

# 조직 재생유도술에 사용되는 e-PTFE 및 collagen막에 부착되는 치주세균과 항생제 감수성에 대한 연구

부산대학교 치과대학 치주과학교실

임효정 · 김성조 · 최정임

## I. 서 론

치주질환으로 상실된 치주조직의 재생법이 근래에 관심을 끌고 있으며, 술후 즉시 수술 부위나 치근면에 이주하는 세포의 종류를 조절하여 치주부착조직을 재생시키는 연구가 Gottlow<sup>1,2)</sup> 등의 연구를 근간으로 많이 이루어졌다. 이들을 치주인대에서 유래한 세포들이 창상부위로 이주할 수 있으면 새로운 신부착을 도모할 수 있음을 발견하고, 치유되고 있는 외상부위에서 상피와 결합조직 세포를 차단하면 치주인대 세포가 결손부로 유도되어 현저한 재생이 일어나게 된다고 보고하였다<sup>3,6)</sup>.

초기에 이용된 것은 expanded polytetrafluoroethylene(e-PTFE)막으로, 막의 개방미세구조(open microstructure)와 부분봉합부(partially occlusive portion)는 치은상피와 결합조직이 치면과 치조골에 접하는 것을 방지하여 치주인대 세포에서 유래된 세포가 재생에 관여하도록 한다. -막의 사용과 아울러 여러가지 단점이 막의 노출, 농양형성, 2차 수술의 필요, 치은형태- 대두되었다. 이후 collagen이 조직 재생유도술의 재료로 도입되었고 흡수성인 장점으로 근래 많이 이용되고 있는데, 일반적으로 조직이 재생되는데 필요한 기간보다 빨리 흡수되는 단점이 있다. 조직재생유도술후 임상 결과가 다양하나 보통 1~3mm 부착회득을 보

인다<sup>7,8)</sup>. 최근까지 재생술의 술식면이나 생물학적 관점은 잘 소개되었으나 감염의 중요성과 그에 대한 조절은 미비하였다.

Selvig<sup>9)</sup>는 재생술후 제거된 e-PTFE막의 변연과 내면에는 세균이 응집하고 있으며 막의 구강내 노출과 세균 감염은 임상부착 회득에 좋지 못한 결과를 초래한다고 보고했다. Mombelli<sup>10,11)</sup>는 e-PTFE막 사용후 미생물학적 분석에서 배양 가능한 세균의 1/3이 그람 음성 혐기성 간균이었고, 건강한 치은이나 일반적인 치주치료후 6주째 보이는 일반 세균총과 다르고, 오히려 치료되지 않은 성인성 치주염이나 매식체주위염의 치은 세균총과 견줄만 하다고 보고하였다. 이러한 것은 막의 적용으로 치주원인균이 재부착, 재생장되는 좋은 생태학적 조건을 만들기 때문이라고 하였다. 이러한 세균의 근원은 치주치료후 남아있는 미생물로써 즉, 기계적, 화학적 접근이 어려운 깊은 분지부 병소, 치근면 자체가 세균의 근원이 될 수 있다<sup>12,13)</sup>. 아울러 임상에서 막의 노출을 최소화 시키려고 하지만 치은의 퇴축등으로 막의 노출이 빈번히 일어나 구강내 도처에 존재하는 세균이 여기에 응집하고 부착하게 되어 감염원이 된다.

Nowzari, Slots, Machtei<sup>14,15)</sup> 등은 black pigmented Bacteroides(BPB)와 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A.actinomycetemcomitans*, *A.a.*)가 발견된 곳에선 임상적인 결과가

떨어진다고 보고하고 있는데, 이상적인 치유를 도모하기 위해서 치주병인균을 완전히 제거하는 것이 중요하나 국소적인 치주 처치만으로는 불가능하므로 부가적인 항생제 투여로 병인균을 제거하거나 또는 최소한 감소시켜야 한다. 조직재생유도술로 좋은 임상적 결과가 보고되었지만, 아직 이에 관련되는 미생물에 관한 자료가 미비하여 본 연구는 추정되는 특정 치주병인균<sup>16)</sup> BPB *A.a.*, surface translocating bacteria -STB: *Eikenella corrodens*(*E.corrodens*, *E.c.*), *Wolinella* (*W.recta*, *W.r.*), *Capnocytophaga*-에 중점을 두어 조직재생유도술 과정에서 이들의 출혈빈도, 비율과 항생제 감수성을 파악하고자 시행하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상

부산대학병원 치주과에 내원한 중등도이상 치주염 환자로 골내 치주병소나 분지부 병소에 조직재생유도술을 실시한 사람을 대상으로 하였다. e-PTFE군 11명, collagen군 7명 이었다. 막을 넣기전에 구강위생법을 강조하고 치근활택술을 실시한후 협, 설측 전충판막 거상후 모든 육아조직을 제거하고 치근활택술 e-PTFE나 collagen의 크기를 조절하여 넣고 판막을 재위치시켜 재생막이 완전히 피개되도록 했다. 환자는 술후 2주간 doxycycline (100mg, b.i.d.)을 복용하고 6주간 chlorhexidine으로 양치하도록 지시하였다.

### 2. 연구방법

#### 가. 표본채취 및 배양

e-PTFE군은 2주째는 막과 새로생긴 육아조직 사이에 2개의 멸균된 paper point를 부드럽게 삽입후 30초간 유지하고 막의 외면은 큐렛으로 살짝 긁고, 6주째는 제거된 막의 일부를 잘라 치태를 채취하였다. collagen군에서는 2, 6주째 치주낭에 2개의 paper point를 넣어 치태를 채취하였다. 표본을 1ml RTF가 든 vial에 넣고 vortex mixer에서 30초간 분산시킨후 10배의

비율로 일련의 희석을 하였다. 치태의 양에 따라 10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup> 등의 배율로 혼합된 vial에서 용액 0.1ml를 비선택배지인 혈액한천배지와 *A.a.* 선택배지에 도말하였다. 각각 7~10일간, 3~5일간 배양하였다.

#### 나. 항생제 감수성 검사

실험에서 사용한 항생제 disc는 clindamycin (2μg), ciprofloxacin(5μg), tetracycline(30 μg)이었다. 2개의 혈액한천배지와 2개의 *A.a.* 선택배지를 각가 동일 배율로 도말한후, 한 배지에만 항생제 disc를 일정 간격을 유지하여 완전히 밀착시켜 배양하고 NCCLS(National committee for clinical laboratory standard) 표준 수치에 따라 항생제 감수성을 결정하였다. 저항성이 있는 *A.a.*는 순수배양후 다시 항생제 감수성 검사를 실시하여 저항성을 재확인하였다.

#### 다. 미생물 동정

집락형태, 그람염색후 세포의 현미경적형태, 생화학적 검사에 의하여 미생물을 동정하였다. 사용된 생화학적 검사로는 그람염색 반응 및 catalase검사 (3% 과산화수소), nitrate 환원 검사를 실시하였다.

#### 라. plamid DNA의 분리 및 확인

tetracycline에 저항성을 보이는 *A.a.* 균주들에서 plasmid DNA의 존재 여부의 확인은 Maniatis등의 alkali-lysis small scale plasmid DNA 분리 방법을 사용하였다. plasmid DNA의 분리와 확인에 사용된 buffer의 조성은 표1과 같았다. 항생제를 포함하는 고체배지에서 자란 세균의 균집을 면봉을 사용하여 집균한 후 STE buffer 1ml에 현탁하고 2분동안 미세원심분리기 (FIS HER Scientific사, MODEL 235C)에서 원심분리하여 상등액을 버리고, 이 세포 침전물에 용액 I 100 μl에 균체를 현탁시키고 얼음속에 5분간 방치하였다. 이 혼합액에 용액 II 200μl를 첨가하고 입구를 밀봉한 후 부드럽게 여러번 뒤집고 5분간 얼음속에 방치하였다. 용액 II를 처리한 혼합액에 얼음속에 냉각된

용액 III 150 $\mu$ l를 첨가하고 여러번 빨리 뒤집고 5분동안 얼음속에 담가둔 후 미세원심분리기에서 최대속도로 5분동안 원심분리하여 세포 잔사와 염색체 DNA가 제거된 상등액을 깨끗한 미세원심분리용 관에 옮긴후, 동량의 phenol-chloroform을 넣고 부드럽게 혼합한 다음 5분동안 원심분리하여 상등액을 조심스럽게 옮겼다. 이 용액 두배의 ethanol을 첨가하여 -20 $^{\circ}$ C에서 1시간동안 둔 후 미세 원심분리기에서 최대속도로 10분간 원심분리하여 DNA 침전물을 얻었다. 70% ethanol 1ml로 상온에서 1회

세척하고 원심분리하여 상등액을 버리고 건조시킨후 TE (pH 8.0) buffer 20 $\mu$ l에 침전물을 녹였다. plasmid DNA는 0.8% agarose gel로 TAE buffer에서 전기영동하여 gel을 ethidium bromide(50 $\mu$ g/ml)에 30분동안 담가둔 후 UV-transilluminator에서 확인하였다.

### III. 연구성적

실험결과 배양된 세균의 총 평균수는 colla-gen균 2주째  $5.76 \times 10^8$ 이고, e-PTFE균 2주째

Table 1. composition of buffer solution

Buffer solution	Composition
1. Lysis buffer	
* solution I	50mM glucose 25mM Tris-Cl (pH 8.0) 10mM EDTA (pH 8.0) : Autoclaved for 15 min. at 10 lb/in <sup>2</sup> and stored at 4 $^{\circ}$ C
*solution II	0.2N NaOH 1% SDS
*solution III	5% potassium acetate 60ml glacial acetic acid 11.5ml H <sub>2</sub> O 28.5ml : The resulting solution in 3M with respect to potassium and 5M with respect to acetate
2. TE buffer	10mM Tris-Cl (pH 8.0) 1mM Na <sub>2</sub> EDTA
3. SET buffer	10mM Tris-Cl (pH 8.0) 100mM NaCl 1mM EDTA (pH 8.0)
4. TAE buffer(X50)	242g Tris-base 57.1ml glacial acetic acid 100ml 0.5M EDTA (pH 8.0) in 11 water
5. Tracking buffer	0.25% Bromphenol blue 0.25% Xylene cyanole FF 15% Ficoll (Type 400) in water

1.53×10<sup>7</sup>이고, e-PTFE군 6주째 2.95×10<sup>7</sup>로 다양하였고 모두 10<sup>8</sup>미만 이었다(표2,3). 2주째 미생물의 총수는 e-PTFE에서 많았으나 통계

적인 유의성은 없고(Mann-Whitney U 검정), 두 막간의 세균총도 비슷하였다(표4). *A.a.* 2명, NID BPB 1명, *P.i.* 1명, *E.c.* 7명, *W.r.*

Table 2. Cultivable microflora of collagen membrane and antibiotic susceptibilities of these organisms to 3 antimicrobial agents

· collagen, 2 weeks

Patient	Total viable counts	% of total isolates	Antibiotics		
			CIP	TE	CC
W.K.A.	5.44 x 10 <sup>4</sup>	<i>A.a.</i> 1.6 x 10 <sup>3</sup> (2.94%)	S	R	S
C.B.C.	8.4 x 10 <sup>4</sup>		S	S	S
H.B.R.	8.0 x 10 <sup>5</sup>	<i>E.c.</i> 4.0 x 10 <sup>3</sup> (0.5%)	S	S	S
		<i>W.r.</i> 4.0 x 10 <sup>3</sup> (0.5%)	S	S	R
K.C.S.	1.5 x 10 <sup>4</sup>	<i>E.c.</i> 5.0 x 10 <sup>3</sup> (33.3%)	S	S	S
L.Y.W.	7.44 x 10 <sup>5</sup>	<i>E.c.</i> 1.4 x 10 <sup>4</sup> (1.88%)	S	S	S
B.S.K.	2.85 x 10 <sup>5</sup>		S	S	S
J.Y.H.	2.05 x 10 <sup>6</sup>		R	R	R

MEAN(range): 5.76 x 10<sup>5</sup>( 1.5 x 10<sup>4</sup>- 2.05 x 10<sup>6</sup>)

CIP:ciprofloxacin, TE:tetracycline, CC:clindamycin / S: susceptible, R: resistant

· Collagen, 6 weeks

Patient	Total viable counts	% of total isolates	Antibiotics		
			CIP	TE	CC
W.K.A.	6.9 x 10 <sup>5</sup>	<i>A.a.</i> 4.7 x 10 <sup>3</sup> (0.68%)	S	R	S

Table 3. Cultivable microflora of e-PTFE membrane and antibiotic susceptibilities of these organisms to 3 antimicrobial agents

· e-PTFE, 2 weeks

Patient	Total viable counts	% of total isolates	Antibiotics		
			CIP	TE	CC
A.H.K.	10 <sup>6</sup>	<i>A.a.</i> 2.1 x 10 <sup>3</sup> (0.21%)	S	R	S
K.I.S.	4.68 x 10 <sup>5</sup>	unknown STB 4 x 10 <sup>3</sup> (0.85%)	S	S	S
K.M.S.	10 <sup>8</sup>	<i>E.c.</i> 10 <sup>6</sup> ( 1%)	S	S	S
S.T.Y.	4.56 x 10 <sup>5</sup>		S	S	S
L.S.K.	7.36 x 10 <sup>5</sup>		R	R	R
J.O.B.	3.92 x 10 <sup>6</sup>		S	S	S
K.Y.S.	6.2 x 10 <sup>5</sup>		S	S	S

MEAN(range): 1.53 x 10<sup>7</sup>( 4.56 x 10<sup>5</sup>- 10<sup>8</sup>)

e-PTFE, 6 weeks

Patient	Total viable counts	% of total isolates		Antibiotics		
				CIP	TE	CC
A.H.K.	10 <sup>6</sup>	<i>A.a.</i>	6.8 x 10 <sup>3</sup> (0.68%)	S	R	S
K.Y.G.	5.48 x 10 <sup>5</sup>			S	S	S
C.C.L.	4.96 x 10 <sup>6</sup>	<i>E.c.</i>	4.4 x 10 <sup>5</sup> (8.87%)	S	S	S
K.I.S.	10 <sup>8</sup>	NID BPB	4 x 10 <sup>4</sup> (0.04%)	R	S	S
		<i>E.c.</i>	7.9 x 10 <sup>5</sup> (0.79%)	S	S	S
S.T.Y.	1.2 x 10 <sup>7</sup>			S	S	S
B.K.S.	4.64 x 10 <sup>7</sup>	unknown STB	9.2 x 10 <sup>6</sup> (19.8%)	S	S	S
K.K.S.	4.16 x 10 <sup>7</sup>	<i>P.i.</i>	1.5 x 10 <sup>5</sup> (0.36%)	S	S	S
		<i>E.c.</i>	7.6 x 10 <sup>6</sup> (18.27%)	R	S	S
		<i>Capnocytophaga</i>	1.5 x 10 <sup>5</sup> (0.36%)	S	S	S

MEAN(range): 2.95 x 10<sup>7</sup> (5.48 x 10<sup>5</sup>- 10<sup>8</sup>)

NID BPB: no identified black pigmented Bacteroides

Table 4. Mean proportion and prevalence of cultivable microflora in collagen and membrane

Organism	collagen (2 week)		e-PTFE (2 weeks)		e-PTFE (6 weeks)		total
	mean proportion (%) $\pm$ SD	prevalence	mean proportion (%)	prevalence	mean proportion (%) $\pm$ SD	prevalence	mean proportions in positive sample(%)
<i>A.a.</i>	0.27	1/7	0.01	1/7	0.02	1/7	1.13
NID BPB					0.14	1/7	0.04
<i>P.i.</i>					0.5	1/7	0.36
<i>E.c.</i>	1.85 $\pm$	3/7	6.5	1/7	9.98 $\pm$	3/7	6.6
	1.85				13.7		
<i>W.r.</i>	0.69	1/7					0.5
<i>Capnocytophaga</i>					0.5	1/7	0.36
STB			0.03	1/7	31.2	1/7	10.3

1명, *Capnocytophaga* 1명, unknown STB 2명에서 발견되었고, 각 양성표본의 평균비율은 113, 0.04, 0.36, 6.6, 0.5, 0.36, 10.3이었다(표

4). BPB는 e-PTFE막을 표본으로 한 6주째에만 항생제 감수성 검사에서 모두 tetracycline에 저항하였으나 항생제 내성을 매개하는 plas-

mid는 발견되지 않았다(표2, 3, 5). 그 외 clindamycin에 저항하는 *W.r.*, ciprofloxacin에 저항하는 NID BPB, *E.c.*가 한 경우씩 있었고 2

명에서는 균종은 알 수 없으나 실험에서 사용된 모든 항생제 내성을 보였다(표2, 3).

prevalence: number of positive sites  
 mean proportion:  $\frac{\text{mean No. of isolates} \times 100}{\text{mean total viable counts}}$

Table 5. Plasmid of *A.a.* resistant to tetracycline

Patients	membrane	plasmid	
		2 weeks	6 weeks
A.H.K.	e-PTFE	2 weeks	no
		6 weeks	no
W.K.A.	collagen	2 weeks	no
		6 weeks	no

Table 6. Microflora in the same people

Patients	2 weeks		6 weeks	
	total viable counts	% or No. of total isolates	total viable counts	% or No. of total isolates
W.K.A.	$5.44 \times 10^4$	<i>A.a.</i> $1.6 \times 10^3$	$6.9 \times 10^5$	<i>A.a.</i> $4.7 \times 10^3$
A.H.K.	$10^6$	<i>A.a.</i> $2.1 \times 10^3$	$10^6$	<i>A.a.</i> $6.8 \times 10^3$
K.I.S.	$4.68 \times 10^5$	unknown STB $4 \times 10^3$	$10^8$	NID BPB $4 \times 10^4$ <i>E.c.</i> $7.9 \times 10^5$
S.T.Y.	$4.56 \times 10^5$		$1.2 \times 10^7$	
K.M.S.	$10^8$		$10^8$	
mean	$3.36 \times 10^7$		$7.06 \times 10^7$	

Table 7. Antimicrobial susceptibilities to 3 antimicrobial agents

disc	tested	S	R
CIP	26	22	4
TE	26	20	6
CC	26	23	3

CIP:ciprofloxacin, TE:tetracycline, CC:clindamycin / S: susceptible, R: resistant

#### IV. 총괄 및 고안

조직재생유도술의 술식과 생물학적 관점으로 많은 연구가 되어왔으며 최근에는 재생술시 사용되는 막에 부착, 응집, 성장하는 세균과 임상적 결과에 대한 연구가 이루어지고 있다. 노출된 막을 오염시킨 세균의 형태학적 연구를 보면, Selvig<sup>9)</sup>는 재생술시 동안 구강내 노출된 e-PTFE 막에 특히 치경부 변연 근처와 개방 미세구조(open microstructure)에 심한 세균의 감염을 보고 하였고, Grevstad<sup>17)</sup>는 세균이 막에 군집하는 것 뿐아니라 개방미세구조(open microstructure)까지 침투한다고 했으며, Simion<sup>18)</sup>는 세균이 3~4주째에 부분봉합부(partially occlusive portion)까지 침투한다고 보고하였다.

미생물은 노출된 막에 부착, 집락하여 감염원이 되는데 조직재생막에 부착되는 미생물의 실험실연구에서 *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*(*P. gingivalis*, *P.g.*)가 막에 강하게 부착되었고 *A.a.*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces viscosus*는 다소 부착성이 있으며 spirochetes는 부착되지 않았다. collagen은 e-PTFE막보다 부착되는 세균의 수가 더 많은데 특히 *P.g.*는 부착력이 강하고 이 세균의 collagenase에 의해 collagen은 빠른 속도로 분해된다고 한다<sup>19)</sup>.

실험동물과 인체실험에서 e-PTFE는 개방미세구조(open microstructure)가 치태 축적의 요인이므로 임상결과를 저해하며 collagen의 경우 치태, 염증반응, 치은열구액 유출이 적고 좋은 임상 결과를 보인다는 보고도 있다<sup>7)</sup>. 본 연구에서 두 막간에 통계적 유의성 있는 미생물적 차이는 없었으나 e-PTFE에서 다소 세균의 수가 많았는데 이는 술후 일부 노출된 e-PTFE에 치태가 축적되었고 치태 채취 방법이 동일하지 않았기 때문으로 생각한다.

조직재생술후 재생정도와 미생물의 관계를 살펴보면 Nowzari와 Slots<sup>14)</sup>은 세균이 10<sup>8</sup>이하인 곳에선 평균 3mm 이상의 부착확득이 있었고 그 이상인 곳에선 부착소실 또는 1~2mm의 부착확득이 있고, BPB가 출현된 곳에는 재생이 저하되었다고 하였으며, Machtei와 Cho<sup>15, 20)</sup> 등

에 의하면 *A.a.*가 발견된 곳에서도 재생정도가 떨어진다고 한다. *A.a.*와 *P.g.*는 각각 섬유아세포 억제와 독소, 교원질분해효소등으로 치주조직재생을 방해하는 것으로 생각되는데, 즉 치주질환의 원인균이 조직재생유도술 동안에도 방해요소를 작용하는 것으로 생각되고 있다<sup>21, 22)</sup>.

Mombelli<sup>10)</sup>는 재생술시후 *p.g.*가 17.5%, *p.i.*가 21.3%, *Prevotella. melaninogenica* 6.8%, 일부 *Fusobacterium*, *Capnocytophaga*를 보고하였고, Nowzari and Slots<sup>14)</sup>은 3~8종의 다양한 수의 미생물 -BPB, *Fusobacterium*, *Capnocytophaga*,  $\beta$ -hemolytic streptococci, *A.a.*, Enteric rod-을 보고하며, 그 외 여러 연구들에서 이와 비슷한 세균총을 보고하고 있다<sup>15, 23)</sup>. 본 연구에서는 재생술식을 받은 16명의 미생물적 분석 결과 치주병인균 -NID BPB 1명, *P.i.* 1명, *A.a.* 2명, *E.c.* 7명, *W.r.* 1명, *Capnocytophaga* 1명, unknown STB 2명-이 발견되었고 위의 연구들과 일치한다.

본 연구에서는 초기 검사때 미생물적인 분석을 하지않아 조직재생유도술후 치은연하 세균총 변화에 관한 평가를 하지 못했다. e-PTFE 2주와 6주만을 비교해 보면, 6주째 세균의 수가 많고 2주째 보이지 않았던 NID BPB *P.i.*가 2명에서 발견되었다. 치태채취는 2주째는 paper point로, 6주째는 막의 일부를 사용했으므로 배양된 세균의 수적, 종별 차이가 있는 것으로 생각된다. e-PTFE막에 비해 paper point는 부착되지 않는 세균을 모으는 것이고 채취되는 세균의 양도 적다.

광범위 항생제를 복용한 후에도 *A.a.*나 다른 균주가 발견되는 이유는 저항균주가 있거나, 항생제의 사용기간이 불충분한 경우이거나, 치료되지 않은 곳에 있던 세균이 치료부위를 재감염시킨 경우이다<sup>24)</sup>. 그러므로 적절한 항생제를 사용하기 전에 항생제 감수성 검사가 필요하며 2주보다는 3주간 항생제를 복용하거나 보조적인 항생제를 사용하는 것이 바람직하다고 볼 수 있다. 항생제 감수성 검사는 원인균을 배양, 순수배양후 실시해야 한다. 그러나 세균의 다양성으로 많은 균주를 순수배양하는

것은 어렵다. 항생제 검사가 실험실 연구이므로 특히 치은열구내에 도달하는 항생제 농도를 참고하여 항생제를 사용하는 것이 좋다. 항생제 감수성 검사때 표준화된 방법을 사용해야 하며 가용성, 가양성을 고려해야 한다<sup>25, 26)</sup>. 본 연구에서 2주간 doxycycline 투여후 배양된 세균은 tetracycline 77%, clindamycin 89%, ciprofloxacin 85% 감수성이 있었다. clindamycin과 ciprofloxacin은 보조적인 항생제로 사용되기 적합하였다. 하지만 clindamycin은 전신적인 부작용으로 피하는 것이 좋겠고, ciprofloxacin은 최근에 개발된 광범위 quinolone제로 성인치주염의 Enteric rod에 특히 효과적이다<sup>27)</sup>. tetracycline은 이전에 사용 경험이 없는 사람에서는 세균을 억제하는 효과가 있지만 이전에 복용한 사람에선 비교적 비효과적이므로<sup>21)</sup> tetracycline 투여 경력이 있거나, 내성을 보이는 경우 ciprofloxacin으로 대체하는 것이 좋으리라 생각된다<sup>25)</sup>.

재생과정 동안 항균요법의 필요성에 관하여, 2주째와 막제거시 나타난 특정 미생물이 치유의 모든 과정에 관여한다고 볼수 없으므로 항생제를 복용하지 않더라도 professional tooth cleansing과 chlorhexidine 양치만으로 좋은 임상적 결과를 보인다는 주장도 있으나, 대부분의 연구들은 항균요법이 필요하다고 보고하고 있다<sup>10)</sup>. Slots<sup>28)</sup>은 치은연하 세균은 국소적 처치로 완전히 제거되지 않으므로 전신적 항생제 투여가 필요하다고 하였으며, Demolon<sup>29)</sup>은 e-PTFE사용자에서 항생제를 투여하지 않은경우 임상 염증반응, 치주병인균의 성장, 존재, 비율이 크고 시간이 지남에 따라 이러한 상황이 더욱 심화되고 임상적 결과가 저해되므로 부가적인 항생요법으로 세균을 조절하는 것이 요구된다고 보고하였다.

이상의 연구에서 조직재생유도술후 배양된 세균은 치주질환 원인균과 유사하였다. 앞으로 e-PTFE와 collagen에 부착되는 미생물의 특징을 고려하여 임상적으로 적용하기 위해서는 더 많은 관찰이 요구되며, 이를 바탕으로 소실된 치주조직의 보다 많은 재생을 도모할 수 있으리라 생각한다. 아울러 조직재생유도술에 적

절한 항생제의 용량, 용법에 관한 많은 연구로 치주병인균의 총수를 줄이거나, 조직재생유도술후 치유에 지장을 주는 세균을 억제시켜 좋은 임상적 결과를 얻는 것이 중요하다고 하겠다.

## V. 결 론

본 연구는 조직재생유도술을 실시한 환자를 대상으로 재생술식시 사용된 e-PTFE 및 collagen막에 부착되는 치주세균과 항생제 감수성을 알아보려고 시도하여 다음과 같은 결론을 얻었다

1. 실험결과 배양된 세균의 총수는 다양하였고 모두 10<sup>8</sup>미만 이었다. *A.a.* 2명, NID BPB 1명, *p.i.* 1명, *E.c.* 7명, *W.r.* 1명, *Capnocytophaga* 1명 unknown STB 2명에서 발견되었고, black pigmented bacteroides는 e-PTFE 막을 표본으로 한 6주째에만 발견되었다.
2. collagen 2주와 e-PTFE 2주째 배양된 미생물의 비교에서 출현빈도 및 비율의 차이가 크게 나타나지 않았다.
3. *A.a.*는 collagen균, e-PTFE균 각 1명에서 2, 6주째 발견되었는데 항생제 감수성 검사에서 모두 tetracycline에 저항성을 보였고, ciprofloxacin과 clindamycin에는 감수성을 보였다.
4. tetracycline에 저항성을 보이는 *A.a.*에서 plasmid는 발견되지 않았다.
5. clindamycin에 저항성을 보이는 *W.r.*, ciprofloxacin에 저항성을 보이는 NID BPB, *E.c.*가 한 경우씩 있었고 2명에서는 균종은 알 수 없으나 실험에서 사용된 모든 항생제에 내성을 보였다.
6. 총 26회 항생제 감수성 검사에서, 조직재생술후 배양된 세균에 대한 감수성은 ciprofloxacin 85%, tetracycline 77%, clindamycin 89% 이었다.

## 참고문헌

1. Gottolwm J., Nyman, S., Lindhe, J., Kar-



- ring T. and Wennstrom, J. : New attachment formation in human periodontium by guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol*, 13 : 604–616, 1986.
2. Gottolw J., Nyman, S., Karring, T. and Lindhe, J. : New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol*, 11 : 494–503, 1984.
  3. Pontoriero, R., Nyman, S., Lindhe, J., Rosenberg, E. and Sannavi, F. : Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in man. *J Clin Periodontol*, 14 : 618–620, 1987.
  4. Pontoriero, R., Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T., Rosenberg, E. and Sanavi, F. : Guided tissue regeneration in degree II furcation involved mandibular molars—A clinical study. *J Clin Periodontol*, 15 : 247–254, 1988
  5. Pontoriero R., Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T., Rosenberg, E. and Sanavi, F. : Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in mandibular molars. *J Clin Periodontol*, 16 : 170–174, 1989.
  6. Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T. and Rylander, H. : New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 9 : 290–296, 1982.
  7. Van Swol, R. L., Ellinger, R., Pfeiter, J., Barton, N. E. and Blumental, N. M. : Collagen membrane therapy to guided regeneration in class II furcation in human. *J Periodontol*, 64 : 622–629, 1993.
  8. Blumental, N. M. : A clinical comparison of collagen membrane with e-PTFE membrane in the treatment of human mandibular buccal class II furcation defects. *J Periodontol*, 63 : 925–933, 1993.
  9. Selvig, K. N., Kersten, B. G., Chamberlain, A. D. H., Wikesjö, U. M. E. and Nivéus, R. E. : Regenerative surgery of infrabony periodontal defects using e-PTFE barrier membranes : scanning electron microscopic evaluation of retrieved membranes versus clinical healing. *J Periodontol*, 63 : 974–978, 1992.
  10. Mombelli, A., Lang, N. P. and Nyman, s. : Isolation of periodontal species after guided tissue regeneration. *J Periodontol*, 64 : 1171–1175, 1993.
  11. Mombelli, A., Van Osten M. A. C, Schürch, E. and Lang, N. p. : The microbiota associated successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol*, 2 : 145–151, 1987.
  12. Adriaens, P. A., Edwards, C. A., DeBoever, J. A. and Loesche, W. J. : Ultrastructural observations on bacterial invasion in cementum and radicular dentin of periodontally diseased human teeth. *J Periodontol*, 59 : 493–503, 1988.
  13. Sbordone, L., Ramgalia, L., Gulletta, E. and Iacono, V. : Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis.
  14. Nowzari, H. and Slots, J. : Microorganisms in polytetrafluorethylene barrier membranes for guided tissue regeneration. *J Clin periodontol*, 21 : 203–210, 1994.
  15. Machtei, E. E., Cho, M. I., Dunford, R., Norderyd, J., Zambon, J. J. and Genco, R. J. : Clinical, microbiological and histological factors which influence the success of regenerative periodontal therapy. *J Periodontol*, 65 : 154–161, 1994.
  16. Wolff, L., Dahlèn, G. and Aepli, D. : Bacteria as risk markers for periodontitis. *J Periodontol*, 65 : 498–510, 1994.
  17. Grevstad, H. J. and Leknes, K. N. : Ultrastructure of plaque associated with e-

- PTFE membranes used for guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol*, 20 : 193–198, 1993.
18. Simion, M., Trisi, P., Maglione, M. and Piattelli, A. : A preliminary report on a method for studying the permeability of expanded polytetrafluoroethylene membrane to bacteria in vitro – A scanning electron microscopic and histological study. *J Periodontol*, 65 : 755–761, 1994.
  19. Wang, H. L., Yuan, K., Burgett, F., Shyr, Y. and Syed, S. : Adherence of oral microorganisms to guided tissue membranes. An *In vitro* study. *J Periodontol*, 65 : 211, 1994.
  20. Machtei, E. E., Dunford, R. G., Norderyd, O. M., Zambon, J. J. and Genco, R. J. : Guided tissue regeneration and antiinfective therapy in the treatment of class II furcation defects. *J Periodontol*, 64 : 968–973, 1993.
  21. Slots, J. : Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 6 : 351–382, 1979.
  22. Slots, J. and Genco, R. J. : Black pigmented *Bacteroides* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. *J of Dent Reserch*. 64 : 412–421, 1984.
  23. Demolon, I. A., Persson, G. R., Moncla, B. J., Jhonson, R. H. and Ammons, W. F. : Effects of antibiotic treatment on clinical conditions and bacterial growth with guided tissue regeneration. *J Periodontol*, 64 : 609–616, 1993.
  24. Slots, J. and Rosling, B. G. : Suppression of the periodontopathic microflora in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. *J Clin Periodontol*, 10 : 465–486, 1983.
  25. Walker, C. B. Gordon, J. M. and Socransky, S. : Antibiotic susceptibility testing of subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol*, 10 : 422–432, 1983.
  26. Nachnani, S., Scuteri, A., Newman, M. G., Avanesian, A. B. and Lomeli, S. L. : Antimicrobial susceptibility testing for periodontal microorganisms. *J Periodontol*, 63 : 576–583, 1992.
  27. Gordon, J. M. and Walker, C. B. : Current status of systemic antibiotic usage in the destructive periodontal disease. *J periodontol*, 64 : 760–771, 1993.
  28. Slots, J. and Rams, T. E. : Antibiotics in periodontal therapy : advantages and disadvantages. *J Clin Periodontol*, 17 : 479–493, 1990.
  29. Tanner, A. R. C. and Goodson, J. M. : Sampling of microorganisms associated with periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol*, 1 : 15–20, 1986.
  30. Magnusson, I., Lindhe, J. and Yoneyama, T. : Recolonization of a subgingival microbiota following scaling in deep pocket. *J Clin Periodontol*, 11 : 193–207, 1984.
  31. Walker, C. B., Gordon, J. M., McQuikin, S. J., Neibloom, T. A. and Socransky, S. : Tetracyclines – levels achievable in gingival crevice fluid and *in vitro* effect on subgingival organism. Part II.
  32. Newman, G. M. : The role of infection and anti-infection treatment in regenerative therapy. *J Periodontol*, 64 : 1166–1170, 1993.

## A COMPARATIVE STUDY ON THE PREDOMINANT CULTIVABLE MICROORGANISMS FOLLOWING THE APPLICATIONS OF E-PTFE AND COLLAGEN MEMBRANE AND THEIR ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY TEST.

Hyo-Jeong Im, Surg-Jo Kim, Jeom-Il Choi

*Dept. of Periodontology, College of Dentistry, Pusan National University.*

The comparative study on the predominant cultivable periodontopathic bacteria were done 2 weeks after the application of the e-PTFE membrane and collagen membrane in the controlled tissue regeneration procedures. The purpose of the present study also included the antibiotic susceptibility test (ciprofloxacin, tetracycline, clindamycin) of these cultured organisms.

0.1% chlorhexidine mouthwash (10ml twice/day for 6 weeks) and systemic doxycycline (200mg/day for 2 weeks) were administered for supragingival and subgingival plaque control respectively.

Four clinical isolates of *A.a.* from 2 patients were found to be resistant to tetracycline which were susceptible to clindamycin and ciprofloxacin. One isolate of *W.r.* and two unidentified microorganisms were resistant only to clindamycin and one isolate of NID BPB and *E.c.* and two isolates of unidentified microorganisms were resistant only to ciprofloxacin. Overall susceptibility of tested microorganisms to ciprofloxacin, tetracycline and clindamycin were 85%, 77% and 89% respectively.

The results indicated no significant differences in the percentage of cultivable periodontopathic bacteria between the two membranes, and also the microorganisms resistant to tetracycline after systemic administration of doxycycline turned out to be susceptible to either ciprofloxacin or clindamycin.