



근관포스트(금속제, 비금속제)의 시험방법 가이드라인

2013. 07

머 리 말

국민소득 향상 및 평균수명의 증가로 고령화 사회로 접어들고 있는 상황에서 노인들의 건강한 치아관리에 대한 관심이 높아지고 있으며, 특히 신기술 치과치료 분야와 더불어 신소재 치과용 재료 분야도 빠르게 발달되고 있습니다. 근관포스트는 치아의 빈 공간을 메꾸는데 사용하는 수복물을 지지하고 고정하는 기능과 같은 역할을 하는 치과용 재료입니다.

다양한 종류의 근관포스트가 국내 유통되고 있으나, 대부분 수입제품에 의존하고 있는 실정이며, 국제규격 등의 제정이 뒷받침 되지 못하여 안전성 관리에 어려움이 있습니다. 또한, 개발된 제품을 적절히 평가할 수 있는 평가지표가 미흡하여 이에 대한 성능을 평가할 수 있는 객관적이고 보편적인 시험방법 제시가 필요한 실정입니다.

이에 식품의약품안전평가원에서는 2012년도에 수행한 용역연구사업인 “근관포스트(금속제, 비금속제)의 평가 가이드라인 개발연구”의 결과물을 기반으로 금번에 수복형 치과용 재료 중 하나인 “근관포스트(금속제, 비금속제)의 시험방법 가이드라인”을 발간하게 되었습니다.

본 가이드라인에서는 근관포스트(금속제, 비금속제) 치과재료가 갖추어야 할 물리·기계적 및 생물학적 특성에 따라 시험항목 및 시험방법을 제시하였으며, 개발동향 및 국내·외 관련 규격 등을 소개함으로써 관련 산업체의 제품개발과 자율적인 품질관리에 도움을 주고 기술문서 심사 업무 수행 시 기본 자료로 활용되어 의료기기 산업발전 및 의료기기의 안전성 제고에 도움이 될 것으로 판단됩니다. 식품의약품안전평가원은 앞으로도 지속적으로 다양한 의료기기에 대한 시험방법 가이드라인을 지속적으로 발간해 나갈 예정이며, 이러한 가이드라인들이 표준화된 제품개발, 품질관리 및 허가심사 등에 많은 도움이 될 수 있기를 기대합니다. 감사합니다.

2013년 7월

식품의약품안전평가원장

목 차

1. 적용범위	1
2. 현황	2
가. 근관포스트란?	2
나. 가이드라인 개발의 필요성	4
다. 국내외 연구동향 분석	4
3. 시험법 관련 규격	5
가. 국제규격	5
나. 관련 시험평가 항목	7
4. 근관포스트 시험방법	9
가. 물리·기계적 시험방법	9
(1) 굴곡강도	9
(2) 부식저항성	15
(3) 방사선 불투과성	18
나. 생물학적 안전성 평가 방법	22
(1) 세포독성 시험	22
(2) 감작성 시험	28
5. 참고문헌	35
<가이드라인 전문가 협의체 위원>	36

1. 적용 범위

본 가이드라인에서는 치근관에 접속하는 금속제·비금속제 치과용 근관포스트의 물리·기계적 및 생물학적 특성에 대한 시험방법을 안내하고 있으며, 금속제·비금속제 치과용 근관포스트의 일반적인 개발현황 및 관련 국·내외 규격 등의 내용을 포함하고 있다.

근관포스트는 근관 치료된 치아에서 수복물을 지지하고 고정하기 위하여 치근관에 접속하는 금속제 및 비금속제 소재로서 『의료기기 품목 및 품목별 등급에 관한 규정(식약청고시 제2013-183호)』의 『C27020.01 금속제근관포스트』와 『C27030.01 비금속제근관포스트』에 해당되는 제품이다(표 1).

본 가이드라인은 근관포스트의 물리·기계적 및 생물학적 특성에 관한 시험방법을 안내하는 참고자료이므로, 가이드라인에서 제시된 시험항목 등은 허가·심사 시의 시험규격에 일치시키지 않아도 된다.

표 1. 근관포스트 관련 의료기기 품목(식약청 고시 2013-183호)

품목분류 번 호	등급	품목명	정 의
C27020.01	2	금속제근관포스트 (post, endodontic, metal)	근관 치료된 치아에서 수복물을 지지하고 고정하기 위하여 치근관에 접속하는 금속제 기구
C27030.01	2	비금속제근관포스트 (post, endodontic, non-metal)	근관 치료된 치아에서 수복물을 지지하고 고정하기 위하여 치근관에 접속하는 비금속제 기구

2. 현황

가. 근관포스트란?

근관포스트는 근관치료 후 치근과 치관부의 수복물을 연결하는 역할로써 코어(core)를 유지하고 안정시키며, 치관부에 가해지는 응력을 완충하고 치근과 치관부의 연결을 지탱하는 치과용 재료이다 (그림 1, 2). 치아에 우식이 발생하거나 외부의 충격으로 인해 파절이 일어난 경우, 생활치의 보존적 치료방법으로 근관치료 과정이 뒤따른다. 파절된 치아의 치수를 제거하고 확장된 근관을 채우는데 사용하는 재료로는 코어용 레진, 근관포스트 등이 있으며, 근관포스트는 코어용 레진에 비해 잔존 치아량이 많지 않은 경우에도 적용이 가능하다는 장점이 있다.¹⁾

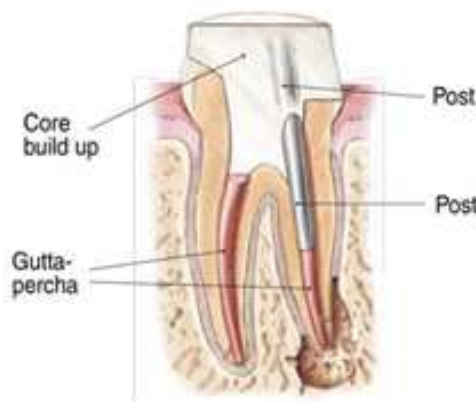


그림 1. 근관치료 후 치아내 포스트와 코어의 위치 모식도²⁾

근관포스트의 종류는 크게 주조용 포스트(cast post)와 기성형된 포스트(prefabricated post)로 나뉜다. 기성형된 포스트는 그 구성성분에 따라 크게 금속제 근관포스트와 비금속제 근관포스트로 분류할 수 있다. 금속제 근관포스트 제품으로는 금, 팔라듐, 스테인리스 스틸, 티타늄 등이 있다. 비금속제 근관포스트로는 지르코니아, 알루미나와 같은 세라믹 소재 또는 탄소섬유(carbon fiber), 유리섬유(glass fiber), 석영섬유(quartz fiber) 등으로 강화된 섬유강화형 컴포짓 근관포스트 제품이 있다.



그림 2. 근관치료 후 섬유강화 컴포짓 포스트의 시술과정³⁾

최근에는 근관포스트의 강성(rigidity) 또는 탄성계수(elastic modules)가 치아보다 매우 큰 경우 치아의 파절을 유발할 수 있기 때문에 치아와 유사할수록 좋다는 견해가 많다.⁴⁾ 이러한 이유로 포스트에 가해지는 응력 집중 및 분산 등 다양한 물리적 특성을 부여하기 위해 소재 뿐 아니라 Threaded형과 non-threaded형, Taper형과 non-taper형의 다양한 형태로도 제작되고 있다. 또한 최근에는 심미적 특성을 고려하여 높은 광투과성을 가지는 제품들이 제작되고 있다. 현재 시판되고 있는 금속제 및 비금속제 근관포스트의 다양한 재료 및 형태에 대해 그림 3에 나타내었다.

Endodontic post system	
Metal post with palladium	Perma-dor TM
Metal posts without palladium	Perma-dor TM twin
	ER platinum/iridium post
	Endo-Core TM Pt-Ir system/non-palladium
Ceramic posts	ER Cerapost TM (zirconia ceramics)
	Alumina blank/Celay TM procedure
	(aluminium oxide ceramics)
Metal post/ceramic core	Perma-dor TM
Carbon fibre post	Composipost TM (= C-Post)

그림 3. 현재 시판중인 근관포스트의 재료 및 형태의 예⁵⁾

나. 가이드라인 개발의 필요성

근관치료에서 근관포스트는 치근관에 적용되어 코어를 지지하는 역할을 하는 치과용 재료로써 장기간의 시술기간과 높은 시술비용을 요하는 임플란트에 비해 시술이 간편하고 시술비용이 저렴하며 적은 잔존 치아량에도 적용이 가능한 장점이 있어 널리 사용되고 있다. 이에 본 가이드라인에서는 금속제 및 비금속제 근관포스트에 적합한 물리적·생물학적 안전성 평가 기술에 대한 정보를 제공함으로써 국내에 유통되고 있는 근관포스트 소재의 효율적인 품질관리를 도모하고 나아가 질 높은 의료서비스를 국민에게 제공하기 위한 기반을 제공하고자 한다. 또한 본 가이드라인을 통한 규격화된 평가기술의 적용은 향후 향상된 물성 및 생물학적 안전성을 갖는 근관포스트 소재의 연구개발 뿐 아니라 안전하고 우수한 근관포스트가 국내에 치과치료에 사용될 수 있는 환경을 구축하는데 기여할 것으로 사료된다.

다. 국내·외 연구동향 분석

미국 식품의약국 (FDA)에서는 근관포스트를 미국연방규정 (Code of Federal Regulations)에서 치과용 기기(dental devices) 중 근관포스트(root canal post) 품목으로 규정하고 있으며, 코드넘버는 ELR로 일반관리 대상인 시판 전 신고 품목 (510K의 1등급)으로써 구분하여 관리하고 있다. 현재 510K에 등록되어 시판되고 있는 근관포스트 품목은 약 40개 내외로 해당 공개 자료를 통해 분석한 근관포스트의 평가기술로는 물리적 특성은 3점 굽힘시험을, 생물학적 안전성은 세포독성시험을 주로 시험하여 평가하고 있다.⁶⁾

일본 후생노동성은 근관포스트를 의약품 분류체계 2등급으로 분류하여 관리하고 있다. 후생노동성에서 제공하는 ‘치과재료의 제조 판매 승인 신청 등에 필요한 물리적·화학적 및 생물학적 시험’에 대한 문서⁷⁾에 따르면 근관포스트를 코드넘버 38609000로 지정하고 있다. 후생노동성은 생물학적 안전성 평가기

술로는 'ISO 10993 규격 또는 ISO 7405의 분류와 같이 접촉특성에 따라 체내 이식(implant)형 기기로, 접촉기간에 따라서는 장기적 접촉(30일 이상)으로 분류하고 있고 생물학적 시험 평가항목으로는 세포독성, 감작성, 자극성/피내반응, 아만성 전신독성(경구), 유전독성, 이식시험 등의 실시를 제안하고 있다. 근관 포스트에 대한 국제규격은 ISO TC106 SC1에서 현재 제정을 준비 중에 있으며 WD 554가 활발히 논의되고 있다.

따라서, 본 가이드라인에서는 상기 미국과 일본의 허가 또는 기준규격 및 국내·외 근관포스트에 대한 평가관련 기술문서 및 연구논문 등을 분석하여 근관포스트에 대한 과학적이고 규격화된 평가기술을 제시하고자 한다.

표 2. 치과재료의 제조 판매 승인 신청 등에 필요한 물리·기계적 시험선정
(약식기발제 08 31002 호)

코드	일반명칭	외관	치수	내력	굴곡강도	부식시험
38609000	치과근관용포스트성형품	○	○	● ¹⁾	● ²⁾	● ¹⁾

○ : 필수항목, ●¹⁾ : 금속제에 적용, ●²⁾ : 금속제 이외의 것에 적용

3. 시험법 관련 규격

가. 국제규격

현재까지 근관포스트의 물리적 특성 및 생물학적 안전성 특성을 종합적으로 평가할 수 있는 단일화된 국제규격에 따른 시험법은 없으며, 각 특성을 개별적으로 적용하여 평가할 수 있는 규격화된 국제규격의 시험항목들은 다음과 같다.

(1) ISO 10271 : 2004 (치과용 금속과 합금의 변색 및 부식 시험법)

이 규격은 직접 충전용 금속 및 합금, 주조용 금속 및 합금, 가공용 금속 및

합금, 납착용 금속 및 합금, 표면 증착 금속 및 합금 그리고 이들의 조합된 형태와 같이 구강 내에서 사용하는 모든 치과용 금속과 합금에 적용하여 그 변색 및 부식 시험방법을 제시하고 있다.

(2) ISO 10993 (의료기기의 생물학적 평가)

이 규격은 의료기기의 생물학적 평가에 대한 규격으로서 대부분의 의료기기의 생물학적 안전성을 전반적으로 평가할 수 있는 시험법을 제시하고 있다.

(3) ISO 7405:2010 (치의학-치과에 사용되는 의료기기의 생체적합성 평가)

이 규격은 치과재료의 특성을 고려하여 생물학적 안전성을 전반적으로 평가할 수 있는 시험법을 제시하고 있다.

(4) ISO N554 (ISO/TC106/SC1) dentistry-test method for flexural strength of endodontic post and cores

근관 포스트에 대한 국제규격은 ISO TC106 SC1에서 현재 제정을 준비 중에 있으며 WD 554가 활발히 논의되고 있다.

나. 관련 시험평가 항목

근관포스트가 갖추어야 할 중요한 물리적 특성으로는 지지체로서 치관부에 가해지는 응력에 견딜 수 있고 치아의 파절을 방지할 수 있는 적정 수준 이상의 강도와 탄성 계수를 요한다. 더불어 제대로 된 시술이 시행되었는지 확인하기 위해 비금속제 근관포스트의 경우 방사선 불투과성 시험이 필요하며, 시술이 제대로 되지 않았거나 시술 후 치아에 파절이 발생했을 경우 체액에 의한 부식이 금속제 근관포스트에서 문제가 될 수 있으므로 금속제 근관포스트에 준해 부식성 시험이 중요하게 추천된다.

만일 사용에 부적합한 근관포스트가 적용되고 근관치료 시 부적절한 시술 또

는 시술 후 치아의 파절로 인해 안전성에 문제가 발생했을 경우, 해당 의료기기 또는 의료기기 소재에 대하여 식품의약품안전처장이 정한 「의료기기의 생물학적 안전에 관한 공통기준규격」이나 치과재료의 특성에 기인한 평가방법인 ISO 7405에서 추천하는 생물학적 평가가 필요하다.

현재 근관포스트의 품질관리를 위한 규격화된 평가방법은 전무한 상황으로 근관포스트의 물리적 특성 및 생물학적 안전성을 과학적이고 객관적으로 평가하기 위해서 상기 평가 항목에 대한 추가적인 검토가 필요하며, 이들 관련시험법들은 아래 [표 3]과 같다.

표 3. 근관포스트의 물리적 특성 및 생물학적 안전성 시험항목과 규격

항목		평가항목	관련 규격 및 지침	비고
물리 기계 적 평가	금속 포스트	굴곡강도	ISO N554	* 시험 항목은 제품에 따라 가감될 수 있다
	세라믹 포스트			
	컴포짓(composite) 포스트			
	금속 포스트	부식저항성	ISO 10271:2004	
	컴포짓(composite) 포스트	방사선 불투과성	ISO 4049:2010	
생물학적 안전성 평가		세포독성 감작성 자극 또는 피내 반응시험	생물학적 안전에 관한 공통기준규격 ISO 7405	

4. 근관포스트 시험방법

가. 물리·기계적 시험방법

(1) 굴곡강도

(가) 관련 시험법

ISO N554 (ISO/TC106/SC1) dentistry-test method for flexural strength of endodontic post and cores

(나) 시험목적

굴곡강도는 재료의 굽힘하중에 대한 변형저항을 의미하며, 근관포스트는 제작형태에 따라 conical, cylindrical, cylindrical with stepwise 그리고 cylindro-conical 등 다양하게 제작되므로 규격화된 형태의 시료를 사용하여 굴곡강도 시험이 어렵다. 따라서 공급되는 형태별로 구분하되 가장 worst-case의 치수 및 형태를 갖는 시료를 사용하여 굽힘에 대한 저항성을 측정하는 것이 추천된다.

(다) 장비 및 기구

① 만능시험기

- 5 mm/min 의 속도로 하중을 가할 수 있으며 최소 10N, 최대 1,000 N의 하중을 측정할 수 있어야 한다.
- 시험 전 기기가 검·교정 되어 있는지 확인한다.

② 고정 지그

그림 4와 같이 포스트 시료를 만능시험기에 고정하기 위한 장치로 스테인리스 강으로 제작된다. 이 지그는 가로 40 mm X 세로 40 mm X 높이 40 mm 크기의 정사각형 모양이며, 상부 오른쪽에 직경 21 mm X 높이 16 mm의 원통형 홈이 있으며 홈의 중심부와 고정지그 바닥면의 중심부는 45°의 기울기를 갖고 있다. 이 지그는 굴곡시험동안 포스트 시료를 올바른 방향과 각도로 고정할 수 있어야 한다.

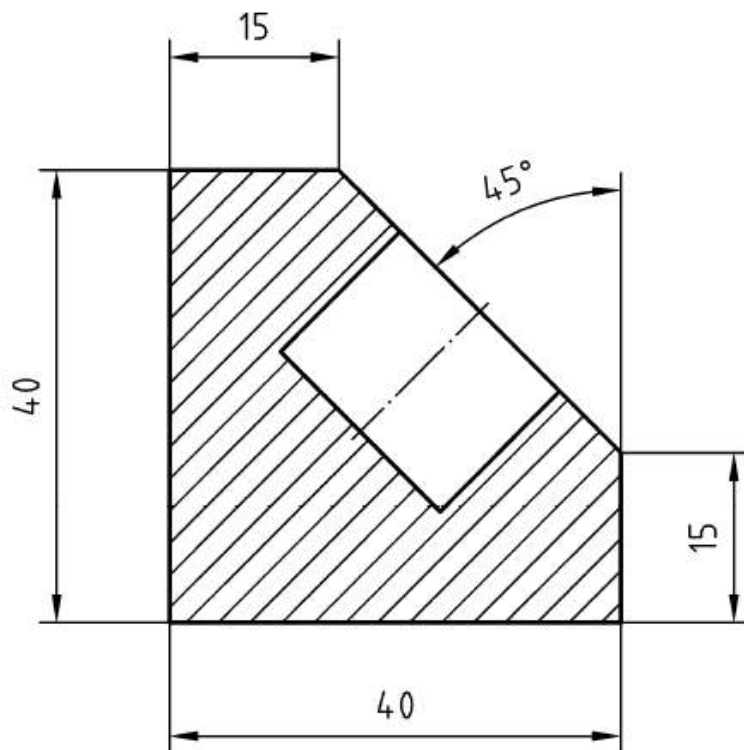
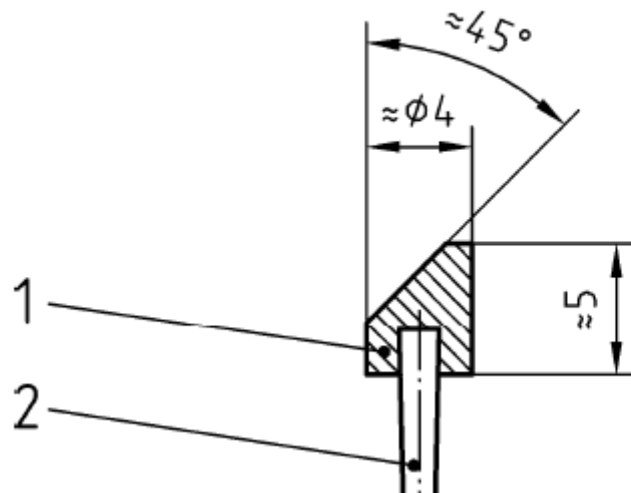


그림 4. 포스트 시료를 만능시험기에 고정하는 지그

(라) 시편준비

① 포스트의 지주(stump) 성형을 위한 실리콘 주형제작

투명 실리콘 주형(또는 아크릴)의 내면크기는 4.2 mm X 높이 5 mm로 제작하고 상단에 3mm 폭을 갖는 45° 각도의 경사면을 갖도록 제작한다(그림 5).



1. 지주 성형

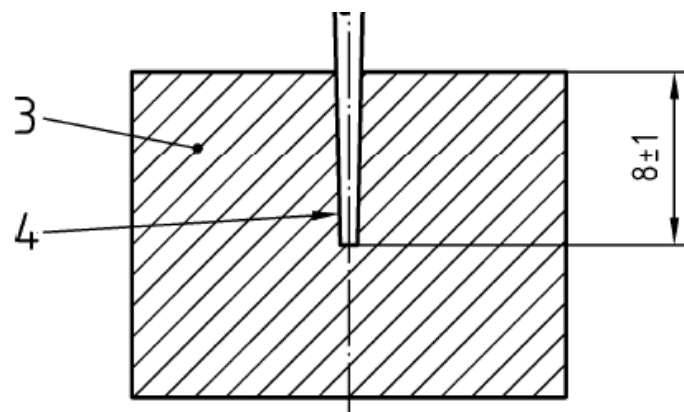
(포스트 지주, 예) 투명실리콘 주형을 이용하여 컴포짓 레진으로 제작)

2. 포스트 시료

그림 5. 투명실리콘 주형을 이용하여 성형된 지주의 치수

② 포스트 지주 고정을 위한 베이스제작

포스트를 고정하기 위한 베이스는 PMMA(또는 아크릴글라스)를 이용하여 지름 20 mm X 높이 15mm의 크기로 제작한다. 베이스의 중심부에는 0.8mm (포스트의 지름보다 0.1 mm 크게)의 홀을 8 ± 1 mm 깊이로 뚫는다(그림 6).



1. 베이스 재료 (PMMA 또는 아크릴 글라스)

2. 포스트 시료

그림 6. 포스트 시료고정을 위한 베이스

④ 포스트의 베이스 부착 및 지주성형 (Attached post stump build-up)

- 베이스부착

포스트 표면을 제조자가 제시하는 방법대로 준비한다. 미리 준비된 베이스의 중심구멍에 제조자가 추천하는 접착제를 홀 안에 넣고 즉시 표면 처리된 포스트를 구멍안에 천천히 밀어 넣는다. 이때 과량의 접착제가 흘러나오면 제거한다. 접착제 제조자의 사용설명서에 따라 접착제를 경화시킨다(예 광중합 등).

- 지주 성형

포스트가 베이스에 완전히 경화된 후, 미리 준비된 투명 실리콘 주형을 이용하여 포스트상부에 그림 5와 같은 크기의 지주를 성형한다.

비고) 주조나 다른 방법을 사용하여 포스트에 코어를 성형하는 경우에도 동일하게 그림 5와 같은 크기로 지주를 제작하여 시료를 완성한다.

⑤ 시료수

최소 8개의 시료를 제작한다.

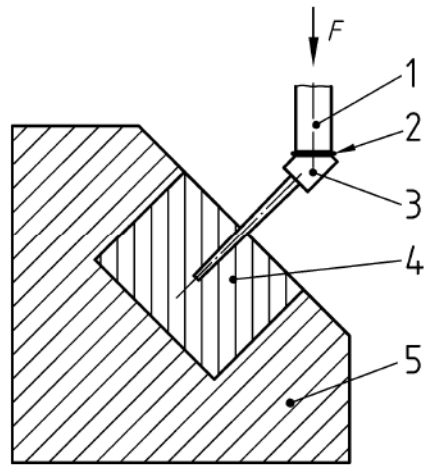
⑥ 시료의 보관

지주성형 및 베이스 고정이 끝난 포스트는 시험 전까지 $(23 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ 에서 (24 ± 1) 시간동안 보관한다.

(마) 시험절차

① 시험

준비된 지주성형 및 베이스 고정이 끝난 포스트 시료를 만능시험기의 고정지그에 고정한다. 시험기기에서 1N에서 5N사이의 초기 하중(F)을 그림 7과 같이 지주 성형된 포스트 상단에 가한다. 압축하중을 $1.5 \pm 0.5 \text{ mm/min}$ 의 속도로 최대하중의 20 %이하로 떨어지거나 시료의 파절이 나타날 때까지 하중을 가한다.



1. 시험기기의 하중부
2. 알루미늄 박
3. 지주 (예, 컴포짓레진, 금합금 등)
4. 베이스 (예, PMMA 또는 아크릴글라스)
5. 고정지그

그림 7. 포스트 시료의 고정지그 고정방법

② 결과의 계산

8개의 시료에서 측정된 최대하중 (maximum force)의 평균값과 편차를 기록한다. 만약 추가적인 탄성한계 또는 강성(탄성계수)을 계산하여야 할 경우에는 측정된 하중(N)-변위(mm) 수치를 이용하여 아래 그림 8을 참조하여 계산한다.

특히 포스트에서 탄성계수는 0.05 mm의 변위를 보인 점에서 측정하는 것이 추천되며 강성에 대한 표시단위는 (N/0.05mm)로 한다.⁸⁾

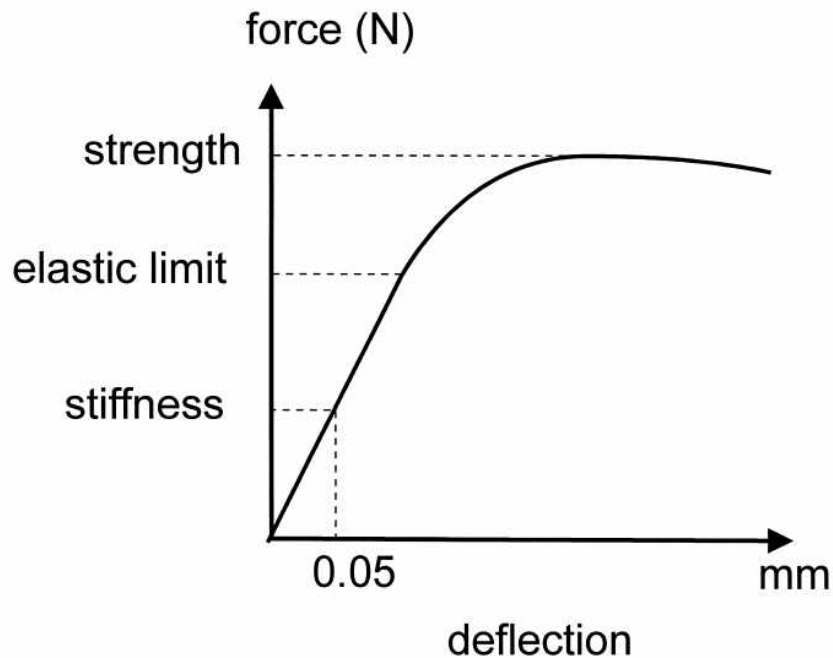


그림 8. 포스트 시료의 굴곡시험을 통한 하중-변위 곡선

만약, 포스트의 지름과 베이스 끝단의 고정점과 하중점 사이의 거리(l)을 이용하여 응력을 구하고자 한다면 다음의 식을 이용할 수 있다.

$$S = \frac{32}{\pi} \frac{F \cdot l}{d^3} \quad 9)$$

S : 응력, F : 최대하중 (N), l : 고정점과 하중점 사이의 포스트거리
 d : 포스트의 평균지름

(2) 부식저항성

(가) 관련 규격

ISO 10271 : Dentistry-Determination of tarnish and corrosion of metal and alloys

(나) 시험목적

금속제 근관포스트는 잘못된 시술 또는 시술 후 치아에 파절이 발생했을 경우 체액 및 외부 물질에 의해 부식이 발생할 가능성이 있으며, 이는 근관포스트의 물리적 특성 또는 생물학적 안전성에 문제를 야기할 수 있는 잠재적인 위험성이 있으므로 금속제 근관포스트의 안전성을 확보하기 위해 부식성을 평가할 필요가 있다. ISO 10271은 치과용 금속재료 전반에 대한 부식시험법을 다루고 있다. 금속제 포스트는 주로 금, 티타늄, 스테인리스 스틸 강의 재료를 적절한 가공공정을 통해 제조하므로 본 가이드라인에서는 ISO 10271의 가공용 금속 및 합금에 대한 시험법을 제시한다. 구강 내에서 예상되는 금속이온의 용출조건보다 강한 실험실 조건 하에서 유리되는 금속이온의 정량적인 데이터를 제공하는데 사용된다.

(다) 시약 및 재료

- 젯산($C_3H_6O_3$), 90 %, 분석 등급
- 염화나트륨($NaCl$), 분석 등급
- 물, KS M ISO 3696 표준에 따르는 등급 2에 상응
- 에탄올 혹은 메탄올(C_2H_5OH 혹은 CH_3OH), 분석 등급
- 오일과 물의 오염이 없는 압축공기

(라) 시험기구 및 장치

- 봉규산염 유리 재질의 용기로서 내측 지름이 16 mm이고 길이가 160 mm

- pH 미터, 민감도가 ± 0.05 pH를 갖는 것
- 화학성분 분석장치, $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 정밀도로 이온농도를 측정장치(ICP-OES, MS)
- 마이크로미터, 측정정밀도가 0.01 mm인 것
- 샌드페이퍼, ISO 6344-1:1998 규격에 적합한 탄화실리콘 연마지
- 전해액

0.1 mol/L 젖산과 0.1 mol/L 염화나트륨을 포함하는 용액을 시험 전에 즉시 준비한다. 예를 들어, (10.0 ± 0.1) g의 90 % $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ 와 (5.85 ± 0.005) g의 NaCl를 약 300 ml의 물과 혼합한다. $(1,000 \pm 10)$ ml가 되도록 물로 희석한다. pH가 2.3 ± 0.1 이 되도록 한다.

(마) 시편의 준비

시료를 그대로(As-received condition) 시험한다. 각 시편의 표면적을 $\pm 0.1 \text{ cm}^2$ 정밀도로 측정한다. 초음파 세척기를 이용하여 2분 동안 에탄올 혹은 메탄올로 시편을 세척한다. 증류수로 세척한다. 기름이나 물이 없는 압축공기로 건조한다. 표면적을 계산하기 쉬운 형태로 가공하는 경우에는 시료의 최종 판매상태와 동일한 표면이 되도록 한다.

(바) 시험 방법

시료가 서로 닿거나 시료의 표면이 유리용기에 닿지 않도록 최소로 고정하거나 선 또는 점접촉되도록 용기 내에 위치시킨다. 용액의 pH를 기록한다. 샘플 표면적 1 cm^2 당 1 ml 비율이 되기에 충분한 용액을 용기에 첨가한다. 시편은 용액에 잠기도록 한다. 0.1 ml의 정확도로 용액의 부피를 기록한다. 용액의 증발을 막기 위해 용기의 뚜껑을 닫는다. 재료에 따라 최소 7일에서 최대 52일의 시험기간 동안 $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ 를 유지한다. 시료를 용기로부터 꺼내고 남은 용액의 pH를 기록한다.

시편과 함께 보관된 용액과 동일하게 유지된 부식용액을 대조군 용액으로 한다. 시료와 함께 보관된 용액의 부피측정과 마찬가지로 참조용액에 대한 부피도 0,1 ml 단위로 기록한다. 용액의 증발을 막기 위해 용기의 뚜껑을 닫고 $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ 의 보관조건에서 시료의 보관 시간과 동일하게 보관한다.

(사) 시험용액의 성분분석

용액을 정성 또는 정량적으로 분석한다. 합금의 조성을 구성한 원소는 기록한다. 대조군 용액에서 측정된 용액성분은 측정된 결과에서 가감하여야 하며, 붕소, 탄소 또는 질소와 같은 성분은 제외한다.

(아) 시험보고서

시험보고서에는 다음 내용을 포함 한다.

- 분석방법과 모든 관찰된 성분의 검출 한계를 기록한다.
- 샘플준비과정에서 만들어진 편차를 보고한다.
- 시료를 만들기 위해 사용된 시편의 수를 기록한다.
- 각 시험에서의 각 성분을 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 7일 단위로 기록한다. 전체 이온 용출량의 평균값을 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 7일 단위로 기록한다.
- 석출물과 같이 용해되지 않는 부식산물과 시편표면의 변색 정도를 기록한다.

(3) 방사선 불투과성

(가) 관련 규격

ISO 4049 : Dentistry - Polymer-based restorative materials

(나) 시험목적

근관포스트의 경우 시술이 끝난 후 상아질 속에 존재하므로, 시술 후 환자의 사후 관리를 위해 정기적인 검사나 재수술의 여부를 판독하기 위해서는 X선 촬영 시 상아질 대비 근관포스트의 방사선 불투과도가 구별할 수 있는 정도가 되어야 한다. 이에 컴포짓 근관포스트 등 고분자계는 방사선 불투과성 시험이 필요하다.

(다) 시험 장비

① 기존 필름현상 장비

- 단상 치과용 X-선 장비, 1.5 mm 알루미늄에 해당하는 전체 투과도를 가지고 (65±5) kV의 작동 범위를 가지는 것. 치과용 X-선 교합면 필름, 속도 그룹 D(ISO 3665에 구분되어 있음)에 속하고, “일반적으로 사용되는” 패킷 안에 동봉되어 있다.

- 광학 밀도계, 백색광을 사용하고, 0에서 3.0의 범위에서 0.01의 해상도로 광학 밀도를 측정할 수 있는 것으로서, (2.5 ± 0.5)의 광학 밀도를 가지고 있다고 알려진 표준물질을 이용하고 (2.0 ± 0.1) mm의 조리개를 사용하여 0.01의 정확도로 영점 조정된 것을 사용한다.

② 디지털 장비 (지름이 작은 포스트 시료에 추천됨)

디지털 X-선 장비 또는 단상 치과용 X-선 장비, 1.5 mm 두께의 알루미늄에 해당하는 전체투과도를 가지고 (65 ± 5) kV의 작동 범위를 가지고 있는 것을 사용한다.

교합면 필름 크기의 X-선 센서, 예를 들어 전하결합소자(CCD), 그리고 광자 극성 인광 물질이 도포된 판(영상판)을 말하며, 단상 치과용 X-선 장비와 함께 사용하기 위하여 적절한 소프트웨어로 영점 조정된 것을 사용한다.

③ 색 색상 분석 소프트웨어

상업적으로 사용 가능한 적합한 제품은 Adobe®Photoshop®¹⁾ 등이 있다.

④ 알루미늄 스텝 웨지, 최소 98 %(질량비)미만의 알루미늄, 0.1 %(질량비) 미만의 구리, 그리고 1.0 %(질량비)미만의 철이 존재하는 순도를 가진 것으로서, 길이 50 mm×폭 20 mm, (0.50 ± 0.01) mm의 동일한 간격 폭으로 0.5 mm부터 5.0 mm까지 두께 범위를 가지고 있는 것을 사용한다.

⑤ 마이크로미터 게이지 또는 동등한 성능의 기기, 0.01 mm의 정확도를 가진 것을 사용한다.

⑥ 납판, 최소 2.0 mm의 두께를 사용한다.

1) Adobe Systems Incorporated, 345 Park Avenue, San Jose, CA 95110-2704로부터 제공된다. 이 정보는 이 기준규격의 사용자 편의를 위하여 제공되며, 이러한 이름을 가진 제품에 대해서 본 가이드라인이 보증하는 것은 아니다. 만약 동일한 결과를 제공하는 다른 제품이 있다면 해당되는 제품을 사용해도 된다.

(라) 시험 절차

① 기존 장비

시편 두께(T_s)를 0.01 mm의 정확도로 측정한다. 이것은 방사선 불투과성 결정에 사용하는 시편 두께의 측정이다. X-선 필름을 납판위에 위치시킨다. 시편과 알루미늄 스텝 웨지를 필름의 중앙 부위에 놓는다. 시편, 알루미늄 웨지 그리고 필름에 (65 ± 5) kV의 X-선을 목표 필름으로부터 300 mm에서 400 mm 거리에서 방사하고, 작업 후 시편과 알루미늄의 광학 밀도 범위가 1.5 와 2 사이가 되어야 한다.

비고) 10 mA에서 0.3 ~ 0.4 초의 노출이 통상적인 조건이다.

필름을 현상 및 고정한 후, 시편의 이미지를 확인하여 광학 밀도를 측정한다. 광학 밀도계를 사용하여 시편중앙 부근의 시편 이미지의 광학 밀도를 측정하고 알루미늄 웨지 이미지의 각 스텝의 광학 밀도를 측정한다.

② 디지털 장비

- 측정은 기존의 장비에서 사용되던 동등한 방법으로 시행하여야 한다(예, 회색도 값을 측정하고 비교함). 이미지를 얻기 전에 디지털 X-선 시스템의 소프트웨어를 사용하여 자동획득 조절 장치(auto gain control)를 해제시킨다.

비고 1) 시험 결과 이러한 장비는 본 시험의 목적을 위하여 자동 획득 조절 장치 없이 사용되는 것이 바람직하다.

- 시편 두께를 0.01 mm의 정확도로 측정한다. 이는 방사선-불투과도 측정에 사용하여야 하는 두께의 측정이다. X-선 센서를 납판위에 위치시킨다. 시편과

- 알루미늄 스텝 웨지를 센서의 중앙 부위에 올린다. 자동 획득 조절 장치 없이 음극의 목표 필름으로부터 400 mm의 거리에서 X-선을 시료와 스텝웨지에 방사한다. 명확한 이미지를 얻기 위하여 적절한 노출 시간을 찾는 절차를 반복한다.

비고 2) 노출이 기존의 X-선 필름에 비하여 5 ~ 10 배 정도 길어질 수 있다.

- 디지털 이미지 파일을 회색도 분석 소프트웨어로 불러온다. 회색도 수는 소프트웨어에서의 측정 툴을 이용하여 평가된다. 디지털 이미지의 회색도 수는 픽셀로 정의되는 2 진수(bits)에 의하여 결정된다.

- 회색도 분석 소프트웨어 선택 툴을 사용하여, 시편 이미지에서 측정된 직사각형 면적을 결정한다. “이미지” 기능을 클릭하고 나서 “히스토그램” 기능을 클릭한다. 이는 해당 면적의 평균 회색도를 나타내준다. 이 절차를 스텝 웨지의 각 스텝마다 반복한다.

- 회색도에서는 가장 어두운 회색도가 보통 영점으로 결정되고, 반면 가장 밝은 회색도가 255 의 값으로 결정된다. 이 값은 X-선 필름 밀도의 역순이다.

③ 결과의 해석

- 알루미늄 스텝의 각각의 스텝 두께에 대한 개개의 광학 밀도를 도표로 만든다. 시편의 두께에 따른 밀도값(T_s)을 얻고, 도표로부터 이 광학 밀도에 해당되는 알루미늄의 두께(T_a)를 결정한다. 시편의 방사선-불투과도(알루미늄 동량값) 값은 (T_a/T_s)에 의해 결정한다.

나. 생물학적 안전성 평가 방법

근관포스트의 생물학적 안전성 평가는 「의료기기의 생물학적 안전에 관한 공통기준규격」(식품의약품안전처 고시 제 2013-64호)를 따른다. 본 가이드라인에서는 세포독성 및 감작성 시험방법에 대하여 소개하고자 한다.

(1) 세포독성 시험

(가) 관련 규격

ISO 10993-5 : Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity

ISO 7405 : Dentistry-Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry

(나) 시험목적

근관포스트는 치근관에 삽입되어 상아질에 직접적으로 접촉한다. 이에 본 방법은 근관포스트의 세포에 대한 독성을 평가하기 위해 고안되었다.

(다) 장비

- 배양용기 : 세포배양에 적합한 용기. 예를 들면, 유리 배양용기, 플라스틱 배양 플라스크, 플라스틱 다중 배양판, 마이크로타이터 플레이트 등.
- 양성대조물질 : 시험할 때 재현성 있는 세포독성을 일으키는 물질로 오르가노틴으로 안정화된 폴리우레탄 또는 페놀 희석액. 그 외에 순수 화학물질도 시험 시스템의 성능 입증에 위해 사용 가능하다.
- 공시험액 : 용출용기, 용출용매, 용출과정에서 교란될 수 있는 영향을 평가하기 위하여 시험검체와 동일한 조건 및 방법으로 용출한 시험검체가 들어있지 않은 용출 용매

- 음성대조물질 : 세포의 기본적인 반응의 정도를 결정하기 위한 목적으로 사용되는 것으로 세포독성반응을 일으키지 않는 물질. 예를 들면, 고밀도 폴리에틸렌, 알루미늄 옥사이드, 세라믹 등.
- 시험검체 : 본 실험에서 생물학적 안전성 평가의 대상이 되는 원자재, 구성요소, 용출물 또는 용출물의 일부.

① 용출용매

용출용매는 시험 검체의 화학적 특성을 고려하여 선택하고, 그 선정 근거를 제시하고 기록해야 한다. 포유동물세포를 이용한 시험은 다음의 용매 중 하나 또는 그 이상을 사용한다.

- 혈청을 첨가한 배양액
- 생리식염수
- 기타 적절한 용매

② 용출 조건

용출은 멸균된 화학적으로 불활성인 밀폐 용기 내에서 무균기법으로 시행하며 아래에 제시한 용출조건이 추천된다.

- $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ 에서 (24 ± 2) 시간
- $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$ 에서 (72 ± 2) 시간
- $(70 \pm 2)^\circ\text{C}$ 에서 (24 ± 2) 시간
- $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$ 에서 (1 ± 0.2) 시간

- 세포주 : 인증된 곳에서 공급하는 세포주를 사용하며, 근관포스트의 생체적합성을 평가하기에 추천할 만한 세포주로는 NCTC clone 929; L-929 (KCLB No. 10001) 이다.
- 배양액 : 멸균된 상태이어야 하며, 선택된 세포주의 성장요건에 적합해야 한다. 본 시험에서는 L-glutamine을 포함한 RPMI 1640과 10% 우태혈청(Fetal Bovine Serum)이 혼합된 세포배양액이 추천된다.

(라) 시험 방법

- ISO 10993-5 및 ISO 7405에서는 체외(*in vitro*) 세포독성시험방법으로 의료기기 자체 또는 용출물을 접촉시켜 확산을 통해 세포를 배양하는 직접 접촉법과 간접 접촉법을 명시하고 있다.
- 세포의 배양
 - NCTC clone 929 세포를 5% CO₂조건의 37℃에서 성장상 로그 곡선의 마지막에 도달할 때까지 배양한다.
 - Trypsin EDTA를 사용하여 세포를 배양 플라스크(T75 flask)로부터 떼어내어 세포현탁액을 만든다.
 - 노폐물 등의 이물질을 제거하기 위해 세포현탁액을 1000rpm에서 3분 동안 원심분리 한 뒤 상층액을 제거하고 배양액에 현탁시킨다.
 - 세포의 농도가 2.5×10^5 cells/mL가 되도록 희석하여 직경 10cm의 페트리디시에 10mL 분주하고 탄산가스 배양장치를 사용 또는 사용하지 않고 (37 ± 1) °C에서 (24±2)시간 동안 배양한다.

<직접 접촉법>

가) 용출물 시험

- NCTC clone 929 세포를 상기 배양 조건에 따라 배양한다.
- 배양된 세포가 배양용기에 부착되어 자란 정도가 배양용기 면적의 80 % 이상일 때 배양용기로부터 배양액을 제거하고 용출물 또는 희석한 용출물을 각각의 용기에 분주한다.
- 같은 종류의 용기에 별도로 공시험액, 음성 및 양성대조군을 둔다.
- 탄산가스 배양장치를 사용 또는 사용하지 않고 (37 ± 1) °C에서 최소 24 시간 이상 배양한 후 평가기준에 따라 세포독성을 판정한다.

나) 직접접촉법에 의한 시험

- NCTC clone 929 세포를 상기 배양 조건에 따라 배양한다.
- 배양된 세포가 배양용기에 부착되어 자란 정도가 배양용기 면적의 80 % 이상일 때 배양용기로부터 배양액을 제거하고 신선한 배양액을 각각의 용기에 분주한다.
- 각각의 용기 중앙의 세포층에 근관포스트를 조심스럽게 올려놓는다.
- 같은 종류의 용기에 별도로 공시험액, 음성 및 양성대조군을 둔다.
- 탄산가스 배양장치를 사용 또는 사용하지 않고 (37 ± 1) °C에서 최소 24 시간 이상 배양한 후 평가기준에 따라 세포독성을 판정한다.

<간접 접촉법>

가) 한천 확산법

- NCTC clone 929 세포를 상기 배양 조건에 따라 배양된 세포가 배양용기에 부착되어 자란 정도가 배양용기 면적의 80 % 이상일 때까지 배양한다.
- 멸균한 3% 아가로스 용액과 우태혈청(FBS)를 20% 함유한 세포배양액을 48°C로 맞춘 뒤 1:1의 비율로 혼합하여 세포층 위에 10mL 분주한 뒤, 40분 동안 상온에서 고형화시킨다.
- 고형화된 아가로스 층에 0.01% neutral red 용액을 10mL 분주한 뒤 30분에 걸쳐 아가로스 층으로 스며들도록 한다. Neutral red 용액은 빛에 노출될 경우 변성이 일어날 수 있으므로 차광조건을 유지하도록 한다.
- 아가로스 층으로 스며들지 않은 neutral red 용액을 제거하여 세포 독성을 평가하기 위한 아가 배지를 완성한다.
- 완성된 아가 배지 위에 직경 5mm의 보로실리케이트 microglass 필터디스크를 놓고 그 위에 0.01mL의 시료 용출액을 분주한다.
- 탄산가스 배양장치를 사용 또는 사용하지 않고 (37 ± 1) °C에서 최소 24 시간 이상 배양한 후 평가기준에 따라 세포독성을 판정한다.

나) 여과막 확산법

- NCTC clone 929 세포를 5% CO₂조건의 37℃에서 성장상 로그 곡선의 마지막에 도달할 때까지 배양한다.
- Trypsin EDTA를 사용하여 세포를 배양 플라스크로부터 떼어내어 세포현탁액을 만든다.
- 노폐물 등의 이물질을 제거하기 위해 세포현탁액을 1000rpm에서 3분 동안 원심분리 한 뒤 상층액을 제거하고 배양액에 현탁시킨다.
- 직경 60mm의 페트리디시 바닥에 셀룰로스 아세트산염 필터를 위치시킨 후, 세포의 농도가 2.5×10^5 cells/mL가 되도록 희석한 뒤 세포현탁액 6mL를 분주하고 (24±2)시간 동안 배양한다. (ISO 7405에서는 셀룰로스 아세트산염 필터의 예로 Millipore HATF 04700을 제시하고 있으나 해당 제품을 보증하는 것은 아니라고 명시하고 있다.)
- 셀룰로스 아세트산염 필터가 있는 페트리디시에 있는 과잉의 세포배양액을 흡인하고, 필터를 (37±2)℃의 인산염 완충 식염수 용액으로 씻는다.
- 페트리디시로부터 떼어낸 셀룰로스 아세트산염 필터를 세포가 자란 면이 아래가 되도록 하여 고형화된 한천층 위에 놓는다. (고형화된 한천층을 만드는 방법은 '아가 확산 시험'의 시험절차를 참고한다.)
- 필터의 세포가 없는 면에 반응성이 없는 고리를 놓고 시료 용출물 0.01mL를 분주한다. 고리를 놓는 이유는 시료 용출물이 필터 밖으로 흐르지 않게 하기 위함이다.
- 2시간±10분 동안 세포가 담긴 용기를 배양한 후, 평가 기준에 따른 세포 독성 여부를 결정한다.

(마) 결과 처리

- 세포 독성을 결정하기 위한 평가는 생물학적안전에 관한 공통기준 또는 적절한 국제규격의 요구사항을 따른다. 이는 화학적 염색법을 이용하여 세포를 염색한 뒤, 세포형태 변형, 세포 용해, 세포막 상태 변화 등에 의한 탈색의 면적을 관찰하는 것이다.
- 세포 탈색의 면적을 관찰하기 위해서는 일정한 조건에서의 사진 촬영이 필요하다. 그에 따라 외부의 광원을 차단하고 일정한 광원이 설치된 곳에서의 사진 촬영이 바람직하다. (그림 9)

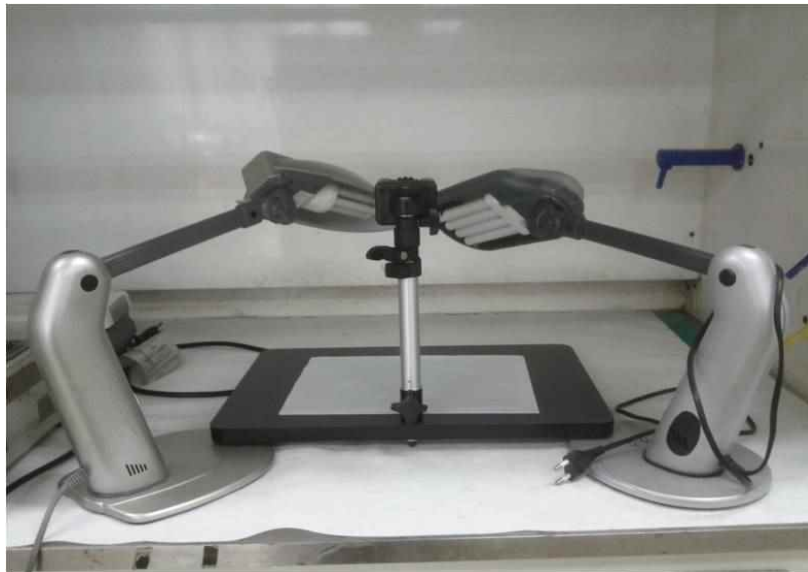


그림 9. 세포독성 시험 평가를 위한 촬영 조건

(2) 감작성 시험

(가) 관련 규격

- ISO 10993-10 Biological evaluation of medical devices- Part 10: Tests for irritation and delayed-type hypersensitivity
 - 6.4 지연성 과민반응에 대한 극대화시험
 - 부록 C.2 지연성 과민반응을 위한 감작성에 대한 배경
- ASTM F2148-07 Standard practice for evaluation of delayed contact hypersensitivity using the murine local lymph node assay (LLNA)
 - 5 Significance and use
 - 6 Preparation of test specimens
 - 7 Preparation of positive controls
- 식품의약품안전처 고시 제 2013-64호 「의료기기의 생물학적 안전에 관한 공통기준규격」 제 9 장 자극성과 과민반응시험¹⁰⁾

(나) 시험목적

- 사람에게서 감작은 1회 또는 반복적인 노출 이후에 나타나며 면역 체계 요소에 의해 시작되고 유도된다. 감작성 시험은 근관포스트에 의해 발생할 수 있는 잠재적인 자극성과 감작을 측정하기에 유용하다.

(다) 시험방법

- 일반적으로 진행되는 지연성 과민반응 시험에는 기니피그 극대화시험 (Guinea Pig Maximization Test; GPMT)이 사용된다.
- 최근에 쥐과의 국부적 림프절 평가 방법 (Murine Local Lymph Node Assay; LLNA)이 단일 화학 물질을 시험하기 위한 기니피그 평가 방법의 대안

으로 동물 관리를 향상시킬 수 있다는 점에서 OECD(Organization for Economic Cooperation and Development)의 승인을 받는 등 국제적으로 인정받고 있다. 이에 본 가이드라인에서는 근관포스트의 감작성을 평가하기 위해 쥐과의 국부적 림프절 평가 방법이 추천된다.

<기니피그 극대화시험>

가) 실험동물

- 단일교배종으로 암, 수 구별없이 무게가 300~500 g의 젊고 건강한 단일교배종 알비노 기니피그를 사용한다. 암컷의 경우, 출산 경험이 없고 임신하지 않은 것이어야 한다.
- 실험군은 10마리, 대조군은 5마리로 하여 크게 시험물질군, 용매대조군, 양성물질군으로 분류하고 22℃(±3℃), 상대습도 50%(±5%), 12시간의 채광, 12시간의 암실조건에서 시험 전까지 사육한다.

나) 검액 제조

- 근관포스트의 용출액은 생리식염수 또는 Cotton seed oil을 사용하여 상기 [나. (1)]항의 세포독성 시험에서 제시한 용출액 제조 조건과 동일하게 용출액을 제조한다.

다) 예비시험 방법

- 예비시험은 본시험에 사용될 시험검체의 농도를 결정하기 위한 것으로, 통상적인 용매로 용출하고 용출물을 희석하지 않는 경우, 예비시험의 대상으로 하지 않는다.
- 최소한 3마리 동물의 옆구리에 일정 범위의 희석된 시험검체를 국소적으로 적용한다. 24시간 후에 첩포와 폐쇄드레싱을 제거하고, [표 4]에 제시된 매그

누슨과 클리그만 등급(Magnusson and Kligman grading)을 이용하여 적용부위를 평가한다.

- 약간의 홍반은 수반하지만 동물에게 부작용을 일으키지 않는 범위 내에서 가장 높은 농도를 선정하여 본시험의 국소적 유도단계에 적용하며, 본시험의 유발 단계에서는 홍반을 일으키지 않는 범위에서 가장 높은 농도를 선정한다.

표 4. 매그누슨과 클리그만 (Magnusson and Kligman) 등급표

칩포(patch) 시험 반응	등급
눈에 띄는 변화 없음	0
분리성 또는 반성 홍반	1
중간 정도의 홍반과 융합성 홍반	2
심한 홍반과 부풀어 오름	3

라) 본시험 방법

• 피내 유도단계

- ① 그림 10과 같이 털을 제거한 견갑골 내 부위(intrascapular region)에 있는 주사부위(A, B, C)에 검체 0.1mL를 피내 주사한다.
- ② 부위 A에는 프루인드 완전 보조제의 안정된 유화 액을 선정된 용매와 50 : 50 (v/v)의 비율로 혼합한다. 수용성 물질의 경우에는 생리식염수(BP, USP 또는 이에 상응하는)를 사용한다.
- ③ 부위 B에는 시험검체 (희석하지 않은 용출물)을 주사하며, 대조동물에는 용매만을 주사한다.
- ④ 부위 C에는 부위 B에 사용된 농도와 같은 농도의 시험검체를 프루인드 완전 보조제 에멀전과 용매를 50 : 50 (v/v)으로 혼합하여 유화시킨다. 대조동물에는 보조제와 공시험액 혼합물을 주사한다.

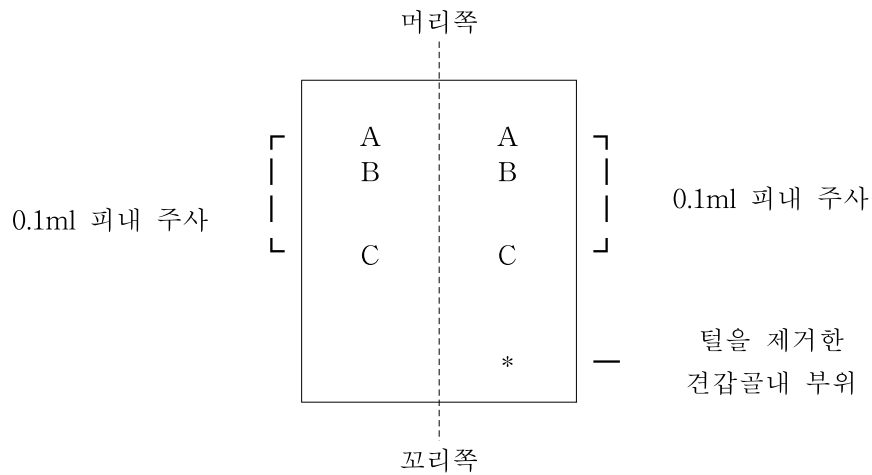


그림 10. 피내 주사 부위의 위치

• 국소 유도단계

- ① 피내유도단계가 완료된 후 7일(± 1 일)이 지나면 피내 주사부위를 덮을 수 있도록 8cm^2 크기의 철판(여과지 또는 흡수성 거즈)를 이용하여 피내 유도단계에서 그림 9의 부위 B에 투여한 농도에 맞춰서 전갑골 내 부위에 국소적으로 적용한다.
- ② 피내유도단계에서 구할 수 있는 최대농도가 자극을 일으키지 않으면, 시험 물질 적용 24 ± 2 시간 전에 10% SDS로 해당부위를 전처리한 후, 폐쇄드레싱으로 적용부위를 보호한다.

• 유발 단계

- ① 국소유도단계가 완료된 후 14일(± 1 일)이 지난 뒤, 시험검체로 모든 시험동물과 대조동물을 유발시킨다. 유도단계가 진행되는 동안 처리하지 않은 부위(옆구리 위쪽 부위)에 피내유도단계에서 부위 C에 적용한 농도의 시험검체와 용매 대조군을 국소적으로 적용하고 폐쇄드레싱으로 보호한 후, 24 ± 2 시간이 지난 후에 드레싱과 철판을 제거한다.

마) 동물의 관찰

- 드레싱을 제거하고 24시간, 48시간 후에 시험동물과 대조동물의 유발된 피부부위의 모습을 관찰한다.
- 피부 반응의 시각화를 위해 전 파장 조명이나 자연 조명을 이용한다.
- [표 4]에 제시된 매그누슨과 클리그만 등급에 따라 각각의 적용부위에 대한 피부홍반과 부종반응 등급을 매기고 설명을 추가한다.
- 선입견을 배제하기 위하여 처리방법에 대한 정보 없이 해석하도록 한다.

바) 결과처리

- [표 4]의 매그누슨과 클리그만 등급을 이용하여 감작성을 평가한다.
- 대조동물의 매그누슨과 클리그만 등급이 1등급 미만을 나타내고, 시험군에서 1등급 이상인 경우 일반적으로 감작성을 나타낸다고 할 수 있다.
- 시험결과는 시험동물과 대조동물의 양성유발결과의 빈도수로 표시한다.
- 경우에 따라 대조동물과 시험동물의 반응의 차이가 불분명하지만 빈도수에서 차이가 날 경우가 있는데, 이런 경우에는 반응을 명확하게 규정하기 위해 재유발이 필요할 수도 있다.

[참고자료] 국소 림프절 평가 방법, LLNA(Local Lymph Node Assay)

개정된 ISO 10993-10:2010에 새롭게 추가된 동물대체시험법을 아래와 같이 소개하고자 한다.

(가) 실험동물

- 생후 7주에서 12주 사이의 건강하고 임신 경험이 없는 CBA/Ca나 CBA/j mice 암컷을 사용할 것이 추천된다.
- 22°C (±3°C), 상대습도 50% (±5%), 12시간의 채광, 12시간의 암실조건에서 시험 전까지 사육한다.
- 각 음성대조군, 양성대조군, 시험군에는 적어도 다섯 마리 이상의 마우스가 포함될 수 있도록 한다.

(나) 검액 제조

- ① ASTM F2148에서는 주로 용출이 이루어지는 용매로는 극성용매는 물, 비극성 용매로는 DMSO (n-dimethylsulfoxide) 또는 AOO (acetone olive oil solution)를 제시하고 있다.
- ② 상기 용출액을 사용하여 [나. (1)]항의 세포독성 시험에서 제시한 용출액 제조 조건과 동일하게 용출액을 제조한다.

(다) 양성대조군

- ASTM F2148에서는 추천하는 양성대조군으로는 주로 용출이 이루어지는 용매로는 극성용매는 Neutral buffered formalin가 있다.

(라) 본시험 방법

- 시험 1일 : 동물의 개체를 식별하고 체중을 측정한 뒤, 시험군, 대조군 각각의 귀 뒤쪽에 용출물을 25μL씩 도포한다. 그 후, 마우스 귀의 홍반 및 부종

을 관찰한다.

- 시험 2일~3일 : 시험 1일과 마찬가지로 시험군, 대조군 각각의 귀 뒤쪽에 용출물을 25 μ L씩 도포한 뒤, 마우스 귀의 홍반 및 부종을 관찰한다.
- 시험 4일 : 마우스 귀의 홍반 및 부종을 관찰한다.
- 시험 5일 : 5-Bromo-2'-deoxy-Urdine(BrdU)를 10mg/mL의 농도로 PBS에 희석하여 제조한 뒤 마리당 0.5mL씩 복강에 투여한다.
- 시험 6일 : BrdU 투여 24시간 후 마우스를 희생시킨 뒤, 양쪽 귀의 중앙 부분에서 직경 6mm punch를 이용하여 채취 후 무게를 측정하고 PBS에 보관한다. 림프절 세포를 분리하여 15mL의 PBS에 현탁시키고 다음 과정에 따라 BrdU-ELISA 분석을 실시한다.

- ① 96 well plate에 세포현탁액을 100 μ L씩 분주하고 PBS를 제거한다.
- ② 60 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 건조시키거나, 300g에서 10분동안 원심분리한다.
- ③ 각 well에 Fixdenat 200 μ L씩 분주하고 상온에서 30분 동안 incubation 한다.
- ④ Fixdenat을 제거하고 각 well에 anti-BrdU-POD working solution 100 μ L씩 분주하고 상온에서 90분 동안 incubation 한다.
- ⑤ Antibody를 제거하고 PBS로 washing한 후 substrate solution 100 μ L씩 분주한다.
- ⑥ 색의 변화가 나타날 때까지(대략 30분) 상온에서 incubation 한다.
- ⑦ ELISA reader를 이용하여 370nm에서 흡광도를 측정한다.

(마) 결과처리

- 자극 지수(SI)가 3을 초과한다면, 시험은 양성이며 자극 지수를 구하는 방법은 다음과 같다.
- ① $SI = \text{BrdU labelling index} / \text{마우스 (각 그룹당)}$
- ② $\text{BrdU labelling index} = (\text{ABS}_{\text{em}} - \text{ABS blank}_{\text{em}}) - (\text{ABS}_{\text{ref}} - \text{ABS blank}_{\text{ref}})$

5. 참고문헌

- 1) Plotino G, Grande NM, Bedinii R, Pameijer CH, Somma F (2007). Flexural properties of endodontic posts and human root dentin. Dent Mater 23(9):1129-1135.
- 2) <http://www.indiasurgerytour.com/india-dentistry-surgery/india-surgery-root-canal-treatment.html>
- 3) http://www.mgmmumbai.ac.in/dentalcollege/index.php?option=com_content&view=article&id=41&Itemid=48
- 4) Erik A, Anne P, Thomas H (1999). Stiffness, elastic limit, and strength of newer types of endodontic posts. J Dentistry 27:275-278.
- 5) OTTL P, HAHN L, LAUER HC, FAY M (2002). Fracture characteristics of carbon, ceramic and non-palladium endodontic post systems at monotonously increasing loads. J Oral Rehabilitation 29:175-183.
- 6) 510K Premarket Notification, K060075 허가문서
- 7) 藥食機發第0 8 3 1 0 0 2 号, 齒科材料の製造販賣承認申\請等に必要な物理的・化學的及び 生物學的試験の基本的考え方について
- 8) E. Asmussen et al. / Journal of Dentistry 27 (1999) 275 - -278)
- 9) Erik A, Anne P, Thomas H (1999). Stiffness, elastic limit, and strength of newer types of endodontic posts. J Dentistry 27:275-278.
- 10) 식품의약품안전처고시 제 2013-64호 의료기기의 생물학적 안전에 관한 공통 기준규격 제 9 장 자극성과 과민반응시험

[붙임]

§ 근관포스트의 산·학·연 전문가 협의체 위원 §

- | | |
|-------------------------|------|
| ○ 성균관대학교 약학대학 | 박은석* |
| ○ 연세대학교 치과대학 의료기기시험평가센터 | 이상배 |
| ○ 서울대학교 치과대학 치과재료기기평가센터 | 임범순 |
| ○ 대한치과보존학회 | 장지현 |
| ○ ㈜신덴탈 | 신봉희 |

* 동 가이드라인 관련 연구사업 수행 책임자

근관포스트의 시험방법 가이드라인

발행처 식품의약품안전평가원

발행일 2013년 7월

발행인 왕진호

편집위원장 강신정, 정희교

편집위원 김혁주, 윤미옥, 이창형, 이재원, 김진호, 박해대, 이정주, 이희성, 황선진, 허지연,
김산, 조은정, 이종철, 황상철

363-700

충북 청원군 오송읍 오송생명2로 187 오송보건의료행정타운

문의처 식품의약품안전평가원 의료기기연구과, 구강소화기기과

전화: 043-719-4902 ~ 7 / 043-230-0572~8

팩스: 043-719-4900 / 043-719-4000



363-700 충북 청원군 오송읍 오송생명2로 187

오송보건의료행정타운

식품의약품안전평가원 의료기기연구과, 구강소화기기과

TEL : 043)719-4904 FAX : 043)719-4900

<http://www.mfds.go.kr>, <http://nifds.go.kr>

“내가 지킨 청렴실천 모아지면 청렴사회”