

감염근관에서 분리 배양한 세균의 수종 항생제에 대한 감수성 조사

임상수[†] · 김미광[†] · 민정범[†] · 김민정[†] · 박순남[†] · 황호길 · 국중기^{1,*}

조선대학교 치과대학 치과보존학교실, ¹구강생화학교실

본 연구는 치근관 감염병소에서 세균을 분리 및 동정하고, 8종의 항생제들에 대한 분리균주들의 감수성을 조사하기 위하여 실시하였다. 세균에 감염된 27개 치아의 괴사된 치근부 치수조직을 바비드 브로치나 페이퍼 포인트로 무균적으로 채취하였다. 치수가 채취된 부위의 바비드 브로치와 페이퍼 포인트를 500 µl의 1× PBS 용액에 담아 잘 혼합하고, 이를 5% 양혈이 포함된 BHI 한천배지(혈액한천배지)에 도말하여 37°C 혐기성 배양기에서 2-5 일 동안 배양하였다. 혈액한천배지에서 자라난 세균은 16S rRNA 유전자(rDNA) 염기서열결정법을 이용하여 종수준으로 동정하였다. 이들 균주들의 8종 항생제에 대한 감수성은 최소성장억제농도 측정법으로 조사하였다. 본 연구결과, 101개의 세균 집락이 생겼고, *Streptococcus* spp. (29.7%)와 *Actinomyces* spp. (21.8%)가 가장 많이 검출되었다. 이들 균주들 중 9 균주는 실험 도중 소실되거나 액체배지에 자라지 않아서 항생제 감수성 실험에서는 제외되었다. 각 항생제들에 대한 감수성을 조사한 결과, 분리된 균주들 중 80(87.0%) 균주가 클린다마이신에 감수성을 보였으며, 세프록심 아세틸과 테트라사이클린에 69(75.0%)가, 오그멘틴에 66(71.7%) 균주가, 페니실린 G에 63(68.5%) 균주가, 에리트로마이신에 61(66.3%) 균주가, 아목시실린에 41(44.6%) 균주가 감수성을 보였다. 그러나 시플록사신에는 29(31.5%) 균주만이 감수성을 보였다. 이러한 8종 항생제에 대한 균주들의 감수성 양상은 세균 종의 종류보다는 분리된 숙주에 따라 차이가 있었다. 이러한 결과는 치근관 감염질환의 치료에 항생제가 필요할 경우 항생제 감수성검사를 병행하는 것이 효과적임을 시사한다.

Key words □ 16S rDNA, antibiotics, bacteria, endodontic infection, identification, MIC

치수(dental pulp)의 염증은 외상이나 치아우식증과 같은 세균 감염에 의해 발생될 수 있다. 치수가 외상과 같은 외부 자극에 의해 염증을 일으킬 경우에는 자극원을 제거해 줌으로써 병소 부위가 치유가 될 수 있고, 치근단 치주조직의 구조가 재형성됨이 보고되었다(1). 그러나 세균성 염증일 경우에는 치수조직이 괴사가 되고 치근단 치주염 또는 치근단 낭종 등이 발생된다. 치수에 세균이 감염되는 경로는 크게 두 가지로 나눌 수 있다(18, 22). 첫 번째는 치아우식증, 외상에 의한 치아의 파절이나 균열 발생 등의 치아 경조직 파괴, 치근부 백악질의 소실에 의한 상아세관의 노출에 의해 감염되는 경로이다. 두 번째는 치주질환이 발생되어 치은낭이나 치주낭에 존재하는 세균이 치근단으로 이동하여 치수로 감염되는 경로이다.

치근관 감염 질환의 병인론에 있어서 중요한 원인인자가 세균임이 동물실험에 의해 밝혀졌다(7). 또한 혐기성 세균이 치근관 감염(endodontic infection, endodontitis)의 발생에 있어서 중요한 역할을 함이 보고되었다(2, 8, 28). 구강 내에는 약 500여 종의 세균이 존재하지만(21), 치근관 감염 병소에서 세균배양법으로 분리 동정된 균종은 상대적으로 매우 적은 편이다(13, 23, 14). 이러한 이유 중 하나가 현재의 세균배양 기술로는 구강 내 세균 중 중 약 50% 정도만 배양이 가능하다는 것이다(21, 16). 세균

배양법의 단점을 극복하기 위해 분자생물학적 방법을 이용하여 치근관 감염 질환 병소에서 세균 종을 검출하는 연구가 시도되었다(16). 그러나 분자생물학적 방법만을 이용하여 치근관 감염 병소에서 세균 종을 검출할 경우, 치근관 질환의 발생 및 진행에 중요한 역할을 하는 세균 종의 생리학적 특성, 독력 인자 검출 및 세균-숙주 상호작용 등의 병인론 연구에 이용할 세균 균주를 얻을 수 없다는 단점이 있다. 그러므로 치근관 감염질환의 병인론 연구에 이용할 세균을 얻기 위해서는 세균배양법이 필요하다.

급성 치근관 감염질환의 경우 치근단 부위의 골과 연조직까지 진행되어 치근단 농양이나 봉와직염이 발생할 수 있기 때문에 항생제가 치료 보조제로 치주 이용된다. 이러한 경우 임상적인 경험이나 학회지에 보고 된 급성 치근관 감염질환 병소에서 분리 배양된 세균의 항생제 감수성 검사 결과를 참조하여 항생제를 처방한다. 하지만, 한국인의 치근관 질환 병소에서 세균 분리, 동정 및 항생제 감수성 검사에 관한 연구가 미미하기 때문에 항생제 처방시 외국의 연구 결과물을 참조하여 처방하는 경우가 많다. 또한, 항생제 내성 균주는 세균 중 및 서식하고 있는 숙주에 따라 결정되기 때문에 항생제 처방과 동시에 병소에서 세균 종을 분리 배양하고 수종 항생제에 감수성 검사를 실시하는 것이 필요하다. 이러한 항생제 감수성 검사를 시행하지 않고 항생제를 처방하는 것은 현재 사회적으로 문제시 되고 있는 항생제 다제내성 균주의 출현의 원인이 될 수도 있다. 그러므로 본 연구에서는 한국인의 치근관 감염 병소에서 세균을 분리 및 동정하

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 062-230-6877, Fax: 062-224-3706
E-mail: jkkook@chosun.ac.kr

여, 임상적으로 빈번히 사용되고 있는 8종의 항생제에 대한 감수성을 조사하고자 시행하였다.

