

감염근관에서 분리한 세균의 동정 및 항생제 감수성 검사

원광대학교 치과대학 보존학 교실

지정호 · 임미경

I. 서 론

근관 감염의 일차적 원인은 세균이므로 근관치료가 성공하기 위해서는 근관내에 존재하는 세균을 제거하는 것이 중요하다. 감염된 근관내의 세균의 분포는 구강의 상재균에 비하면 제한된 균을 형성하여 1종부터 12종까지 나타나며, 세균의 수도 다양하게 보고된 바 있다^{1,2)}. 근단부 병소의 크기와 근관에 존재하는 세균의 종류 및 세균의 수는 상관관계가 있으며, 병소가 큰 치아에서 더 많은 종류의 세균이 나타나고 근관내의 세균의 밀집도도 크다고 알려져 있다.

협기성 세균을 배양하는 기술이 발달함에 따라 근관내에서 협기성 세균이 차지하는 비율이 호기성 세균에 비하여 높게 나타났고 협기성 세균의 중요성이 점차 인식되기 시작하였다^{3,4)}. Fabricius⁵⁾는 원숭이를 이용한 근관감염 모델의 연구에서 근관에서는 시간 경과에 따라 구강내에서 흔히 발견되는 호기성 세균보다는 통성협기성 세균의 수가 증가하며 그 이후로는 절대 협기성 세균의 수가 증가한다고 보고하였다. 이 실험의 결과로 미루어 근관의 환경은 협기성 세균이 일정한 비율로 형성되도록 하는 선택적인 환경을 제공한다고 추측할 수 있다. 그러나 치유되지 않는 치근단 병소에서 통성협기성 세균이 검출되며⁶⁾ 근관치료 중에 악화된 증례에서 통성협기성 세균만이 보고되어⁷⁾ 근관감염에서 호기성 세균의 중요성을 간과할 수 없을 것이다.

근관감염이 확산되어 치근단 질환을 유발한 경우에 Stewart⁸⁾와 Hedman⁹⁾은 치근단부에 세균이 존재한다고 주장한 바 있다. 또한 Shindell¹⁰⁾은 62개의 치근단 병소에서 5%의 세균 분리를 보고하였고, Winkler¹¹⁾은 변형된 그람 염색을 이용하여 15증례 중 87%에서 세균이 존재한다고 보고하였다. 치근단부 조직에 세균이 존재한다는 점에 관하여는 아직도 논란이 있지만, 만약 치근단부에도 세균이 존재한다면 기구를 이용한 근관의 형성 이외에 부가적으로 소독방법을 고안하여 사용해야만 이 부위에서 효과적으로 세균을 제거할 수 있을 것이다. 근관의 소독은 일차적으로 근관치료시 사용하는 근관세척액의 항균작용에 의존하게 되는 경우가 많다.

근관치료시 기구를 사용한 기계적인 근관의 확대만으로는 근관내의 세균을 완전히 제거하기 어려워^{12,13)} 여러가지 종류의 약제를 사용한다^{14,15)}. 약제는 내원기간 사이에도 세균의 성장을 억제하고 살균할 목적으로 사용하게 된다. 이러한 약제로는 phenol, formaldehyde와 calcium hydroxide제제가 자주 사용되며 근관내에 넣어서 사용한다. 항생제와 corticosteroid를 포함한 약제가 이용되는데 이에 대한 연구는 비교적 적으며, 임상적으로는 근단부 치주염에서 사용된 경우가 보고된 바 있다^{16,17)}. 또한 최근에는 국소약물 송달체계(local delivery system)를 이용하여 근관내에 넣은 후 근관의 세균을 효과적으로 감소시키고자 하는 연구가 시도되

였으며, 이때 사용되는 약제로는 chlorhexidine과 quaternary ammonium compound, tetracycline등이 이용되고 있다¹⁸⁻²⁰⁾. 그러나 근관 외부의 치근단 조직에 세균이 생존하여 근단부 병변을 지속적으로 유발시키는 경우에는 근관내에만 한정된 약제로는 충분한 살균효과를 기대하기 어렵다. 이때는 항생제의 투여를 고려해야 하며, 먼저 세균배양을 시행한 후에 실험실 하에서 여러가지 항생제에 대하여 항생제 감수성 검사를 시행하여 감수성을 보이는 항생제를 선택하여야 효과적인 치료를 기대할 수 있으며, 특히 봉와직염(cellulitis)으로 확산되는 경우는 항생제의 적절한 선택이 중요하다.

근관 감염의 병인을 연구하기 위해서는 호기성 세균을 포함한 근관에서 배양 가능한 모든 균주에 관한 포괄적인 연구가 먼저 선행되어야 할 것이다. 국내에서는 감염 근관내의 세균의 분리에 관한 연구를 혐기성 세균에 관하여 일부 보고된 바 있으나 통성 혐기성 세균과 호기성 세균에 관한 연구는 미비하다. 외국에 비하여 항생제를 쉽게 구입 복용할 수 있는 국내의 현실을 감안할 때 이들이 나타내는 항생제 감수성의 양상이 외국의 보고와는 상이할 것으로 사료된다.

본 연구에서는 감염근관에서 호기성 세균을 분리하고 동정한 후 각각의 세균에 대하여 디스크 확산법과 액체배지 미세회석법을 이용하여 항생제 감수성 검사를 시행하여 근관감염 환자에서 동정된 세균의 항생제 감수성 양상에 관하여 조사하였다. 본 연구를 통하여 근관감염의 원인 균주와 그 항생제 감수성 양상을 개략적으로 파악하여 근관감염의 병인을 이해하고 효과적인 치료방법을 정립하는데 도움이 되고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 연구대상

원광대학교부속 치과병원 보존과에 내원하여 근관치료를 받은 13명의 초진환자에서 단일근관을 갖는 전치와 소구치를 대상으로 하였다. 환자는 21세부터 64세 사이의 연령분포를 보

였으며, 남자 7명 여자 6명이었다. 환자의 병력청취와 임상검사를 시행하여 동통, 부종, 화농, 형성, 타진 반응, 누공형성, 전기치수 검사 반응 여부, 악취등을 조사하였고, 방사선 사진상의 병소 유무와 내원 전 항생제 복용 여부를 조사하였다(Table 1). 동통이 있는 환자는 7명, 부종은 6명, 화농형성은 10명, 타진반응에 양성은 9명, 누공형성은 9명에서 양성을 보였고 전기치수검사의 반응은 모두 음성이었다. 환자 중 5명에서 악취가 있었고, 방사선 사진에서 10명이 방사선 투과성 병소가 존재하였다. 근관치료전에 5명의 환자는 항생제를 복용한 상태였다.

2. 감염근관내의 세균배양과 분리

Rubber dam으로 치아를 격리하고 치아와 인접조직, clamp를 3% H₂O₂와 요오드액로 닦아 소독하였다. 멸균 소독된 high speed bur로 근관외동을 형성하기 시작하여 치아의 상아질에 도달하면 멸균된 low speed round bur를 사용하여 완결하였다. Endodontic explorer로 근관입구를 확인한 후 멸균 소독된 paper point를 근관내에 치근단 부위로 추정되는 부위까지 넣고 약 10초간 방치한 후 Ringer액 1 ml이 든 시험관에 옮겼다. 시험관을 vortex mixer로 약 1분간 진탕한 후 100 μ l를 면양혈액 한천배지(녹십자, 한국)에 접종한 후 7자 유리병으로 고르게 도포하고 37°C, 5% CO₂배양기(비전과학, Model No. VS-9108MS, 한국)에 1-2일간 배양하였다. 배지에서 자란 집락 형태를 관찰하고, 집락 수를 센 후 모양이 비슷한 집락을 순수 배양하였다.

순수 배양된 각 세균을 BHI(brain heart infusion) 액체배지에 풀어서 5% CO₂배양기에 1일 배양한 후 균액 0.85ml과 소독된 glycerol 0.15ml을 가한 후 영하 70도의 Ultra Low Temperature Freezer(Revco Scientific Inc., Model No. ULT2186-5-D-U-A, USA)에 보관하였다.

3. 세균의 동정

1) 그람양성 구균의 동정

냉동고에 보관된 세균을 백금이로 면양혈액 한천배지에 접종하여 5% CO₂배양기에서 2일간 배양한 후 동정하였다. 세균의 동정은 한천배지에서의 세균 집락의 용혈양상, 그림염색 및 생화학 검사로 시행하였다. 그림염색 결과와 MacConkey배지에서 세균의 성장유무를 비교하여 그람양성균과 그람음성균으로 분류하였다.

분리한 균주를 그림염색하여 그람양성 구균인 경우, 혈액한천배지에서 용혈양상 및 집락의 크기를 관찰하였다. 먼저 catalase검사를 시행하여 양성인 경우, *Staphylococcus spp.*로 간주하고 gram positive identification(GPI) card (BioMeriux, MO, USA)를 이용하여 생화학 반응검사를 시행하였다. 그람양성 구균이면서 catalase 음성인 경우 *Streptococcus spp.*로 간주하여 역시 GPI card를 이용하여 생화학 반응을 관찰하였다. *Enterococcus spp.*는 집락이 크고 회백색이며 비용혈성으로 *Staphylococcus spp.*와 구분하기 힘들며, catalase검사로 감별하였다.

생화학 검사는 Vitek Systems(BioMeriux, MO, USA) 자동 세균 동정 및 감수성 기기와 GPI card를 이용하였다. 순수배양된 균집락을 0.45% NaCl 1.8ml에 McFarland No.1의 탁도로 풀었다. GPI card에 작업번호를 적은 후 transfer tube로 세균액과 카드를 연결시켜 Filling Stand에 세운 후 Filling Rack에 장치하였다. Vitek Systems기기의 Filling Module에 Filling Rack을 넣고 세균액을 흡인시켜 카드의 각 well에 세균액이 고르게 들어가도록 하였다. Filling Stand를 Vitek Systems 기기의 Sealer Module에 밀어넣고 카드로부터 transfer tube를 절단하였다. 균액이 들어간 카드를 Vitek Systems 기기의 Reader/Incubator tray에 꽂은 후 프린터 상태를 확인하고 약 16시간 방치하였다.

2) 그람음성 간균의 동정

그람염색상 그람음성 간균이고, 그람음성균의 선택배지인 MacConky배지에서 자라는 집락을 순수배양하여 indole, TSI(triple sugar iron agar) 사면배지 당분해검사를 시행하였다.

Vitek Systems 기기와 gram negative identification(GNI) card(BioMeriux, MO, USA)를 이용하여 생화학검사를 시행하였다.

동정방법은 그람양성 구균과 유사하나, 균액을 풀 때 그람양성 구균보다 균수가 적은 McFarland No.0.5의 탁도로 풀었다. 그람음성 간균의 경우, MacConkey배지에서 핑크색을 띠면 발효균(lactose fermenter)인 장내세균(Enterobacteriaceae)으로 생각하고 무색이면 그 이외의 비발효균(lactose non-fermenter)으로 간주하였다. 이들은 oxidase검사에서 각각 음성 및 양성 반응을 나타내었고, TSI 사면배지 당분해검사에서는 각각 산성/산성, 알칼리성/알칼리성을 보여 GNI card결과와 비교할 수 있었다.

4. 항생제 감수성 검사

1) 디스크 확산법(disk diffusion method)

순수 배양된 집락 2-3개를 면봉에 묻혀 Mueller-Hinton broth에 McFarland No. 0.5의 탁도로 풀었다. Mueller-Hinton agar(M-H agar)의 두께는 4mm이며, pH는 7.2-7.4가 되도록 배지를 제조하였다. 냉장고에 보관한 Mueller-Hinton agar를 꺼내어 배지바닥의 물기가 마르도록 37°C배양기에 15분 정도 두었다. 소독된 면봉을 균액에 적신 후 튜브벽에 눌러 면봉에 묻은 균액을 짜낸 후 M-H agar에 비스듬히 하여 60도씩 돌려가며 3회 고르게 도포한 후 약 5분 정도 실온에 방치하여 균액이 배지속으로 스며들도록 하였다.

일정한 농도의 항생제를 포함한 종이디스크를 디스크 분배기(disk dispenser)를 이용하여 배지위에 분주하였다. CO₂가 들어있지 않은 배양기에 16-18시간 배양하여 항생제 주변에 원형으로 형성된 세균 억제대의 생성여부를 관찰하고 직경을 caliper로 측정하였다. 억제대의 크기를 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)에서 추천한 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing(M100-S4, 1992)을 참고하여, 내성(resistant)과 감수성(susceptible)으로 구분하였다.

그람양성 구균의 항생제 감수성 검사에 사용했던 디스크의 종류로는 penicillin(10U), tetracyclin(30ug), oxacillin(1ug), clindamycin(2ug), gentamicin(10ug), cephalosporin(30ug) 등을 사용하였고, 그람음성 간균의 항생제 감수성검사에는 cefotaxime(30ug), tobramycin(10ug), chloramphenicol(30ug), gentamicin(10ug), amikacin(30ug), cephalosporin(30ug), ampicillin(10ug), kanamycin(30ug) 디스크를 사용하였다. 세균의 증식이 불충분하여 M-H agar에서 집락이 떨어져 있거나, 억제대가 명확히 생성되지 않은 것들은 반복하여 실험하였다.

2) 액체배지 미세희석법(broth microdilution test)

그람양성 구균 중 *staphylococcus spp.*와 *Enterococcus spp.*는 gram positive susceptibility (GPS-SA) card (Biomerix, MO, USA)를 이용하여 액체배지 미세희석법을 시행하고, 그람음성 간균은 gram negative susceptibility (GNS) card를 이용하였다. 그람양성 구균 중 *Streptococcus spp.*는 GPS-SA card를 사용할 수 없어 제외하였다.

Vitek Systems의 미세희석법은 약 3단계의

항생제 농도를 정하여, 감수성 여부를 결정하도록 되어있다. 생화학 검사를 위하여 세워둔 튜브의 균액을 그람양성 구균은 50ul, 그람양성 간균은 200ul 취하여 1.8ml의 0.45% NaCl 용액에 넣고 잘 섞었다. 세균 동정시 사용한 방법과 마찬가지로 transfer tube로 카드와 균액을 연결시키고, Filling 및 Sealing 과정을 거쳐서 Reader/Incubator에 넣었다. 결과는 균이 card의 well내에 있는 특정 농도의 항생제에서 자라면 혼탁해지고, 성장이 억제되면 처음의 상태대로 투명하게 남아있는 것을 이용하여 감수성 여부가 자동으로 판독되며, 결과가 불확실할 경우 눈으로 보면서 혼탁 여부를 판정하였다. 결과의 판정은 감수성(susceptible, S), 내성(resistant, R), 중등도 감수성(moderate susceptible, MS) 및 중간 감수성(intermediate, I)의 4가지로 분류하여 판정하였다.

III. 실험결과

연구 대상으로 한 13명의 환자에서 분리, 동정한 세균은 총 23균주이었다(Table 2). 각 환자에서 분리된 세균의 종류를 보면 1종부터 4종까지 분리되었다(Table 3). 연구대상 13명

Table 1. Age, sex, and related clinical symptoms of patients investigated

Patient NO.	Age	Sex	Pain	Swelling	Pus	Percussion	Fistula	EPT*	Odor	Radiographic lesion	Previous medication
1	42	F	+	+	+	+	-	-	-	+	-
2	25	F	+	+	+	+	-	-	-	+	+(3days)
3	40	F	-	-	-	-	-	-	-	+	-
4	45	F	+	-	+	+	-	-	-	+	-
5	50	F	+	+	+	+	-	-	-	+	+(4days)
6	25	M	-	-	+	-	+	-	+	-	-
7	67	M	+	-	-	-	-	-	-	-	-
8	21	M	+	+	+	+	+	-	+	+	+(3days)
9	25	M	-	-	+	+	-	-	+	+	-
10	22	M	-	-	+	-	-	-	-	-	+(2wks)
11	47	F	-	-	-	-	+	-	-	+	-
12	59	M	-	+	+	+	-	-	+	+	+(5days)
13	59	M	+	+	+	+	-	-	+	+	-

*Electric pulp test

중 1종이 분리된 환자는 7명이었고, 2종이 분리된 환자는 2명이었으며, 3종이 분리된 환자는 2명, 4종이 분리된 환자는 1명이었다.

*Enterococcus spp.*는 4균주가 분리되었는데 모두 *E. faecium*이었다.(Table 4) *Streptococcus viridans* group은 6균주였는데 *S.mitis*가 3균주, *S. uberis* 1균주, *S.sanguis* 1균주, *S. intermedius*가 각각 1균주씩 동정되었다(Table 5). *Staphylococcus spp.*는 총 5균주가 검출되었으며 그 중 4균주는 *S. sciuri*였다(Table 6). Non-fermenting Gram negative bacilli와 *Bordetella bronchoseptica*는 각각 2균주씩 분리되었다(Table 7). 그 밖에 *Neisseria spp.*, *Enterobacter*

cloacae, *Bacillus spp.*, *Alcaligenes spp.*는 각각 1균주가 분리되었다.

디스크 확산법에 의한 항생제 감수성 결과는 Table 8과 같다. 그람양성 구균과 대해서는 penicillin, tetracyclin, oxacillin, clindamycin, gentamicin, cephalosporin 등 6가지를 사용하였는데, *S.viridans* group에 대한 항생제 감수성 결과에서 작업번호 3번의 *S.mitis*와 17번의 *S. intermedius*는 사용된 항생제 6종에 대하여 모두 감수성을 보였다. *S. uberis*는 tetracyclin과 clindamycin에 내성을 보였으며, 나머지 4종의 항생제에 대하여는 감수성을 보였다. 11번의 *S. mitis*는 oxacillin을 제외한 5종의 항생제에 대하여 감수성을 나타내었으며, 16번의 *S. mitis*는 tetracyclin과 gentamicin에 대하여 내성을 보였다. *S.sanguis*는 clindamycin과 cephalosporin에 대하여 내성을 보였다. *S. viridans* group에서는 6종류의 균주가 모두가 penicillin에 대하여 감수성을 보였다. Gentamicin은 작업번호 16번의 *S. mitis*를 제외하고 나머지 5종류의 strain에 대하여 항균력을 나타내었다. *Staphylococcus spp.* 5균주에 대한 항생제 감수성 검사에서 *S. sciuri* 4균주는 각기 다른 감수성 양상을 보였다. 1번의 *S.sciuri*는 6종의 항생제

Table 2. Identification results of strains using Gram positive identification(GPI) and Gram negative indentification(GNI) card.

Work No.	Identification results
1	<i>Staphylococcus sciuri</i>
2	<i>Neisseria spp.</i>
3	<i>Streptococcus mitis</i>
4	<i>Bordetella bronchoseptica</i>
5	<i>Bordetella bronchoseptica</i>
6	<i>Streptococcus uberis</i>
7	<i>Staphylococcus sciuri</i>
8	<i>Enterococcus faecium</i>
9	<i>Enterobacter cloacae</i>
10	<i>Staphylococcus sciuri</i>
11	<i>Streptococcus mitis</i>
12	<i>Enterococcus faecium</i>
13	<i>Enterococcus faecium</i>
14	<i>Staphylococcus simulans</i>
15	<i>Streptococcus sanguis</i>
16	<i>Streptococcus mitis</i>
17	<i>Streptococcus intermedius</i>
18	Non-fermenting Gram negative bacilli
19	Non-fermenting Gram negative bacilli
20	<i>Staphylococcus sciuri</i>
21	<i>Bacillus spp.</i>
22	<i>Alcaligenes spp.</i>
23	<i>Enterococcus faecium</i>

Table 3. Microorganism list according to patient's number

Pt's No.	Work no. of microorganisms
1	4, 12, 13, 18
2	5, 22
3	1, 2
4	23
5	19
6	21
7	8
8	9
9	7
10	3, 16, 17
11	10, 20
12	6, 14, 15
13	11

Table 4. Biotyping of *Enterococcus spp.* by GPI card

*Reaction	Work No.			
	8	12	13	23
PB	+	+	+	+
BAC	+	+	+	+
OPT	+	+	+	+
HCS	-	+	-	-
6NC	+	+	-	+
1OB	+	+	+	+
4OB	+	+	+	+
ESC	+	+	+	+
ARG	+	+	+	+
URE	-	-	-	-
TZR	+	+	+	+
NOV	+	+	+	+
DEX	+	+	+	+
LAC	-	+	-	-
MAN	+	+	+	+
RAF	+	+	-	-
SAL	+	+	+	+
SOR	-	-	-	-
SUC	+	+	+	-
TRE	+	+	+	+
ARA	-	+	-	-
PYR	-	-	-	-
PUL	-	-	-	+
INU	-	-	-	-
MEL	-	+	-	-
MLZ	-	-	-	-
CEL	+	+	+	+
RIB	+	+	+	+
XYL	-	-	-	-
CAT	-	-	-	-
BH	-	-	-	-
Id.	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>

*Reaction in order : Peptone base, Bacitracin, Optochin, Hemicellulase, 6% NaCl, 10% Bile. 40% Bile, Esculin, Arginine, Urea, Tetrazolium red, Novobiocin, Dextrose, Lactose, Mannitol, Raffinose, Salicin, Sorbitol, Sucrose, Trehalose, Arabinose,

Pyruvate, Pullulan, Inulin, Melibiose, Melezitose, Cellobiose, Ribose, Xylose, Catalase, Beta-hemolysis

Table 5. Biotyping of *Streptococcus viridans* group by GPI card

*Reaction	Work No.					
	3	6	11	15	16	17
PB	+	+	+	+	+	+
BAC	+	-	+	-	-	+
OPT	+	+	+	+	+	+
HCS	+	-	+	+	+	+
6NC	-	-	-	-	-	-
1OB	-	+	-	-	-	+
4OB	-	-	-	-	-	-
ESC	-	+	-	-	-	+
ARG	-	-	-	-	-	+
URE	-	-	-	-	-	-
TZR	+	+	+	-	-	+
NOV	-	-	+	-	-	+
DEX	+	+	+	+	+	+
LAC	+	-	+	+	+	+
MAN	-	-	-	-	-	-
RAF	-	+	-	+	-	-
SAL	-	+	-	-	-	+
SOR	-	+	-	-	-	-
SUC	+	+	+	+	+	+
TRE	+	+	-	-	+	+
ARA	-	-	-	-	-	-
PYR	-	-	-	-	-	-
PUL	+	+	-	+	+	-
INU	-	+	-	-	-	-
MEL	-	-	-	+	-	-
MLZ	-	-	-	-	-	-
CEL	-	+	-	-	-	+
RIB	-	-	-	-	-	-
XYL	-	-	-	-	-	-
CAT	-	-	-	-	-	-
BH	-	-	-	-	-	-
Id.	<i>S.mitis</i>	<i>S.suberis</i>	<i>S.mitis</i>	<i>S.sanguis</i>	<i>S.mitis</i>	<i>intermedius</i>

중 penicillin, tetracyclin, cephalosporin 등 3가지 항생제에만 감수성을 보였고, 7번의 *S. sciuri*는 tetracyclin, gentamicin, cephalosporin 등에 감수성을 보였다. 10번의 *S. sciuri*는 tetracyclin에서만 감수성을 나타내고 나머지 5종

Table 6. Biotyping of *Streptococcus spp.* by GPI card

*Reaction	Work No.				
	1	7	10	14	20
PB	+	+	+	+	+
BAC	+	+	+	+	+
OPT	+	+	+	+	+
HCS	-	-	-	+	-
6NC	+	+	+	+	+
1OB	+	+	+	+	+
4OB	+	+	+	+	+
ESC	+	+	+	-	+
ARG	+	+	+	-	+
URE	-	-	-	+	-
TZR	+	+	+	+	+
NOV	+	+	+	-	+
DEX	+	+	+	+	+
LAC	-	-	-	+	-
MAN	+	+	+	-	+
RAF	-	-	-	-	-
SAL	+	+	+	-	+
SOR	-	+	+	-	+
SUC	-	+	+	+	+
TRE	+	+	+	+	+
ARA	-	-	-	-	-
PYR	-	-	+	+	+
PUL	-	-	-	-	-
INU	-	-	-	-	-
MEL	-	-	-	-	-
MLZ	-	+	+	-	+
CEL	+	+	+	-	+
RIB	+	+	+	-	+
XYL	-	-	-	-	-
CAT	+	+	+	+	+
COAG	-	-	-	-	-
Id.	<i>S. sciuri</i>	<i>S. sciuri</i>	<i>S. sciuri</i>	<i>S. simulans</i>	<i>S. sciuri</i>

Table 7. Biotyping of Gram negative rods by GNI card

Reaction*	Work No.					
	4	5	9	18	19	22
DP3	-	-	+	-	-	-
OGF	-	-	+	-	-	-
GC	+	+	+	+	+	+
ACE	-	-	-	-	-	+
ESC	-	-	-	-	-	-
PLI	-	-	+	-	-	-
URE	+	+	-	+	+	+
CIT	+	+	+	+	+	+
MAL	+	+	-	+	+	+
TDA	-	-	-	-	-	-
PXB	-	-	-	-	-	-
LAC	-	-	+	-	-	-
MLT	-	-	+	-	-	-
MAN	-	-	+	-	-	-
XYL	-	-	+	-	-	-
RAF	-	-	+	-	-	-
SOR	-	-	+	-	-	-
SUC	-	-	+	-	-	-
INO	-	-	-	-	-	-
ADO	-	-	-	-	-	-
COU	-	-	-	-	-	-
H2S	-	-	-	-	-	-
ONP	-	-	+	-	-	-
RHA	-	-	+	-	-	-
ARA	-	-	+	-	-	-
GLU	-	-	+	-	-	-
ARG	-	-	-	-	-	-
LYS	-	-	-	-	-	-
ORN	-	-	+	-	-	-
OXI	+	+	-	+	+	+
Id**			NF G(-)		NF G(-)	
	<i>B. broncho</i>	<i>B. broncho</i>	<i>E. cloacae</i>			<i>Alcaligenes</i>

***B. broncho*, *B. bronchoseptica*; NF G(-), non-fermenting Gram negative rod.

*Reaction in order; DP-300, Glucose (Oxidative), Growth control, Acetamide, Esculin, Plant Indican, Urea, Citrate, Malonate, TDA (tryptophan

deaminase), Polymyxin B, Lactose, Maltose, Mannitol, Xylose, Raffinose, Sorbitol, Sucrose, Inositol, Adonitol, p-Coumaric, H₂S, ONPG(O-nitrophenyl-beta-D-galactopyractopyranoside), Rhamnose, Arabinose, Glucose(Fermentative), Arginine, Lysine, Base control, Ornithine, Oxidase.

의 항생제에 대하여는 모두 내성을 보였다. *S. simulans*는 penicillin과 cephalosporin에 대해서만 내성을 갖고 나머지 4가지 항생제에는 모두 감수성을 나타냈다. Tetracyclin은 *Staphyococcus spp.* 5종류의 strain중에서 작업번호 20번의 *S.sciuri*를 제외한 4종류의 strain에 대하여 항

Table 8. Antibiotic susceptibility of Gram positive cocci by disk diffusion method*

No.	Identification	P	TC	Ox	Cli	GM	Cep
<i>Streptococcus viridans</i> groups							
3	<i>S.mitis</i>	S	S	S	S	S	S
6	<i>S.uberis</i>	S	R	S	R	S	S
11	<i>S.mitis</i>	S	S	R	S	S	S
15	<i>S.sanguis</i>	S	S	S	R	S	R
16	<i>S.mitis</i>	S	R	S	S	R	S
17	<i>S.intermedius</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Enterococcus</i> spp.							
8	<i>E.faecium</i>	S	S	R	R	S	S
12	<i>E.faecium</i>	R	S	R	R	R	R
<i>Staphylococcus</i> spp.							
1	<i>S.sciuri</i>	S	S	R	R	R	S
7	<i>S.sciuri</i>	R	S	R	R	S	S
10	<i>S.sciuri</i>	R	S	R	R	R	R
14	<i>S.simulans</i>	R	S	S	S	S	R
20	<i>S.sciuri</i>	R	R	R	R	S	R

*Antibiotics in order : Penicillin, Tetracyclin, Oxacillin, Clindamycin, Gentamicin, Cephalosporin.

Table 9. Antibiotic susceptibility of Gram negative rods by disk diffusion method*

No.	Identification	Ctx	Tob	CMP	GM	Amk	Cep	Amp	K
4	B.bronchoseptica	S	R	R	R	R	S	R	R
5	B.bronchoseptica	S	R	R	R	R	R	R	R
18	NF G(-) bacilli	S	R	R	R	R	R	R	R
19	NF G(-) bacilli	S	R	R	R	R	S	R	R
22	Alcaligenes spp.	S	R	R	R	R	S	R	R

*Antibiotics in order : Cefotaxime, Tobramycin, Chloramphenicol, Gentamicin, Amikacin. Cephalosporin, Ampicillin, Kanamycin.

균력을 나타내어 가장 효과적인 항균제였다.

Enterococcus spp. 2종에 대한 항생제 감수성 검사의 결과는 서로 달랐다. 8번의 *E. faecium*은 oxacillin과 clindamycin에만 내성을 보였으나 12번의 *E. faecium*은 tetracyclin을 제외한 기타 5종의 항생제에 대하여 모두 내성을 보였다.

*Enterococcus spp.*는 tetracyclin에 대하여 2균주 모두 감수성을 나타내어 tetracyclin이 효과적인 항균제였다.

디스크 확산법을 이용한 그람음성 간균의 8가지 항생제에 대한 감수성의 결과는 Table 9와 같다. 4번의 *B. bronchoseptica*는 cefotaxime과 cephaosporin등 2가지 항생제에만 감수성을 보였고, 5번의 *B. bronchoseptica*는 cefotaxime에만 감수성을 나타내었다. 비발효 그람음성 간균인 2균주의 세균에서도 항생제 감수성 결과는 약간 다르게 나타났는데, 18번에서는 cefotaxime에서만 감수성을 보였으나, 19번에서는 cefotaxime과 cephalosporin에 감수성을 보였다. *Alcaligenes spp.*는 cefotaxime과 cephalosporin에 감수성을 나타냈으며, 이 결과는 4번의 *B. bronchoseptica*와 19번의 비발효성 그람음성 간균의 항생제 감수성 결과와 일치하였다. Cefotaxime은 그람음성 간균 5종류에 대하여 모두 감수성을 보여서 가장 효과적인 항균제였다.

*Staphylococcus spp.*에 대한 액체배지 미세 희석법과 결과는 Table 10과 같다. 1번의 *S. sciuri*는 사용된 항생제 10가지 중에서 ciprofloxacin, erythromycin, tetracyclin, vancomycin에 감수성을 보였다. 7번의 *S. sciuri*는 ciprofloxacin, tetracyclin, sulfamethoxazol-trimethoprim과 vancomycin에 감수성을 보였으며 erythromycin에는 중간 감수성(intermediate)을 보였다. 10번의 *S. sciuri*는 tetracyclin과 sulfamethoxazol-trimethoprim, vancomycin에 감수성을 보였으며, ciprofloxacin에는 중등도 감수성(moderate susceptible)를 보였다. 20번의 *S. sciuri*는 ciprofloxacin과 erythromycin, sulfamethoxazol-trimethoprim에 감수성을 보였다. 1, 7, 10, 20번의 *S. sciuri*는 약간씩 다른 항생제 감수성 양상을 보였으며, beta-lactamase검사에서는 모두 양성을 보였다. 14번의 *S. simulans*는 검사한 6가지 항생제 중 ciprofloxacin, clindamycin, erythromycin, tetracyclin, vancomycin에 감수성을 보였으며, penicillin에는 중등도 감수성을 나타내어 *S. sciuri*보다는 항생제 대해 감수성이 높은 것을 알 수 있었다. *Staphylococcus spp.* 5종류에 대하여 10가지 항생제의 효능을 종합하여 보면 vancomycin에는 모든 세균이 감수성을 나타내어 가장 항균력이 강한 항생제였다.

Table 10. Broth microdilution test results of *Staphylococcus spp.**

No.	Identification	Amp/Sulb	Cep	Cip	Cli	EM	Ox	P	TC	Sxt	VN	Beta
1	<i>S. sciuri</i>	≥32 R	≥32 R	≤0.5 S	>8 R	≤0.5 S	≥8 R	≥16 R	≤1 S	80 R	≤0.5 S	pos
7	<i>S. sciuri</i>	≥32 R	≥32 R	≤0.5 S	>8 R	1 I	≥8 R	≥16 R	≤1 S	≤10 S	1 S	pos
10	<i>S. sciuri</i>	≥32 R	≥32 R	2 MS	≥8 R	1 I	≥8 R	≥16 R	1 S	≤10 S	1 S	pos
14	<i>S. simulans</i>			≤2 S	≤0.5 S	≤0.5 S		0.25 MS	≤1 S		2 S	
20	<i>S. sciuri</i>	≥32 R	≥32 R	≤0.5 S	≥8 R	≤0.5 S	≥8 R	≥16 R	≥16 R	≤10 S	1 S	pos

*Antibiotics in order : Ampicillin/Sulbactam, Cephalosporin, Ciprofloxacin, Clindamycin, Erythromycin, Penicillin, Tetracyclin, Sulfamethoxazol-trimethoprim, Vancomycin, Beta-lactamase.

Table 11. Broth microdilution test results of *Enterococcus* spp*.

No.	Identification	Cip	P	TC	VN
8	<i>E. faecium</i>	2	0.12	4	≤0.5
		MS	MS	S	MS
12	<i>E. faecium</i>	1	1	≤1	≤0.5
		S	MS	S	MS
13	<i>E. faecium</i>	1	0.12	≤1	≤0.5
		S	MS	S	MS
23	<i>E. faecium</i>	1	0.12	≤1	≤0.5
		S	MS	S	MS

*Antibiotics in order : Ciprofloxacin, Penicillin, Tetracyclin, Vancomycin.

Table 12. Broth microdilution test results of Gram negative rods

No.	Identification	Amk	Amp	Cb	Cfm	Ctx	Cep	CMP	GM	TC	Tob	Sxt
4	<i>B. bronchoseptica</i>	≥64	≥32	32	≥32	≥32	≥32	16	≥16	≤1	≥16	≤10
		R	R	MS	R	R	R	I	R	S	R	S
5	<i>B. bronchoseptica</i>	≥64	≥32	≥512	≥32	≥32	≥32	≥32	≥16	8	≥16	≤10
		R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	S
18	NF G(-) bacilli	≥64	≥32	≥512	≥32	≥32	≥32	≥32	≥16	≤1	≥16	≤10
		R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
19	NF G(-) bacilli	≥64	≥32	≥512	≥32	≥32	≥32	≥32	≥16	≤1	≥16	≤10
		R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
22	<i>Alcaligenes</i> spp.	≥64	≥32	≥512	≥32	≥32	≥32	≥32	≥16	≤1	≥16	≤10
		R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S

*Antibiotics in order : Amikacin, Ampicillin, Carbenicillin, Cefamandole, Cefotaxime, Cephalosporin, Chloramphenicol, Gentamicin, Tetracyclin, Tobramycin, Sulfamethoxazol-trimethoprim.

Enterococcus spp.에 대한 액체배지 미세회석법의 결과는 Table 11과 같다. 8번의 *E. faecium*은 tetracyclin에 대한 감수성을 보였으며, 12번의 *E. faecium*은 ciprofloxacin과 tetracyclin에 감수성을 나타냈다. 13번과 23번의 *E. faecium*은 사용한 4가지 항생제에 대한 감수성 검사의 결과가 동일하였다. 4종의 *Enterococcus* spp.에 대하여 4가지의 항생제가 나타내는 항균력을 종합하여 보면 tetracyclin만이 4종류의 균주에 대하여 모두 항균력을 나타내었다. Vancomycin은 최소억제농도가 0.5이하였으나, 이 농도에서 중간감수성을 보고되었다.

그람음성 간균에 대한 11가지 항생제의 액체배지 미세회석법 결과는 Table 12와 같다.

4번의 *B. bronchoseptica*는 tetracyclin과 sulfamethoxazol-trimethoprim에 감수성을 보였다. 5번의 *B. bronchoseptica*는 sulfamethoxazol-trimethoprim에만 감수성을 보였고, tetracyclin에는 중간감수성을 반응을 보였다. 18번과 19번의 비발효성 그람음성 간균과 22번의 *Alcaligenes* spp.는 11가지 항생제의 감수성 결과가 모두 일치하였는데, tetracyclin과 sulfamethoxazol-trimethoprim에만 감수성을 나타내었다. 그람음성 간균에 대하여 11가지의 항생제가 나타내는 항균력을 종합하여 보면 sulfamethoxazol-trimethoprim에만 감수성을 나타내었다. 그람음성 간균에 대하여 11가지의 항생제가 나타나는 항균력을 종합하여 보면 sulfa-

methoxazol-trimethoprim이 모든 세균에 대하여 항균력을 나타내어 가장 효과적인 항생제였다. 작업번호 5번의 *B. bronchoseptica*를 제외하고 4종류의 세균이 tetracyclin에 감수성을 나타내어 tetracyclin도 항균력의 범위가 넓었다.

IV. 총괄 및 고찰

Fabricius⁵⁾의 연구에 의하면 감염된 근관에서 분리된 여러 종류의 세균을 혼합하여 실험된 다른 치아의 근관에 접종하면 혐기성 세균이 우세하게 나타나며, 각 세균을 인위적으로 같은 비율로 하여 근관에 접종해도 근관에는 원래의 비율대로 세균의 분포가 형성된다고 한다. 이것은 근관내의 세균의 분포에는 선택적인 기전이 작용하여 어떤 특정한 세균이 다른 세균에 비하여 근관내에서 생존하고 증식하는 능력이 우수함을 의미한다, 즉 근관내의 환경은 혐기성 세균이 일정한 비율로 형성되도록 하는 선택적인 환경이라고 생각할 수 있다. 이와같이 혐기성 세균이 근관내에서 발견되는 비율이 호기성 세균에 비하여 월등하지만, 통성혐기성 세균 중 *Staphylococcus epidermidis*는 근관내에서 자주 발견되는 세균으로 알려져 왔으며²⁵⁾ Tronstad⁶⁾은 치유되지 않는 치근단병소부터 이 세균을 다수 분리하여 보고하였다. Sabiston²⁴⁾도 화동성 감염부위에서 흡인하여 배양한 경우에 이 세균의 존재를 보고하였다. 또한 Matusow⁷⁾은 근관치료를 받는 도중 급성으로 악화된 치아우식이 없는 34개의 무수치에서 혐기성세균이 분리되지 않았음을 보고하였다. 그들의 연구에서는 통성 혐기성 세균인 *Streptococcus spp.*가 80%의 빈도로 발견되었는데, alpha hemolytic streptococci와 group D enterococci가 혼합배양되거나 순수배양된 경우가 가장 흔히 나타나서 근관 감염연구에 *Streptococcus spp.*의 독성을 평가하는 것이 중요하다고 하였다.

최근에는 감염된 근관에서뿐만 아니라 치근단의 병소에서도 세균이 검출된다고 알려졌다. Tronstad⁶⁾은 비외과적인 근관치료로 치유되

지 않는 8증례의 치근단 병소에서 모두 세균이 존재하며, 5증례에서는 혐기성세균이 우세한 혼합감염이 나타났고, 2증례에서는 혐기성세균만을 검출하였다. Iwu²⁵⁾은 16증례의 치근단 병소 중 88%에서 세균을 발견하였으며, 분리된 47종의 세균 중 26종의 통성혐기성 세균과 21종의 절대혐기성 세균을 보고하였다. 또한 Wayman²⁶⁾은 58증례의 치근단 병소에 대한 세균학적 및 조직학적인 검사를 시행한 결과 51증례에서 양성배양의 결과를 보였고 조직학적으로는 8증례에서만 세균을 발견하였다. 분리된 133종의 세균 중 87종은 절대혐기성 세균이었고, 37종은 통성혐기성 세균이었으며 9종은 호기성 세균이었다.

근관치료가 근관내의 세균 생태계에 미치는 영향을 살펴보면, 근관은 기질이 제한되어 있고 대사 및 성장억제 산물이 생성되어 다양한 세균의 상호 작용이 일어나는데 근관치료는 이러한 세균집단의 체계에 방해역할을 한다. 근관이 개방되면 혐기성 상태가 파괴되어 file등을 통한 기계적인 치료는 세균과 영양분을 제거하고 세균 상호간의 작용도 방해한다. 그러나 근관치료후에 근관을 폐쇄하면 혐기성 상태가 회복되며 근관에 조직액이 유입되어 세균이 다시 성장한다. 따라서 근관벽을 완전히 정화한 후에 근관내에 약제를 도포해야만 잔존한 세균을 제거할 수 있다²⁷⁾. 그렇지 않으면 근관의 세균 생태가 변하하면서 원래의 감염에서 작은 빈도를 차지하던 *Enterococcus faecalis* 등은 항생제에 내성이 강한 세균이 증식되어 치료하기 어려운 병소를 유발한다²⁸⁾.

세균이 근관의 외부에서 생존하여 지속적인 근단부 병소를 유발할 수 있으므로, 치근단부에 병소가 형성되면 통상적인 근관치료만으로는 치유되지 않으며, 전신적인 항생제 치료와 수술을 같이 시행하여야 치유될 수 있다. Tronstad⁶⁾은 증상이 없는 근단부 치주염의 치료에서 초기의 비외과적 근관치료가 실패하는 증례를 보고하였다. 이 경우 근관의 내부와 누공, 치근단의 수술시 병소 부위에서 직접 배양한 결과 세균은 제거되는 것이 아니라 단지 그 조성이 변하는 정도로 나타났다. 근관내 약제

로서 calcium hydroxide와 국소약물 송달체계(local delivery system)를 사용하였는데 이 약제를 사용한 후에 근관내 세균의 분포에 변화가 나타나서 치료 전 혐기성 세균인 *Bacteroides spp.*의 우세한 발현에서 치료 후 *Staphylococcus spp.*와 *Streptococcus spp.*가 우세하게 나타났다. 근관치료에서 항생제의 사용에 관하여는 1950년대에 가장 큰 관심의 대상이었고^{29, 30)} 그 후 점차 전신적인 투여보다는 근단부 치주염의 치료에 사용하는 항생제와 스테로이드의 혼합 약제를 근관안에만 국소적으로 사용하는 방법이 연구되고 있다. Heling등³¹⁾은 *Staphylococcus aureus*로 인위적으로 감염시킨 근관에서 demethylchlortetracycline과 triamcinolone으로 구성된 Ledermix와 tetracycline이 이 세균을 효과적으로 제거함을 보고하였다. Molando등²⁸⁾은 치수와 괴사되어 치근단 병소가 형성된 25개의 치아를 대상으로 근관내에 clindamycin을 넣은 후 치료기간 동안 세균배양을 시행하였다. 그 결과 clindamycin은 통상적으로 사용되는 calcium hydroxide에 비하여 우수한 점을 발견하지 못하여 근관내 사용약제로서 추천하지 않았다.

본원에 내원한 근관감염 환자 13명의 증상 및 징후에서 가장 흔한 소견은 화농(10명, 타진시 통증(9명) 및 방사선 투과성 병소(10명)이었다. 그밖에 동통(8명)과 부종(7명)이 흔한 증상이었고, 악취(5명)와 누공형성(2명)이 일부 있었으며, 전기치수 검사에서는 모두 음성을 보였다(Table 1). 13명중 5명(39%)이 이미 내원전 항생제를 복용한 상태이었지만, 항생제의 종류를 정확히 알 수 없었다. 이는 우리나라 의료 체계에서 치통이 있을 때 환자들은 우선 약국에 방문에 항생제를 구입해 복용할 수 있는 여건 때문에 사료되며, 투약으로도 동통이나 부종이 가라앉지 않고 병소부위가 더 심각해져 화농이 형성되거나 심한 자발성 동통상태가 되어야 병원에 방문하는 현실을 잘 반영한다고 할 수 있다. 따라서 감염 근관에서 분리되는 세균은 이미 항생제에 대해 노출된 상태이고, 항생제에 내성을 획득하거나 본래의 균의 환경 상태가 달라질 수 있을 것이다. 본

연구에서는 절대 혐기성 세균이 분리된 경우가 아주 적어 이에 관한 연구는 제외하였는데, 실제로 혐기성 세균보다는 통성혐기성 또는 호기성 세균이 감염근관의 주 원인일 가능성도 배제할 수는 없다. 비록 환자수가 많지는 않지만 본 연구결과로부터 몇 가지 결론을 얻을 수 있었다. 감염근관의 주 원인균은 그람 양성균으로 65% (15/23)에 해당하였고, 이는 *S. viridans* group이 6균주, *Staphylococcus spp.*가 5균주, *E. faecium*이 4균주씩 구성되었다. 둘째로 많은 균은 그람 음성 간균으로 26% (6/23)이었고, 1균주를 제외하고는 모두 비발효성(lactose non-fermenter)이었다. 비발효성 간균은 발육속도가 느리고, 생화학 반응을 거의 나타내지 않는 특징이 있는데, 본 연구에서도 이들 균주는 약 30가지의 생화학 반응 검사중 5-6가지만 양성반응을 보여서 정확한 균주 동정이 어려운 이유가 되었다(Table 7). *B. bronchoseptica*로 동정된 2균주와 동정이 안된 비발효성 그람음성 간균(non-fermentative Gram negative rod) 2균주는 생화학 반응 검사가 같았지만 Viek Systems에서 이와 같이 보고하였고, *Alcaligenes spp.* 1균주도 생화학 반응 검사 1가지를 제외하면 이들과 똑같은 결과를 보여 비발효성 그람 음성 간균 5균주는 실제로는 같은 종으로 사료되었다. 이에 반해 그람음성 간균중 발효성(lactose fermenter)인 균주는 *E. cloacae* 1균주에 불과하였다.

일반적으로 항생제 감수성 검사에서는 실험실에서 세균에 대하여 감수성을 보이지 않으면 임상에서도 감수성을 보이지 않았지만, 실험실에서 감수성을 보여도 실제 임상에서는 반드시 감수성을 나타내지는 않는다. 감염부위에는 매우 복잡한 상황으로서 세균은 세포의 잔여물의 복합체와 기타 조직성분 및 이의 산물로 구성된 plaque로 싸여 있으며, 세균 중 일부는 다량의 다당류를 생성하여 효과적으로 항생제의 확산을 억제하기 때문이다. 항생제 감수성 결과를 보면 *S. viridans* group인 경우 검사한 항생제에 대해 대부분 감수성을 보였다. *E. faecium*은 *E. faecalis*에 비해 훨씬 항생제 감수성율이 높고, 독성도 낮은 것으로 알려져

있는데 본 연구에서 균주수가 많지는 않지만, 2균주 모두 tetracyclin에 감수성을 보였다. *Staphylococcus spp.*는 *S. viridans* group에 비하여 항생제에 대한 내성율이 높았는데, 특히 penicillin, oxacillin에 대해 5균주중 4균주가 내성을 보였다. 따라서 되도록이면 균주의 동정 및 항생제의 감수성 결과를 참고하여 감염 근관 치료시 선택해야 할 것이다. 비발효성 그람음성 간균은 1세대 및 3세대 cephalosporin 항생제에는 비교적 감수성을 보였지만, 나머지 aminoglycoside계통이나 ampicillin, chloramphenicol에는 내성을 나타내 3세대 cephalosporin의 사용이 추천되었다.

액체배지 미세회석법은 보통 세균동정과 함께 시행하는데, 이는 동정결과에 따라 항생제 감수성 결과가 프린트되는 양식이 조금씩 다르기 때문이다. 튜브를 이용한 액체배지 회석법(microdilution)은 항생제를 높은 농도에서부터 2단계씩 연속적으로 희석하여 약 10여개의 튜브를 사용하지만, Vitek Systems의 미세회석법(microdilution)은 약 3개 정도의 항생제 농도를 정하여 감수성 유무를 판단하게 된다. 가장 낮은 농도에서도 균이 자라지 않았으면, 감수성이라고 보고되고, 가장 높은 농도에서 균이 자라면 내성이라고 보고되며, 그 사이는 중등도 감수성(moderate susceptible, MS) 혹은 중간 감수성(intermediate, I)이라고 보고된다. 또한 감수성 혹은 내성의 항생제 농도가 프린트되기 때문에 임상에서 어느 정도의 용량으로 항생제를 써야 할지 참고할 수 있지만, 정확한 검사를 위해서는 튜브 회석법이나 한천 배지 회석법을 사용하여 한다. 중등도 감수성과 중간 감수성은 혼용해서 많이 사용되는데 이들간의 명확한 구분은 어렵다. 중간감수성은 통상 투여량으로는 그 세균을 제거할 수 없고 그 보다 많은 양을 투여하여 혈중 약물 농도가 높아져야만 세균을 제거할 수 있는 경우를 말한다. 중등도 감수성은 도달되는 혈중 약물 농도로는 세균을 제거할 수 없지만 신장과 같은 기관에서 약물의 농도가 농축되거나 그 농도가 혈중 농도보다 수배 혹은 수십배로 올라가는 경우 세균을 제거할 수 있는 경우를 말한다³²⁾. 사면배지 당

분해(TSI)검사는 Vitek GNI card결과와 상호 비교할 수 있는 장점뿐 아니라 고전적으로 그람 음성 간균의 동정에 많이 이용되어왔기 때문에 균주 동정에 활용하기 용이하여 이 검사를 시행하였다. 액체배지 미세 회석법은 디스크 확산법에 비해 기계를 이용하여 손쉽게 시행할 수 있고 몇 단계 농도(breakpoint concentration)의 항생제에 대해 감수성 여부를 검사해 강한 내성을 보이는지를 판단할 수 있는 장점이 있다. 따라서 감염 근관을 가진 환자를 치료할 때에 투여하는 항생제의 혈중농도를 고려할 수 있어 유용하다. 이 방법은 균주 동정 및 감수성을 검사를 동시에 실시해야 하고, 고가이며 기계가 있어야 하는 단점이 있다. 또한 균액의 탁도를 정확히 맞추기 어렵고 다른 균주가 오염되었을 경우 디스크 확산법에 비해 오염 여부를 알 수가 없어 결과 판정에 오류를 가져올 수 있다. 본 연구자는 분리된 대부분의 균주가 대해 디스크 확산법 뿐만 아니라 미세회석법으로도 감수성 검사를 시행하였는데, 두 검사간의 결과는 비교적 잘 일치하였다. 다만 work no. 1 *S. sciuri*의 penicillin이 디스크 확산법에서는 감수성이었는데 미세회석법에서는 내성, work no. 12 *E. faecium*이 penicillin내성에서 중등도 감수성, 비발효성 그람음성 간균 5균주가 cefotaxime감수성에 내성으로 나와 불일치한 것도 일부 있었다. 이는 각 검사마다 결과 판독 기준이나 방법이 약간씩 다르기 때문으로 사료되며, 균액의 탁도를 정확히 맞추기 어렵고 사용한 디스크의 불안정성, 검사방법이나 결과 판독의 부정확성 등도 고려해야 할 것이다. 항생제의 종류가 많았던 미세회석법에서는 *Staphylococcus spp.*는 ciprofloxacin, vancomycin, sulamethoxazol-trimethoprim, erythromycin등이 유용하지만, penicillin이나 oxacilin은 효과가 없음을 알 수 있었다.

또한 *Staphylococcus spp.*중 *S. simulans*는 *S. sciuri*와 비교하면 대부분의 항생제에 대해 감수성이 있음을 알 수 있었다(Table 10). *E. faecium* 4균주는 ciprofloxacin, penicillin, tetracyclin, vancomycin에 감수성을 보였다(Table 11). 결과중 penicillin과 vancomycin이 중등도

감수성(MS)로 표시된 것은, NCCLS에서 추천한 바에 따른 것으로 *Enterococcus spp.*에 대한 이들 항생제의 미세회석법 결과는 감수성이 없고 중등도 감수성과 내성밖에 없기 때문이었다. 그람음성 간균은 그람양성 구균에 비해 훨씬 항균제에 대한 내성 비율이 높았다. 대부분의 aminoglycoside나 cephalosporin계통의 항균제에 내성을 보였다. 다만 sulfamethoxazol-trimethoprim이 5균주 모두에 대해 감수성을 보여, 비발효성 그람음성 간균이 경우 추천할 만한 항생제라고 사료되었다.

근관감염의 병인을 연구함에 있어서 근관내의 세균배양을 필수적이므로 추후 혐기성 세균을 포함한 연구가 계속되어야 할 것이다. 또한 이들 균주에 대하여 항생제 감수성검사를 시행하여 실제 임상에서 참고할 수 있도록 감염근관의 모든 균주에 대한 포괄적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

V. 결 론

13명의 근관감염 환자로부터 세균을 분리하고 동정한 후 각각의 세균에 대하여 디스크 확산법과 액체배지 미세회석법을 이용하여 항생제 감수성 검사를 시행하고 동정된 세균의 항생제 감수성 양상에 관하여 연구하여 근관감염의 원인균주와 항생제 감수성 양상을 파악하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

근관감염의 주 원인은 그람양성 구균이었으며 (65%), 그 중 6균주는 *S. viridans* group이었고 5균주는 *Staph. spp.* 4균주는 *E. faecium*이었다. 그람음성 간균(26%)은 5균주가 비발효성(lactose non-fermenter)이었으며, 1균주만이 *E. cloacae*였다.

그람양성 구균 중 *S. viridans* group 및 *E. faecium* (4균주)는 비교적 항생제에 감수성을 보였지만, *Staph. spp.* (5균주)는 내성을 보인 것이 많았다. 그람음성 간균(5균주)은 항생제에 내성을 보인 것이 많아 항생제 투여시는 반드시 항생제 감수성 검사를 시행하여 그 결과를 참고하여야 할 것으로 사료되었다. 대부분의 세균에 대하여는 두 가지 항생제 감수성 검사법의

결과가 일치하였지만, 그람음성 간균에서 cefotaxime의 감수성 양상이 디스크 확산법에서는 감수성을, 액체배지 미세회석법에서는 내성을 보여 검사법간에 결과의 판정이 달랐다.

참고문헌

1. Sundqvist G : Etiology of the root canal flora. J Endod 18 : 427-30, 1992.
2. Moore WEC, Holdeman LV, and Cato EP : Comparative bacteriology of juvenile periodontitis. Infect Immun 48 : 507-19, 1985.
3. Sundqvist G : Bacteriological studies of necrotic pulps. Thesis Umea 1976.
4. Haapasalo M : *Bacteroides spp.* in dental root canal infections. Endod Dent Traumatol 5 : 1-10, 1989.
5. Fabricius L : Oral bacteria and apical periodontitis. An experimental study in monkeys(Dissertation). Gothenburg, Sweden : University of Gothenburg, 1982.
6. Tronstad L, Barnett F, Riso K and Slotz J : Extraradicular endodontic infections. Endod Dent Traumatol 3 : 86-90, 1987.
7. Matusow RJ : Acute pulpal-alveolar cellulitis syndrome IV.Exacerbations during endodontic treatment : A clinical study of specific microbial isolates and their etiologic role. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 61 : 90-5, 1986.
8. Stewart GG : A study of bacteria found in root canals of anterior teeth and the probable ingress. J Endod 2 : 8, 1947.
9. Hedman WJ : An investigation into residual periapical infection after pulp canal therapy. Oral Surg 4 : 1173-9, 1951.
10. Shindell E : A study of some periapical roentgenolucencies and their significance. Oral Surg 14 : 1057-65, 1961.
11. Winkler TF, Michell DF and Healey HJ : A bacterial study of human periapi-

- cal pathosis employing a modified gram tissue stain. *Oral Surg* 34 : 109–16, 1972.
12. Cvek M, Hollender L, and Nord CE : Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide, *Odontol Revy* 27 : 93–108, 1976.
 13. Bystrom A, and sundqvist G : Bacteriologic evaluation of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res* 89 : 321–8, 1981.
 14. Bystrom A, Cleasson R and Sundqvist G : The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* 1 : 170–5, 1985.
 15. Reit C and Dahlen G : Decision making analysis of endodontic treatment strategies in teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 21 : 291–9, 1988.
 16. Barker BCW, and Lockett BC : Experiments using a glucocorticosteroid-antibiotic paste in infected dog root canals. *J Br Endod Soc* 5 : 60–8, 1971.
 17. