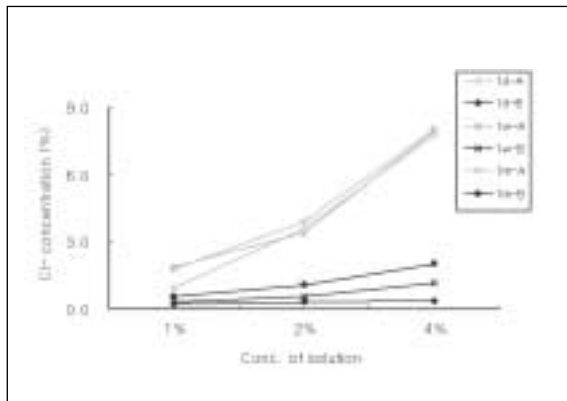


Fig. 1. Cl^- concentration in each solution

A : Sodium Dichloroisocyanurate

B : Sodium Hypochlorite

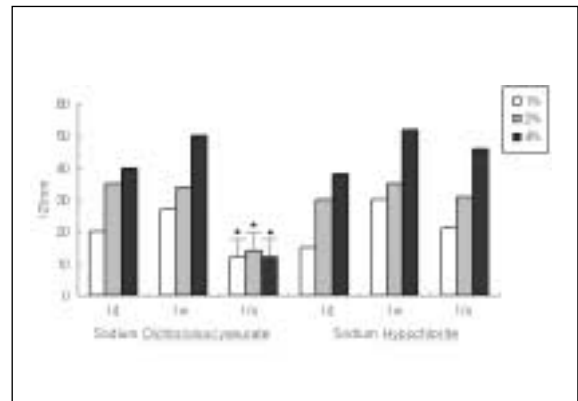


Fig. 2. Result of antimicrobial test

3. 세포독성 실험

동일한 용액 농도에서 용액 제조 후 1주까지는 이염화이소시아눌산나트륨 용액이 차아염소산나트륨 용액에 비해 비교적 높은 세포독성을 가진 것으로 나타났으나, 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 제조 후 1달에서는 세포독성이 1주보다 약해져서 중등도의 지수를 나타내었고, 특히 4% 용액에서는 세포독성이 거의 없었다. 그러나, 차아염소산나트륨 용액은 1%와 2% 용액에서는 제조 후 시간 경과에 따른 세포독성의 변화가 없는 중등도의 세포독성을 나타내었고, 4% 용액에서는 강한 세포독성을 나타내었다. (Table 3)

4. pH 측정

1%, 2%, 4%의 이염화이소시아눌산나트륨 용액과 차아염소산나트륨 용액을 제조하여 제조된 용액의 pH를 측정하면 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 약산성(pH 5)이었고, 차아염소산나트륨 용액은 강알칼리성(pH 12)으로 용액의 농도에 따른 pH의 변화는 거의 없었다. (Table 4)

Ⅳ. 총괄 및 고안

근관치료 과정에서 근관세척의 중요성은 잘 알려져 있지만 어떤 근관세척액을 사용하여야 하는지에 대해 논란이 많다. 차아염소산나트륨 용액은 항균효과와 치수조직 용해능력이 확실하여 오랫동안 근관치료 영역에서 사용되고 있지만, 근관치료하는 치아를 러버댐으로 구강 내와 완전히 차단시킬 수 없는 증례 등에서 차아염소산나트륨 용액이 구강 내로 누출될 경우 점막 자극이 강하며, 역한 염소 냄새로 인해 환자에게 고통을 줄 수 있고, 의류에 접촉 시에는 탈색을 일으키기도 한다.

차아염소산나트륨 용액에 의한 항균작용은 아직 명확하게 그 기전이 규명되지 않고 있지만 대개는 높은 pH에 의한 것으로 알려져 있다. 따라서 pH가 감소할 수 있는 환경 즉, 광선에 노출된다든지, 제조 후 시간이 장기간 경과한다든지 하면 pH가 낮아진다고 보고되고 있으며 이를 막기 위해 항상 신선한 용액을 제조하여야 하는 등의 노력이 필요하다. 차아염소산나트륨 용액의 항균작용은 알칼리성 pH 뿐만 아니라 염소이온의 유리작용과도 관련이 있는 것으로 알려져 있으며 이는 차아염소산나트륨이 수분과 결합하여 활성 염소

Table 3. Result of cytotoxicity after 4 hr incubation

Solution	Time elapsed	Conc. of solution	Cytotoxicity
Sodium Dichloroisocyanurate	1 week	1%	Severe
		2%	Severe
		4%	Severe
	1 month	1%	Moderate
		2%	Moderate
		4%	None
Sodium Hypochlorite	1 week	1%	Moderate
		2%	Moderate
		4%	Severe
	1 month	1%	Moderate
		2%	Moderate
		4%	Severe

Table 4. pH of each solution

Solution	Conc. of solution		
	1%	2%	4%
Sodium Dichloroisocyanurate	5.1	5.1	5.18
Sodium Hypochlorite	11.9	12.15	12.3

가 함유된 hypochlorous acid (HOCl)를 형성하고 이 활성 염소는 강력한 산화제로써 세균의 대사기능에 필수인 효소의 -SH기를 비가역적으로 산화시켜 항균효과를 발휘한다. 또한 염소이온은 세포내 성분과 결합하여 N-chloro화합물을 만들어 세균에 독성작용을 나타내기도 한다¹⁰⁾.

최근 발포정 형태로 제조되어 매번 사용 시에 바로 용해시켜 적정 농도의 신선한 용액을 만들어 줄 수 있도록 한 이염화이소시아눌산나트륨을 주 제재로 하는 네오덴탈®-에프에 대한, 근관치료 시 근관세척 용액으로써 사용 가능성을 평가하기 위해 본 연구에서는 기존의 차아염소산나트륨 용액의 주요 기능과 비교하여 그 효능을 확인하고자 하였다. 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 차아염소산나트륨 용액과 비교하여 병원성 세균에 대한 살균력이 우수한 것으로 보고되고 있으며, 유기물 존재 하에서도 활성 염소(HOCl)가 안정적으로 지속되고, 빛에 의한 염소 감소율이 낮으며, 약 산성으로 점막 자극이 적고, 염소 냄새가 적으며, 제품은 발포정 형태로 공급되어 증류수에 용해 및 희석을 통하여 적정 염소 농도를 효과적으로 얻을 수 있으며 따라서 경제성 및 편리성이 있다고 소개되고 있다.

본 연구에서는 현재 임상에서 사용중인 차아염소산나트륨 용액이 4% 용액으로 제조되어지고 있어, 1%, 2%, 4%로 용해된 이염화이소시아눌산나트륨 용액과 차아염소산나트륨 용액을 제조하여 각 용액 내에 함유된 염소이온 농도를 측정된 결과, 동일 농도의 용액에서 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 차아염소산나트륨 용액보다 낮은 염소이온을 함유하고 있는 것을 확인하였고, 이에 따라 항균효과가 줄어들 것으로 예상하였다. 하지만 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 차아염소산나트륨 용액과 비교하여 용액 제조 후 1일에 약간 높은 항균성을 보이나, 1주에서는 거의 동일한 항균작용을 나타내었고, 1달째에서는 이염화이소시아눌산나트륨 용액이 차아염소산나트륨 용액에 비해 낮은 항균성을 나타내었다. 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 제조 후 2주를 경과하면서부터 용액속에 백색의 결정체가 형성되기 시작하여, 1달째에 백색의 결정이 침전되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 이는 이염화이소시아눌산나트륨 용액이 시간 경과 후 결정으로 석출되어 나와 용액속에 용해된 항균 성분의 농도가 감소하여 항균 능력이 떨어지는 것으로 추정된다. 본 연구에서 이염화이소시아눌산나트륨 용액과 차아염소산나트륨 용액의 농도가 1%, 2%, 4%로 증가함에 따라 항균성은 높아졌으며, 이는 용액 농도에 비례하여 항균효과를 확인한 Siqueira¹¹⁾의 연구에서 1% NaOCl 용액에서 18.5mm, 2.5% NaOCl 용액에서 21.5mm, 5.25%의 NaOCl용액에서 31mm의 zone of inhibition이 보고되고 있어 거의 동일한 결과를 확인할 수 있었으나 다른 농도의 용액간에 정량적으로 측정된 세균감소효과에는 서로 차이가 없었다고 보고되고 있다. 따라서 임상적으로는 근관세척

용액이 세균과 어느 정도 효율적으로 접촉되는가 하는 것이 근관세척액의 효과를 나타내는데 주요한 요인으로 작용하는 것 같다.

본 실험에 사용한 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 차아염소산나트륨 용액과 용액 제조 초기에는 오히려 높은 항균작용을 보이는 것으로 관찰되어 임상적 적용에 문제가 없는 것으로 사료된다. 명확한 작용기전을 알 수 없으나 이염화이소시아눌산나트륨 용액이 pH 5.1 정도의 산성을 가지는 것으로 볼 때 그에 따른 항균작용으로 추측 할 수 있다. Martin 등¹²⁾에 의하면 유사한 pH 5.8을 가지는 potentiated acid 1,5 pentanedial도 근관내에서 우수한 항균작용을 가지는 것으로 보고된 바 있다.

다만 이염화이소시아눌산나트륨 용액의 세포독성이 차아염소산나트륨 용액에 비해 용액 제조 초기에 강하게 나타남에 따라 가능하면 희석된 낮은 농도의 이염화이소시아눌산나트륨 용액을 사용하거나 세포독성을 완화 시킬수 있는 복합물 연구에 힘써야 할 것으로 사료되며, 이염화이소시아눌산나트륨 용액 제조 후 1달에서 세포독성이 낮아 진다는 실험 성적은 침전물의 형성에 따라 이염화이소시아눌산나트륨 용액의 성능이 저하된 것으로 판단되며, 이는 항균성에 있어서도 제조 후 1달에서 급격한 감소를 보임으로써 역시 침전물 형성에 따른 이염화이소시아눌산나트륨 용액의 성능 저하로 판단되어 이염화이소시아눌산나트륨 용액을 근관세척액으로 사용하기 위하여는 용액 제조 후 최대 1주일 이내에만 사용 가능할 것으로 판단되며, 제조 후 1주가 초과된 용액은 항균성 및 세포독성의 측면에서 의미가 없다고 사료된다. 추후 이염화이소시아눌산나트륨 용액의 조직 용해도에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구의 목적은 발포정 형태의 이염화이소시아눌산나트륨 용액의 염소이온 농도, 항균효과 및 세포독성을 기존의 근관세척 용액으로 사용중인 차아염소산나트륨 용액과 비교하여 근관세척을 위해 유용하게 사용될 수 있는지 평가하고자 하였다.

1. 염소이온 농도는 이염화이소시아눌산나트륨 용액이 차아염소산나트륨 용액에 비해 동일한 용액 농도에서 낮았으며, 두 용액 모두 용액 농도가 높아짐에 따라 염소이온 농도도 증가하였고, 용액 제조 후 시간 경과에 따른 염소이온 농도는 이염화이소시아눌산나트륨 용액의 경우 높아지는 경향을 보였으나, 차아염소산나트륨 용액은 유의한 차이를 보이지 않았다.
2. 항균성은 이염화이소시아눌산나트륨 용액과 차아염소산나트륨 용액의 농도가 증가함에 따라 높아졌으며, 용액 제조 후 1일에는 이염화이소시아눌산나트륨 용액의 항

균성이 차아염소산나트륨 용액의 항균성에 비해 약간 높았으나, 1주에는 두 용액 사이에 차이를 보이지 않았다. 용액 제조 후 시간 경과에 따라 차아염소산나트륨 용액의 항균성은 유의한 차이가 없었으나, 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 제조 후 1달에 항균성이 급격히 감소하였다.

3. 세포독성은 동일한 용액 농도에서 용액 제조 후 1주까지는 이염화이소시아눌산나트륨 용액이 차아염소산나트륨 용액에 비해 비교적 높았으나, 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 제조 후 1달에는 1주 보다 약한 증등도의 세포독성을 나타내었고, 특히 4% 용액에서는 세포독성이 거의 없었다. 그러나, 차아염소산나트륨 용액은 1%와 2% 용액에서는 제조 후 시간 경과에 따라 변화가 없는 증등도의 세포독성을 나타내었고, 4% 용액에서는 강한 세포독성을 나타내었다.
4. 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 약산성(pH 5)이었고, 차아염소산나트륨 용액은 강알칼리성(pH 12)으로 용액의 농도에 따른 pH의 변화는 거의 없었다.

이상의 결과로 보아 이염화이소시아눌산나트륨 용액은 근관세척액으로서의 기본적인 요건을 충족하나, 낮은 농도의 이염화이소시아눌산나트륨 용액을 제조 후 1주 이내에 근관세척액으로 사용하는 것이 바람직하다고 사료된다.

References

1. Walker A : Definite and dependable therapy for pulpless teeth. *J Am Dent Assoc* 23:1418,1936.
2. Senia ES, Marshall FJ and Rosen S : The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surg* 31:96,1971.
3. Hand RE, Smith MI and Harrison JW : Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endodon* 4:60,1978.
4. Siqueira JF, Machado AG, Silverira RM, Lopes HP and De Uzeda M : Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of enterococcus faecalis from the root canal, in vitro. *Int Endo J* 30:279,1997.
5. Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E and Trope M : Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. *J Endodon* 21:513, 1995.
6. Spangberg L : Cellular reaction to intracanal medications. In Grossman, L.I. (ed) *Trans Fifth Conf Endod*. Philadelphia. University of Pennsylvania, pp 108-123,1973.
- Block SS : *Disinfection, sterilization, and preservation*, 4th Ed. Philadelphia, USA: 1971.
7. Bystrom A and Sundqvist G : Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5% sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg* 55:307,1983.
8. Bystrom A and Sundqvist G : The antimicrobial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endo J* 18:35,1985.
9. Svec TA and Harrison JW : Chemomechanical removal of pulpal and dentinal debris with sodium hypochlorite and hydrogen peroxide vs normal saline solution. *J Endodon* 3:49,1977.
10. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA and Rosenthal KS : *Medical microbiology*. 2nd Ed. St Louis, USA: C.V. Mosby Co.1994.
11. Siqueira JF, Racas IN, Favieri A and Lima KC : Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5% and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endodon*. 26:331,2000.
12. Martin H and Spring S : Quantitative bactericidal effectiveness of an old and a new endodontic irrigant. *J Endodon* 1:164,1975.

손 호 현

서울대학교 치과대학 치과보존학교실
서울시 종로구 연건동 28번지 서울대학교병원
Tel : 02-760-2652
E-mail : hhson@snu.ac.kr