재료 및 방법

샘플 채취 및 세균배양

조선대학교 부속 치과병원에 근관치료를 위해 내원한 환자 중 항생제를 복용하거나 근관치료를 받던 사람을 제외한 27명 환자로부터 채취한 27개의 감염된 치아를 연구 대상으로 하였다. 샘플링을 할 치아들을 러버댐으로 격리하고, 치관부를 3% 과산화수소, 5% 요오드로 1분간 소독하고, 5% 티오황산나트륨으로 치면의 iodine을 불활성화시킨 다음 근관을 개방하고, 치관부 치수를 무균적으로 제거하였다. 바비드 브로치 또는 페이퍼 포인트를 이용하여 근관 내 내용물을 채취하고 1 ml의 1× PBS에 담아 구강생화학 교실내의 혐기성 세균배양실로 즉시 옮겼다. 채취한 샘플들은 1,000배 희석한 다음 3% tryptic soy broth, 0.5% yeast extract, 0.05% cysteine HCl, 1.5% bacto-agar, 0.5 µg/ml hemin 및 2 µg/ml vitamin K₁이 함유된 한천배지에 도말하여 85% N₂, 5% H₂, 10% CO₂의 혼합가스가 공급되는 37°C 혐기성 배양기 (Model Bactron I, Sheldon Manufacturing Inc., Cornelius, USA)에서 2-5일 동안 배양하였다. 이 때 성장하는 세균 군락의 모양, 색깔, 크기 등을 고려하여 서로 다른 것을 각각 백금이를 이용하여 5 ml의 액체배지에 접종한 다음 혐기성 배양기에서 1-2일간 배양하였다.

세균 유전체 DNA의 추출

세균배양액 3 ml를 12,000 rpm의 원심력을 이용하여 회수하고, 이를 G-spin™ Genomic DNA Extraction Kit (iNtRON Co., Seoul, Korea)를 이용하여 세균 유전체 DNA를 추출하였다. 세균을 회수한 다음 50 µl의 전배양 용액과 3 µl의 라이소자임 용액을 넣고 잘 혼합한 다음 37°C에서 1시간 동안 배양하였다. 여기에 250 µl의 G-완충액 용액을 넣고 잘 혼합한 다음 65°C에서 15분간 반응시키고, 250 µl의 결합 용액을 넣고 교반기를 이용하여 섞어주었다. 이러한 세포 용해질을 G-spin™ column에 넣고 13,000 rpm에서 1분간 원심분리하였다. G-spin™ column에 500 µl의 세척 완충액 A를 넣고 다시 1분간 원심분리하였다. 여기에 500 µl의 세척 완충액 B를 넣고 다시 1분간 원심분리하고, G-spin™ column을 eppendorf tube에 넣어 100 µl의 용출 완충액을 넣고 1분간 실온에 방치한 다음, 미량원심분리기에서 12,000 rpm의 원심력을 이용하여 1분간 원심분리하였다.

PCR을 이용한 16S rDNA의 증폭 및 클로닝

16S rDNA를 증폭할 수 있는 universal PCR 프라이머 쌍(27F와 1492R) (12), AccuPower® Premix (Bioneer Corp., Seoul, Korea) 및 PTC-200 PCR machine (MJ Research Inc., Watertown, USA)을 이용하여 16S rDNA를 증폭하였다. 이때 PCR의 조건은 다음과 같이 시행하였다. PCR 반응 혼합용액이 20 µl가 되도록, 20 pmoles 씩의 27F 및 1492R 프라이머와 100 pg의 세균 유전

체 DNA를 넣고 94°C에서 2분간 초기 변성을 실시한 다음 94°C에서 1분간 변성, 55°C에서 1분간 결합반응, 72°C에서 1분간 합성 반응을 30회 반복 진행시킨 후, 최종 합성 반응을 72°C에서 10분간 진행시켰다. PCR이 끝난 후 20 µl의 반응물 중 2 µl를 Tris-acetate buffer (0.04 M Tris-acetate, 0.001 M EDTA, [pH8.0])를 전해질로 사용하고 1.5% 아가로스 젤을 매질로 이용해서 100 V에서 30분간 전기영동하였다. 증폭물은 ethidium bromide로 염색하여 UV transilluminator로 발색시켜 증폭 여부를 확인하였다.

앞에서 증폭한 16S rDNA를 pGEM-T easy vector (Pormega Corp., Madison, USA)를 이용하여 클로닝하였다.

플라스미드 DNA 추출

E. coli DH5α에 형질전환한 각각의 재조합된 플라스미드 DNA는 AccuPrep™ Plasmid Extraction Kit (Bioneer Corp.)를 이용하여 제조회사의 지시대로 추출하였다. 이를 간략히 설명하면, 세균배양액 1 ml를 30초간 원심분리(10,000 × g)하고, 얻어진 세균 덩어리를 250 µl의 현탁 완충액을 넣고 잘 풀어준 다음, 250 µl 세포 용해 완충액을 첨가하여 천천히 혼합하여, 350 µl의 중화 완충액을 첨가한 즉시 철저히 부드럽게 섞은 후에 얼음에 5분간 방치하였다. 이것을 10분간 원심분리(12,000 × g)하여 상층액을 결합 기둥 튜브에 옮기고, 1분간 원심분리(12,000 × g)하였다. 여과액은 버리고, 결합 기둥 튜브에 700 µl의 세척 용액 (80% 에탄올)을 넣은 후 1분간 원심분리(12,000 × g)하였다. 결합 기둥 튜브에 남아있을 여분의 에탄올을 제거하기 위해 여과액을 버리고, 다시 30초간 원심분리(13,000 × g) 하였다. 결합 기둥을 새로운 튜브로 옮기고, 여기에 100 µl의 용출 완충액을 넣고 1분간 기다린 다음, 다시 1분간 원심분리(12,000 × g)하여 여과액을 -70°C에서 보관하고 핵산염기서열 결정에 사용하였다.

핵산염기서열 결정 및 핵산염기서열의 상동성 검색

핵산염기서열 결정은 바이오니아사(Bioneer Corp.)에 의뢰하여 결정하였다. 이때 사용한 핵산염기서열 결정용 프라이머는 ChDC-GEM-F (5'-TTC CCA GTC ACG ACG TTG TAA AA-3'), Seq-F1 (5'-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3'), Seq-R2 (5'-GAC TAC CAG GGT ATC TAA TCC-3'), Seq-F16 (5'-TAG ATA CCC YGG TAG TCC-3') 및 ChDC-GEM-R (5'-GTG TGG AAT TGT GAG CGG ATA AC-3')를 이용하였으며, 그 결과는 SeqMan 프로그램 (Version 5.00; DNASTAR, Inc., Madison, USA)을 이용하여 분석하였다.

위에서 결정된 핵산염기서열을 미국립보건원에서 제공하는 Blastn 프로그램을 이용하여 상동성을 검색하고, 그 결과 98% 이상 상동성을 보이는 표준균주의 종(species)과 같은 종이라고 판정하였다.

항생제 감수성 실험

Penicillin G (페니실린 G), amoxicillin (아목시실린), tetracycline (테트라사이클린), erythromycin (에리트로마이신) 및 clindamycin (클린다마이신)은 Sigma (St. Louis, USA)에서 구입하여 사용하였다. 또한, Augmentin®(amoxycillin + clavulanic

acid, 5:1)(오그멘틴)은 SmithKline Beecham 사(Brentford, UK), ciprofloxacin (시플록사신)은 삼천당제약회사(Seoul, Korea) 그리고 Cefuroxime axetil (세프록심 아세틸, 세프록심)은 대웅제약회사(Seoul, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 여러 항생제에 대한 최소성장억제농도(minimum inhibitory concentration; MIC)는 Murray와 Jorgensen(17)의 방법에 따라 액체배지 희석법으로 측정하였다. 이를 간략히 설명하면, 각각의 항생제의 농도가 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0 µg/ml씩 되도록 0.1 ml의 액체배지에 조절하였다. 여기에 450 nm의 파장에 대한 흡광도(A450)가 0.05로 일정하게 현탁된 세균배양액을 각각 0.1 ml씩 접종하고, 이를 각각의 세균에 최적의 성장 조건에서 48시간 배양한 후 Microplate Autoreader (Model; EL311SX, BIO-TEX Instruments Inc., Cortland, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 결과 음성대조군인 세균을 넣지 않은 배지의 흡광도 값과 비교하여 ± 0.05 인 값을 갖는 항생제 농도를 MIC 값으로 결정하였다. 감수성 여부 농도는 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)에서 권고한 해석 표준에 따랐다 (Table 1, 19, 20).

결 과

치근관 병소에서 세균 분리 및 동정

본 연구 결과 27명의 치근관 감염 질환 병소에서 세균을 배양한 결과 101 균주를 얻었다(Table 2). 한 샘플 당 평균 3.7개의 균주가 검출되었으며 적게는 1 균주에서 많게는 12 균주가 검출되었다. 이들 균주들의 16S rDNA를 클로닝한 다음, 염기서열 비교법을 이용하여 종 수준에서 동정한 결과, 연쇄상구균(29.7%)과 *Actinomyces* spp. (21.8%) 균주들이 가장 많이 검출되었다(Table 3). 연쇄상구균들 중에서 mitis 군 연쇄상구균, salivarius 군 연쇄상구균, anginosus 군 연쇄상구균 중 *S. constellatus*와 *S. intermedius*는 16S rDNA 염기서열로 동정이 어려웠다. 또한 *A. naeslundii*와 *A. viscosus*, *P. cyclohexanicum*과 *P. freudenreichii*, *P. propionicus*와 *P. avidum*, *S. pasteurii*와 *S. warneri*, *C. sporogenes*와 *C. botulinum* 들도 본 연구에서는 구별할 수 없었다(Table 3). 93/94번 샘플은 한 환자의 한 치아에서 바비드 브로치와 페이퍼 포인트를 이용하여 두 번 샘플링을 하였다. *Actinomyces naeslundii/viscosus* 종과 mitis 군 연쇄상구균이 7개 (25.9%) 샘플에서 가장 빈번하게 검출되었다(Table 2, 3).

분리 및 동정된 균주들의 8종 항생제에 대한 MIC 값

본 연구에서 분리된 균주들의 8종 항생제에 대한 MIC 값은 Table 4에 정리하였다. 분리된 101 균주 중 9 균주는 계대 배양 중 소실(ChDC B634, ChDC B744)되거나 한천배지에서는 자라나지 않지만, 액체배지에서는 배양이 되지 않아서(ChDC B632, ChDC B633, ChDC B647, ChDC B700, ChDC B708, ChDC B750, ChDC B751) 항생제 감수성 실험을 하지 못하였다. 분리된 균주들 중 80(87.0%) 균주가 클린다마이신에 감수성을 보였으며, 세프록심 아세틸과 테트라사이클린에 69(75.0%)가, 오그멘틴에 66

Table 1. Interpretive standards for dilution susceptibility testing (19, 20)

Antibiotics	MIC (µg/ml)		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Penicillin G amoxicillin*			
Anaerobes	≤ 0.5	1	≥ 2
Staphylococci	≤ 0.12	-	≥ 0.25
Streptococci	≤ 0.12	0.25-2	≥ 4
Enterococci	≤ 8	-	≥ 16
Amoxicillin + clavulanic acid			
Anaerobes	≤ 4	8	≥ 16
Staphylococci	≤ 4	-	≥ 8
Other aerobes	≤ 8	16	≥ 32
Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16
Ciprofloxacin	≤ 1	2	≥ 4
Erythromycin	≤ 0.5	1-4	≥ 8
Clindamycin			
Anaerobes	≤ 2	4	≥ 8
Aerobes	≤ 0.5	1-2	≥ 4
Cefuroxime axetil	≤ 1	2	≥ 4

*Amoxicillin is considered to have an MIC similar to ampicillin.

(71.7%) 균주가, 페니실린 G에 63(68.5%) 균주가, 에리트로마이신에 61(66.3%) 균주가, 아목시실린에 41(44.6%) 균주가 감수성을 보였다. 하지만 시플록사신에는 29(31.5%) 균주만이 감수성을 보였다(Table 4).

고 찰

치근관 감염 병소에서 세균배양법을 이용할 경우 일반적으로 2-13개 정도의 세균이 검출되는 것으로 보고되었다(10, 13, 23). 본 연구 결과에서도 샘플에 따라 1-12 균주가 검출되었다. 이러한 결과를 비추어 볼 때 27개 치아의 치근관 감염 병소에서 세균배양법에 의해 평균 3.7개의 세균이 검출되었다. 이는 현재까지의 세균배양 기술로는 구강 내 모든 세균을 배양할 수 없기 때문이고, 샘플의 희석과정에서 소실되는 것도 하나의 원인으로 생각된다. 최근 이러한 세균배양법의 단점을 보완할 수 있는 16S rDNA libraries 제작과 염기서열결정법에 의하여 치근관 감염 병소의 세균을 종 수준에서 검출한 결과물이 보고되었다(16, 29). 치근관 감염 병소에서 세균배양법과 16S rDNA libraries 제작 및 염기서열결정법을 모두 시행한 후 그 결과를 비교분석한 결과 세균배양법에 의해 검출된 세균 종이 비교적 적었다. 하지만, 16S rDNA libraries 제작과 염기서열결정법에 의해 검출되지 않았던 세균 종이 세균배양법에 의해 검출되기도 하였다. 또한, 16S rDNA libraries 제작과 염기서열결정법은 비교적 많은 종류의 세균 종을 검출할 수 있는 장점이 있는 반면, 병원성 연구나 세균 종 또는 균주들의 특성 연구를 위해 살아있는 세균을 얻지 못한다는 단점이 있다. 따라서 본 연구에서는 치근관 감염 병소에 존재하는 세균들의 8종 항생제에 대한 감수성 조사를 하기 위하여 세균배양법에 의해 치근관 감염 병소에서 세균을 검출하였다.

Table 2. The bacterial strains isolated in this study

Sample' No.	Clinical isolates
81	5 ChDC B631*, ChDC B632*, ChDC B633*, ChDC B634*, ChDC B635*
82	2 ChDC B636*, ChDC B637
84	1 ChDC B638*
85	2 ChDC B639*, ChDC B640*
86	4 ChDC B664, ChDC B665, ChDC B666, ChDC B667
88	2 ChDC B641, ChDC B642
89	3 ChDC B643*, ChDC B644*, ChDC B645*
90	1 ChDC B646*
93/94	6 ChDC B668*, ChDC B669*, ChDC B670*, ChDC B671*, ChDC B672*, ChDC B673
95	3 ChDC B674*, ChDC B676*, ChDC B677*
97	1 ChDC B709*
99	2 ChDC B678, ChDC B679*
100	2 ChDC B707, ChDC B708
102	2 ChDC B680*, ChDC B681*
103	2 ChDC B682*, ChDC B683*
104	5 ChDC B647*, ChDC B648*, ChDC B649*, ChDC B650*, ChDC B651*
105	6 ChDC B652*, ChDC B653*, ChDC B654*, ChDC B655*, ChDC B656*, ChDC B657*
106	6 ChDC B658*, ChDC B659, ChDC B660, ChDC B661, ChDC B662, ChDC B663
107	7 ChDC B684*, ChDC B685*, ChDC B686*, ChDC B687*, ChDC B710, ChDC B711, ChDC B712
112	7 ChDC B688, ChDC B689, ChDC B690, ChDC B691, ChDC B692, ChDC B693, ChDC B694
114	4 ChDC B713, ChDC B714, ChDC B715, ChDC B716
115	12 ChDC B695, ChDC B696, ChDC B697, ChDC B698*, ChDC B699*, ChDC B700*, ChDC B701*, ChDC B702*, ChDC B703*, ChDC B704*, ChDC B705*, ChDC B706*
117	2 ChDC B717, ChDC B718
119	2 ChDC B735, ChDC B736
120	4 ChDC B737, ChDC B741, ChDC B743, ChDC B744
123	4 ChDC B749, ChDC B750 ChDC B751, ChDC B752
180	4 ChDC B730, ChDC B731, ChDC B732, ChDC B733
Total	101

ChDC; Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

*Those strains were isolated in a previous study. (14)

ChDC B631: This strain doesn't exist at present.

본 연구에 사용된 27개의 치근관 병소 샘플에는 Lee 등(14)이 이용한 17 샘플이 포함되어 있다. 즉, -70°C 냉동고에 보관된 샘플(15% glycerol 용액)을 급속히 해동시킨 다음 세균배양을 시행하여 6 샘플에서 14 균주를 더 배양하는 데 성공하였다(Table 1). 또한 Blastn 검색을 다시 시행하여 세균 동정을 재시도하였다. 세균의 16S rDNA 염기서열비교법을 통한 세균 종 수준에서의 동정시, 표준균주의 16S rDNA 염기서열만이 비교 대상이 될 수 있지만, Lee 등(14)에서는 이러한 원칙이 지켜지지 않았기 때문이다. 특히 16S rDNA 염기서열로는 명확히 종수준으로 구별할 수 없는 경우에는 가장 가까운 두개의 종을 병기하였고, 세 가지 이상의 종과 상동성이 같을 경우에는 속명만을 명기하였다(Table 3).

최근 비리단스 연쇄상구균(*viridans streptococci*)은 16S rDNA 염기서열에 따라 5개의 군(*mitis*, *salivarius*, *anginosus*, *mutans*, *bovis*)으로 나뉘었다(9), 다시 6개의 특징적인 생리학적 특성에 따라 *mitis*, *mutans*, *anginosus*, *sanguinis*, *salivarius* 군으로 다시 나뉘었다(4). 본 연구에서는 16S rDNA 염기서열에 따라 세균을

종 수준으로 동정하였기 때문에 Kawamura 등(9)의 방법에 의해 연쇄상구균을 동정하였다. Kawamura 등(9)의 보고에 의하면, *mitis* 군 연쇄상구균들 중, *S. mitis*, *S. pneumoniae*, *S. oralis*, *S. gordonii* 간의 16S rDNA 염기서열의 상동성이 99%이기 때문에 서로 구별하기가 어렵다고 하였다. 또한 *salivarius* 군에 속하는 *S. salivarius*, *S. vestibularis*와 *S. thermophilus*, *anginosus* 군에 속하는 *S. intermedia*와 *S. constellatus*도 이와 같은 경우이다. 그러므로 본 연구에서는 이들을 *mitis* 군 연쇄상구균, *salivarius* 군 연쇄상구균 혹은 *S. intermedia* / *constellatus*라고 명기 하였다.

본 연구에서 8종의 항생제에 대한 감수성 조사를 실시한 결과, 한 두 가지 항생제에 내성을 갖는 균주들보다는 4가지 이상의 항생제에 내성을 갖는 균주들이 대부분이었다. 또한, 여러 항생제에 내성을 갖는 균주들은 세균 종보다는 숙주에 따라 차이가 있는 것으로 조사되었다. 즉, 86번, 115번, 180번 샘플에서 검출된 균주들의 세균 종은 서로 차이가 있지만, 여러 항생제에 내성을 보였다(Table 4). 이러한 결과는 환자가 여러 항생제를 남용하였거나 오용한 결과로 발생할 수 있기 때문에 항생제를 처방

Table 3. Summary of detection frequency of bacteria from endodontic infection lesions

Phylum/ Class Genus or species	Detection frequency			
	Case (total = 27)		Strain (total = 101)	
	n	%	n	%
Actionobacteria				
<i>Actinomyces georgiae</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Actinomyces israelii</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Actinomyces naeslundii</i> / <i>viscosus</i>	7	25.9	10	9.9
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	3	11.1	8	7.9
<i>Actinomyces</i> sp.	1	3.7	2	2.0
<i>Atopobium parvulum</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Propionibacterium acnes</i>	2	7.4	3	3.0
<i>Propionibacterium cyclohexanicum</i> / <i>freudenreichii</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Propionibacterium propionicus</i> / <i>avidum</i>	1	3.7	3	3.0
Firmicutes/ Bacilli				
<i>Abiotrophia para-adiacens</i>	2	7.4	2	2.0
<i>Bifidobacterium dentium</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Granulicatella adiacens</i>	1	3.7	2	2.0
<i>Lactobacillus frumenti</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Lactobacillus mucosae</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Lactobacillus</i> sp.	2	7.4	4	4.0
<i>Lactobacillus vaginalis</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3.7	2	2.0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	11.1	6	5.9
<i>Staphylococcus pasteurii</i> / <i>warneri</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Staphylococcus</i> sp.	2	7.4	2	2.0
<i>Streptococcus anginosus</i>	5	18.5	6	5.9
<i>Streptococcus constellatus</i> / <i>intermedius</i>	2	7.4	3	3.0
<i>Streptococcus cristatus</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Streptococcus gordonii</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Streptococcus</i> sp. (mitis group)	7	25.9	16	15.8
<i>Streptococcus</i> sp. (salivarius group)	1	3.7	3	3.0
Firmicutes/ Clostridia				
<i>Clostridium sporogenes</i> / <i>botulinum</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Dialister invisus</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Eubacterium infirmum</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Finegoldia magna</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Micromonas micros</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Shuttleworthia satelles</i>	1	3.7	1	1.0
Proteobacteria				
<i>Methylobacterium fujisawaense</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	3.7	2	2.0
Fusobacteria				
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Bacteroides</i>				
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1	3.7	2	2.0
<i>Prevotella buccae</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Prevotella denticola</i>	1	3.7	4	4.0
<i>Prevotella nigrescens</i>	1	3.7	1	1.0
Total	-	-	101	100.4

할 때는 가능한 미생물학적 검사도 병행하는 것이 현명하리라 생각된다.

페니실린 계 항생제는 β -lactam 구조를 가지고 있으며, 세균의 세포막 성분인 peptidoglycan 합성에 관여하는 transpeptidases의 활성을 억제하여 항세균 작용을 갖는다(26). 본 연구 결과 항생제 내성 검사에 이용된 92 균주들 중 29 균주가 페니실린 G에

내성을 갖은 데 반해, 아목시실린에는 51 균주가 내성을 보였다. 이러한 차이는 본 연구의 결과로는 알 수 없지만, 페니실린 G가 현재 임상에서는 거의 사용되지 않고 있기 때문에 상대적으로 아목시실린에 비해 내성을 보이는 균주가 적게 나타난 것으로 생각된다. 이는 각각의 균주가 β -lactam 구조를 갖는 페니실린 계 항생제에 대한 내성 기전의 차이가 있기 때문에 가능하리라

Table 4. Minimal inhibitory concentration of several antibiotics for species isolated from the endodontic infection

Sample No.	Strains	MIC (μg/ml)							
		PEN ¹	AMX ²	AUG ³	TET ⁴	CIP ⁵	ERY ⁶	CLI ⁷	CMX ⁸
107	<i>Abiotrophia para-adiacens</i> ChDC B692	0.25	0.25	0.25	8	4	> 32	> 32	0.25
81	<i>Actinomyces georgiae</i> ChDC B633	ND ⁹	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
81	<i>Actinomyces israelii</i> ChDC B632	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
104	<i>Actinomyces naeslundii</i> / <i>viscosus</i> ChDC B649	0.125	0.25	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25
85	<i>Actinomyces naeslundii</i> / <i>viscosus</i> ChDC B639	0.125	0.5	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25
88	<i>Actinomyces naeslundii</i> / <i>viscosus</i> ChDC B642	0.125	0.5	0.25	0.125	2	0.5	0.125	0.25
89	<i>Actinomyces naeslundii</i> / <i>viscosus</i> ChDC B644	0.25	0.25	0.25	0.5	8	0.125	0.125	0.25
89	<i>Actinomyces naeslundii</i> / <i>viscosus</i> ChDC B645	0.25	0.5	0.25	0.5	8	0.125	0.5	0.25
104	<i>Actinomyces naeslundii</i> / <i>viscosus</i> ChDC B650	0.25	0.25	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25
107	<i>Actinomyces naeslundii</i> / <i>viscosus</i> ChDC B690	0.5	1	0.25	1	8	0.125	0.125	0.25
107	<i>Actinomyces naeslundii</i> / <i>viscosus</i> ChDC B694	0.25	0.5	0.25	4	4	> 32	> 32	0.25
120	<i>Actinomyces naeslundii</i> / <i>viscosus</i> ChDC B735	0.125	0.25	0.25	1	8	0.125	0.5	0.25
120	<i>Actinomyces naeslundii</i> / <i>viscosus</i> ChDC B736	0.25	0.25	0.25	0.125	4	0.125	0.25	0.25
90	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B646	0.5	2	0.5	4	16	0.125	0.125	0.25
104	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B651	0.125	0.5	0.25	0.125	8	0.125	0.125	0.25
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B658	0.125	2	0.5	0.125	8	0.125	0.125	0.25
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B659	0.125	1	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B660	0.125	0.25	4	0.125	8	0.125	0.125	0.25
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B661	0.125	1	0.25	0.125	8	0.125	0.125	0.25
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B662	0.125	1	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B663	0.125	1	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25
81	<i>Actinomyces</i> sp. ChDC B631	0.125	1	0.5	0.25	2	1	0.125	1
81	<i>Actinomyces</i> sp. ChDC B634	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
115	<i>Atopobium parvulum</i> ChDC B703	> 32	2	32	0.125	1	2	0.125	4
97	<i>Clostridium sporogenes</i> / <i>botulinum</i> ChDC B709	1	8	2	0.125	0.25	0.5	8	8
120	<i>Dialister invisus</i> ChDC B744	ND ⁹	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
115	<i>Eubacterium infirmum</i> ChDC B706	> 32	64	64	32	0.5	32	8	64
105	<i>Finegoldia magna</i> ChDC B654	32	64	64	32	0.5	32	16	64
115	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ChDC B705	0.125	0.25	2	0.125	1	8	0.125	2
107	<i>Granulicatella adiacens</i> ChDC B711	0.125	0.25	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25
107	<i>Granulicatella adiacens</i> ChDC B712	0.125	2	0.5	32	4	0.125	0.125	0.5
123	<i>Lactobacillus frumenti</i> ChDC B750	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
120	<i>Lactobacillus mucosae</i> ChDC B743	0.125	0.25	4	0.25	16	2	0.125	16
103	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B682	> 32	64	16	8	> 32	0.25	0.25	> 64
103	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B683	2	8	2	0.25	8	0.125	0.25	4
123	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B749	1	8	2	0.25	4	0.125	0.125	4
123	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B752	> 32	32	8	8	32	0.125	0.125	> 64
123	<i>Lactobacillus vaginalis</i> ChDC B751	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
81	<i>Methylobacterium fujisawaense</i> ChDC B635	0.125	0.25	0.25	0.125	8	0.125	0.125	0.25
100	<i>Micromonas micros</i> ChDC B708	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
105	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ChDC B656	32	64	64	32	1	32	> 32	64
105	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ChDC B657	32	64	64	32	1	32	> 32	64
115	<i>Prevotella buccae</i> ChDC B697	0.125	0.25	1	0.125	0.5	0.125	0.125	0.25
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B696	32	8	16	0.125	1	2	0.125	16
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B698	> 32	4	8	0.125	1	2	0.125	8
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B702	> 32	2	32	0.125	1	0.5	0.125	4
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B704	> 32	2	16	0.125	1	2	0.125	4
120	<i>Prevotella nigrescens</i> ChDC B737	32	8	32	0.5	0.25	0.125	0.125	16

1, Penicillin G; 2, Amoxicillin; 3, Augmentin; 4, Tetracycline; 5, Ciprofloxacin; 6, Erythromycin; 7, Clindamycin; 8, Cefuroxime axetil; 9, Not determined.

Table 4. Continued

Sample ^a No.	Strains	MIC (μg/ml)							
		PEN ¹	AMX ²	AUG ³	TET ⁴	CIP ⁵	ERY ⁶	CLI ⁷	CMX ⁸
97	<i>Clostridium sporogenes</i> / <i>botulinum</i> ChDC B709	1	8	2	0.125	0.25	0.5	8	8
120	<i>Dialister invisus</i> ChDC B744	ND ⁹	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
115	<i>Eubacterium infirmum</i> ChDC B706	> 32	64	64	32	0.5	32	8	64
105	<i>Finegoldia magna</i> ChDC B654	32	64	64	32	0.5	32	16	64
115	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ChDC B705	0.125	0.25	2	0.125	1	8	0.125	2
107	<i>Granulicatella adiacens</i> ChDC B711	0.125	0.25	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25
107	<i>Granulicatella adiacens</i> ChDC B712	0.125	2	0.5	32	4	0.125	0.125	0.5
123	<i>Lactobacillus frumenti</i> ChDC B750	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
120	<i>Lactobacillus mucosae</i> ChDC B743	0.125	0.25	4	0.25	16	2	0.125	16
103	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B682	> 32	64	16	8	> 32	0.25	0.25	> 64
103	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B683	2	8	2	0.25	8	0.125	0.25	4
123	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B749	1	8	2	0.25	4	0.125	0.125	4
123	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B752	> 32	32	8	8	32	0.125	0.125	> 64
123	<i>Lactobacillus vaginalis</i> ChDC B751	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
81	<i>Methylobacterium fujisawaense</i> ChDC B635	0.125	0.25	0.25	0.125	8	0.125	0.125	0.25
100	<i>Micromonas micros</i> ChDC B708	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
105	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ChDC B656	32	64	64	32	1	32	> 32	64
105	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ChDC B657	32	64	64	32	1	32	> 32	64
115	<i>Prevotella buccae</i> ChDC B697	0.125	0.25	1	0.125	0.5	0.125	0.125	0.25
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B696	32	8	16	0.125	1	2	0.125	16
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B698	> 32	4	8	0.125	1	2	0.125	8
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B702	> 32	2	32	0.125	1	0.5	0.125	4
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B704	> 32	2	16	0.125	1	2	0.125	4
120	<i>Prevotella nigrescens</i> ChDC B737	32	8	32	0.5	0.25	0.125	0.125	16
114	<i>Propionibacterium acnes</i> ChDC B715	0.125	0.5	0.25	0.25	4	0.125	0.125	0.25
114	<i>Propionibacterium acnes</i> ChDC B716	0.125	0.25	0.25	1	2	0.125	0.125	0.25
104	<i>Propionibacterium cyclohexanicum</i> / <i>freudenreichii</i> ChDC B647	ND ⁹	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
105	<i>Propionibacterium propionicus</i> / <i>avidum</i> ChDC B655	0.125	0.25	0.25	0.125	0.25	0.125	0.125	0.25
105	<i>Propionibacterium propionicus</i> / <i>avidum</i> ChDC B652	0.125	0.5	0.25	0.125	2	0.125	0.125	0.25
105	<i>Propionibacterium propionicus</i> / <i>avidum</i> ChDC B653	0.125	0.25	1	0.125	0.25	0.125	0.125	0.25
82	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ChDC B636	> 32	> 64	> 64	32	1	> 32	> 32	> 64
82	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ChDC B637	> 32	> 64	> 64	16	0.125	> 32	> 32	> 64
115	<i>Shuttleworthia satelles</i> ChDC B700	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
86	<i>Staphylococcus aureus</i> ChDC B664	> 32	> 64	> 64	0.125	1	> 32	0.125	1
86	<i>Staphylococcus aureus</i> ChDC B665	> 32	> 64	> 64	0.125	1	> 32	0.25	1
114	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B714	> 32	> 64	> 64	0.25	1	1	0.25	0.5
180	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B730	> 32	> 64	> 64	32	2	0.5	0.5	2
180	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B731	> 32	> 64	> 64	1	2	1	0.5	1
180	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B732	> 32	> 64	> 64	1	1	1	0.25	1
180	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B733	> 32	> 64	> 64	1	2	1	0.25	2
120	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B741	> 32	> 64	64	0.125	0.5	0.5	0.125	0.5
114	<i>Staphylococcus pasteurii</i> / <i>warneri</i> ChDC B713	0.125	1	0.5	0.25	1	1	0.125	1
88	<i>Staphylococcus</i> sp. ChDC B641	> 32	> 64	> 64	> 32	1	0.5	0.25	0.25
89	<i>Staphylococcus</i> sp. ChDC B643	0.125	0.5	0.25	8	1	1	0.125	0.5
85	<i>Streptococcus anginosus</i> ChDC B640	0.125	0.25	0.25	0.125	2	0.125	0.125	0.25
107	<i>Streptococcus anginosus</i> ChDC B684	0.125	0.25	0.25	16	4	0.125	0.125	0.25
112	<i>Streptococcus anginosus</i> ChDC B688	0.125	0.5	0.25	4	2	0.125	0.125	0.25
115	<i>Streptococcus anginosus</i> ChDC B695	0.125	0.25	0.25	0.125	2	0.125	0.125	0.25

Table 4. Continued

Sample' No.	Strains	MIC (μg/ml)							
		PEN ¹	AMX ²	AUG ³	TET ⁴	CIP ⁵	ERY ⁶	CLI ⁷	CMX ⁸
107	<i>Streptococcus anginosus</i> ChDC B710	0.125	0.25	4	32	2	0.25	0.25	0.5
100	<i>Streptococcus constellatus</i> / <i>intermedius</i> ChDC B707	0.125	1	0.25	0.125	2	0.125	0.125	0.25
117	<i>Streptococcus constellatus</i> / <i>intermedius</i> ChDC B718	0.125	0.25	2	8	1	0.125	0.125	0.25
117	<i>Streptococcus constellatus</i> / <i>intermedius</i> ChDC B717	0.125	1	0.5	8	1	0.125	0.125	0.25
107	<i>Streptococcus cristatus</i> ChDC B687	0.25	2	0.5	0.125	4	0.125	0.125	0.25
99	<i>Streptococcus gordonii</i> ChDC B679	0.125	0.25	0.25	8	16	> 32	> 32	0.25
104	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B648 (mitis group)	0.25	1	0.25	4	4	2	0.125	0.25
86	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B666 (mitis group)	0.125	0.25	0.25	8	8	2	0.125	0.25
93/94	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B669 (mitis group)	> 32	> 64	> 64	> 32	2	> 32	0.25	0.5
93/94	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B670 (mitis group)	0.125	2	0.5	0.125	4	0.125	0.125	0.25
93/94	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B671 (mitis group)	0.5	2	0.5	8	8	0.125	0.125	0.25
95	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B674 (mitis group)	0.125	0.25	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25
95	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B676 (mitis group)	0.125	0.5	0.25	8	8	2	0.125	0.25
95	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B677 (mitis group)	0.125	0.25	0.25	1	8	0.125	0.125	0.25
99	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B678 (mitis group)	0.25	8	1	0.25	16	0.125	0.125	1
102	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B680 (mitis group)	1	2	0.5	4	8	4	32	0.25
102	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B681 (mitis group)	0.5	2	0.5	0.125	8	0.125	0.125	0.25
107	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B685 (mitis group)	0.5	4	1	0.125	4	0.125	0.125	2
107	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B686 (mitis group)	0.125	0.25	0.25	4	8	0.125	0.125	0.25
107	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B689 (mitis group)	0.125	0.25	0.25	0.5	4	0.125	0.125	0.25
107	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B691 (mitis group)	0.25	0.5	0.25	0.25	8	0.125	0.125	0.5
107	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B693 (mitis group)	0.125	0.5	0.25	8	8	8	16	0.5
93/94	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B668 (salivarius group)	0.25	1	0.25	0.125	2	0.125	0.125	0.25
93/94	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B672 (salivarius group)	0.5	2	1	0.125	4	0.125	0.125	0.25
93/95	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B673 (salivarius group)	0.5	4	1	0.25	8	0.25	0.125	0.25

1, Penicillin G; 2, Amoxicillin; 3, Augmentin; 4, Tetracycline; 5, Ciprofloxacin; 6, Erythromycin; 7, Clindamycin; 8, Cefuroxime axetil; 9, Not determined.

생각된다. 즉, 페니실린 계 항생제에 대한 내성 기전은 첫 번째 전술한 transpeptidase의 페니실린과 결합되는 부분의 돌연변이나 추가적으로 감수성이 떨어지는 새로운 transpeptidase를 생산하는 경우, 두 번째로는 β -lactamase를 생산해서 β -lactam 구조를 파괴시켜 항생제의 효능을 없애는 경우, 그람 음성 세균의 경우 세포 외 막의 항생제에 대한 투과성을 감소시키거나, periplasm으로부터 항생제를 능동적으로 세포막으로 퍼내는 활성이 높은 경우 (27) 등이 존재하기 때문에 균주들이 어떤 기전을 가지고 있는지에 따라 그 효능에 차이가 있을 것으로 생각된다. 본 연구결과 포도상구균, 장내세균(*P. aeruginosa*, *Lactobacillus* sp., *E. infirmum*)에 속하는 균주들에서 페니실린계 항생제에 대해 내성을 갖고 있었다. 이러한 내성 균주들 중, 페니실린계 항생제의 β -lactam 구조를 파괴할 수 있는 균주들이 있을 경우 기존의 페니실린 계 항생제와 clavulanate, tazobactam, sulbactam 등의 β -lactamase 억제제를 같이 투여하는 약물이 개발되어 사용되고 있다(25). 현재 임상에서 오그멘틴이라는 상품명으로 아목시실린과 clavulanic 산을 혼합한 약제가 사용되고 있다. 본 연구 결과 페니실린이나 아목시실린에 내성을 갖는 균주들 중 *P. denticola* ChDC B698을 제외한 대부분의 균주들이 오그멘틴에도 내성을 보였다. 이러한 β -lactamase 억제제에 대한 내성은 세균이 생산하는 β -lactamase

의 돌연변이에 의해 억제제와의 결합력이 감소해서 획득되는 것으로 알려져 있다(25). 향후 연구에서 이들 페니실린 계 항생제에 내성을 갖는 균주들의 내성 기전에 대한 연구를 시행하고자 한다.

에리트로마이신과 클린다마이신은 일반적으로 페니실린 계 항생제에 알레르기가 있거나 내성이 발생한 경우 사용된다. 에리트로마이신은 마크로리드계(macrolides) 항생제이고, 클린다마이신은 리코사미드계(licosamids) 항생제이다. 이들은 둘 다 단백질 합성을 억제하여 항균 작용을 갖는 것으로 알려져 있다. 본 연구 결과 페니실린 계 항생제에 내성을 보였던 균주들 중 일부는 에리트로마이신과 클린다마이신 모두에 내성을 보이는 균주(ChDC B636, ChDC B637, ChDC B654, ChDC B656, ChDC B707)들도 존재하였다. Jenssen 등(6)은 세균의 *ermB* 유전자의 산물인 23S rRNA 메틸화 단백질은 마크로리드 계, 리코사미드 계 혹은 type B streptogramins 항생제가 리보솜에 결합되는 것을 차단하여 항생제 내성 기전을 갖는다고 보고하였다. 그러므로 본 연구에서 에리트로마이신과 클린다마이신에 모두 내성을 갖는 균주들의 내성 기전 연구를 위하여 *ermB* 유전자 존재를 중합효소 연쇄반응법을 이용하여 앞으로 연구하고자 한다.

세프록심 아세틸은 제 2세대 세파로스포린계 항생제로, 일종의

β -lactam계 항생제이다. 일반적으로 페니실린계 항생제처럼 항균 범위가 넓은 편이지만, 그람 음성 세균, *Pseudomonas* 및 장내 구균에는 비교적 효과가 적은 것으로 알려져 있다(15). 본 연구 결과에서도 세프록심 아세틸에 대해 내성을 보이는 균주들은 *P. aeruginosa*, *Clostridium* sp., *P. nigrescens*, *Lactobacillus* sp. 등이 대부분이었다. 플로로퀴논계(fluoroquinolones)에 속하는 사이프록사신은 일반적으로 메티실린-저항성(methicillin-resistant) *S. aureus* (MRSA)들과 혐기성세균에 대한 항균력이 미약하지만, 호기성 세균에 대한 항균력은 뛰어난 것으로 알려져 있다(5, 3). 본 연구에서도 사이프록사신에 가장 많은 내성 균주가 있었지만, 세파로스포린계 항생제인 세프록심 아세틸에 저항성을 보였던 균주들이 대부분 사이프록사신에 감수성을 보였다. 그러므로 치근관 질환에서와 같이 혐기성 세균과 호기성 세균이 상존하고, 페니실린계 항생제에 내성을 갖는 균주가 병소에 존재할 경우에는 세파로스포린계 항생제와 플로로퀴논계 항생제를 병합 사용하는 것이 효과적일 것이라 생각된다.

본 연구결과 페니실린계, 에리트로마이신 및 클린다마이신에 모두 내성을 갖는 균주들도 세프록심 아세틸이나 테트라사이클린에 감수성을 보였다. 테트라사이클린은 세균의 30S 리보솜에 결합하여 aminoacyl transfer ribonucleic acid가 50S 리보솜 단위체의 A-site와의 결합을 방해하여 단백질 합성을 억제하는 기능을 갖는 광범위 항생제이다. 하지만, 테트라사이클린 정균제이고 비교적 오랫동안 복용해야 하기 때문에 이에 대한 세균이 내성을 획득하는 확률이 높아진다. 하지만, 본 연구에서 치근관 감염 병소에서 검출된 세균들은 비교적 테트라사이클린에 대한 감수성(69%)이 높았다. 특히, 페니실린계 항생제에 내성을 보였던 포도상구균들 중 두 균주(ChDC B641, ChDC B730)를 제외하고는 효과적인 항균력을 보였다. 현재 테트라사이클린에 대한 내성 유전자들이 많이 동정되고 있다(11, 24). 그러므로 향후 연구에서 분자생물학적 방법을 이용하여 테트라사이클린에 내성을 갖는 균주들의 내성 기전을 연구하고자 한다.

이상의 연구 결과를 종합할 때, 27명의 치근관 질환 병소에서 분리 동정된 균주들 중 연쇄상구균과 방선균이 가장 높은 빈도로 검출되었으며, 이들에 대한 8종의 항생제에 대한 감수성 조사를 한 결과, 특정 항생제에만 내성을 갖는 경우보다는 여러 항생제에 동시에 내성을 보이는 경우가 많았지만, 모든 항생제에 내성을 갖는 균주는 없었다. 그러므로 근관치료 영역에서 항생제를 투여할 필요가 있을 경우 미생물학적 검사 및 항생제 검사를 병행하는 것이 필요하리라 생각된다.

감사의 글: 본 연구에 참여한 연구자의 일부는 그 단계 BK21 사업의 지원비를 받았다.

참고문헌

- Andreasen, F.M. 1986. Transient apical breakdown and its relation to color and sensibility changes after luxation injuries to teeth. *Endod. Dent. Traumatol.* 2, 9-19.
- Bergenholtz, G. 1974. Micro-organisms from necrotic pulp of traumatized teeth. *Odontol. Revy.* 25, 347-358.
- Cohen, M.A., J.M. Embil, and T. Canosa. 2003. Osteomyelitis of the maxilla caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Oral. Maxillofac. Surg.* 61, 387-390.
- Facklam, R. 2002. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin. Microbiol. Rev.* 15, 613-630.
- Grossman, R.F. 1997. The role of fluoroquinolones in respiratory tract infections. *J. Antimicrob. Chemother.* 40, 59-62.
- Jenssen, W.D., S. Thakker-Varia, D.T. Dubin, and M.P. Weinstein. 1987. Prevalence of macrolides-lincosamides-streptogramin B resistance and *erm* gene classes among clinical strains of staphylococci and streptococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31, 883-888.
- Kakehashi, S., H.R. Stanley, and R.I. Fitzgerald. 1965. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 20, 340-349.
- Kantz, W.E. and C.A. Henry. 1974. Isolation and classification of anaerobic bacteria from intact pulp chambers of non-vital teeth in man. *Arch. Oral Biol.* 19, 91-96.
- Kawamura, Y., X.G. Hou, F. Sultana, H. Miura, and T. Ezaki. 1995. Determination of 16S rRNA sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and phylogenetic relationships among members of the genus *Streptococcus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45, 406-408. Erratum in: *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1995, 45, 882.
- Khemaleelakul, S., J.C. Baumgartner, and S. Pruksakorn. 2002. Identification of bacteria in acute endodontic infections and their antimicrobial susceptibility. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 94, 746-755.
- Lacroix, J.M. and C.B. Walker. 1995. Detection and incidence of tetracycline resistance determinant *tet* (M) in the microflora associated with adult periodontitis. *J. Periodontol.* 66, 102-108.
- Lane, D.J., B. Pace, G.J. Olsen, D.A. Stahl, M.L. Sogin, and N.R. Pace. 1985. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 6955-6959.
- Le Goff, A., L. Bunetel, C. Mouton, and M. Bonnaure-Mallet. 1997. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. *Oral Microbiol. Immunol.* 12, 318-322.
- Lee, Y.-J, M.-K. Kim, H.-K. Hwang, and J.-K. Kook. 2005. Isolation and identification of bacteria from the root canal of the teeth diagnosed as the acute pulpitis and acute periapical abscess. *J. Kor. Acad. Cons. Dent.* 30, 409-422.
- Mandel, G.L. and M.A. Sande. 1992. Antimicrobial agents. p. 1085. In Gilman AF, Rall TW, Nies AS, Taylor P. (ed.), The pharmacological basis of therapeutics. Vol. 2, 1st ed. McGraw-Hill, INC. Singapore.
- Munson, M.A., T. Pitt-Ford, B. Chong, A. Weightman, and W.G. Wade. 2002. Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections. *J. Dent. Res.* 81, 761-766. Erratum in: *J. Dent. Res.* 2003, 82, 69. *J. Dent. Res.* 2003, 82, 247.
- Murray, P.R. and J.H. Jorgensen. 1981. Quantitative susceptibility test methods in major united states medical center. *Antimicrob. Agents Chemother.* 20, 66-70.
- Nair, P.N. 2004. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 15, 348-381.
- National Committee for Clinical Laboratory standards. 2000. Method for dilution antimicrobial susceptibility testing of bacteria

- that grow aerobically, 5th ed. Approved standard M7-A5. National Committee for Clinical Laboratory standards, Wayne, Pa.
20. National Committee for Clinical Laboratory standards. 2001. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. 5th ed. Approved standard M11-A5. National Committee for Clinical Laboratory standards, Wayne, Pa.
 21. Paster, B.J., S.K. Boches, J.L. Galvin, R.E. Ericson, C.N. Lau, V.A. Levanos, A. Sahasrabudhe, and F.E. Dewhirst. 2001. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J. Bacteriol.* 183, 3770-3783.
 22. Solomon, C., H. Chalfin, M. Kellert, and P. Weseley. 1995. The endodontic-periodontal lesion: a rational approach to treatment. *J. Am. Dent. Assoc.* 126, 473-479.
 23. Sundqvist, G. 1994. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 78, 522-530.
 24. Villedieu, A., M.L. Diaz-Torres, N. Hunt, R. McNab, D.A. Spratt, M. Wilson, and P. Mullany. 2003. Prevalence of tetracycline resistance genes in oral bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 878-882.
 25. Wang, X., G. Minasov, and B.K. Shoichet. 2002. The structural bases of antibiotic resistance in the clinically derived mutant beta-lactamases TEM-30, TEM-32, and TEM-34. *J. Biol. Chem.* 277, 32149-32156.
 26. Waxman, D.J. and J.L. Strominger. 1983. Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of beta-lactam antibiotics. *Annu. Rev. Biochem.* 52, 825-869.
 27. Wilke, M.S., A.L. Lovering, and N.C. Strynadka. 2005. Beta-lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Curr. Opin. Microbiol.* 8, 525-533.
 28. Wittgow Jr., W.C. and C.B. Sabiston Jr. 1975. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. *J. Endod.* 1, 168-171.
 29. Yoo, S.Y., M.-K. Kim, H.-S. Kim, H.-K. Hwang, P.-S. Kim, S.-Y. Lim, S.-H. OH, J.-B. Min, and J.-K. Kook. 2004. Identification of bacteria from periapical abscess using 16S rDNA clone libraries. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 32, 195-198.

(Received March 24, 2006/Accepted September 14, 2006)

ABSTRACT: Antibiotic Susceptibility of Bacteria Isolated from Infected Root Canals

Sang-Soo Lim[†], Mi-Kwang Kim^{1†}, Jeong Beom Min[†], Min Jung Kim¹, Soon-Nang Park¹, Ho-Keel Hwang, Joong-Ki Kook^{1*} (Department of Conservative Dentistry and ¹Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea)

The aim of this study was to identify the bacteria isolated from endodontic lesions by cell culture and to determine the antimicrobial susceptibility of them against 8 antibiotics. The necrotic pulpal tissues were collected from 27 infected root canals, which were diagnosed as endodontic infection. Samples were collected aseptically from the infected pulpal tissue of the infected root canals using a barbed broach and a paper point. The cut barbed broaches and paper points were transferred to an eppendorf tube containing 500 µl of 1× PBS. The sample solution was briefly mixed and plated onto a BHI-agar plate containing 5% sheep blood. The agar plates were incubated in a 37°C anaerobic chamber for 2 to 5 days. The bacteria grown on the agar plates were identified by comparison of 16S rRNA gene (rDNA) sequencing method at the species level. To test the sensitivity of the bacteria isolated from the infected root canals against 8 antibiotics, minimum inhibitory concentrations (MIC) were determined using broth dilution assay. The data showed that 101 bacterial strains were isolated and were identified. *Streptococcus* spp. (29.7%) and *Actinomyces* spp. (21.8%) were predominantly isolated. The 9 strains were excluded in antimicrobial susceptibility test because they were lost during the experiment or were not grown in broth culture. The percentage of bacteria susceptible for each antibiotic in this study was clindamycin, 87.0% (80 of 92); tetracycline, 75.0% (69 of 92); cefuroxime axetil, 75.0% (69 of 92); amoxicillin + clavulanic acid (5:1), 71.7% (66 of 92); penicillin G, 66.3% (61 of 92); erythromycin, 66.3% (61 of 92); amoxicillin, 44.6% (41 of 92); and ciprofloxacin, 31.5% (29 of 92). The susceptibility pattern of 8 antibiotics was dependent on the host of the bacteria strains rather than the kinds of bacterial species. These results indicate that antibiotic susceptibility test should be performed when antibiotics are needed for the treatment of infected root canals.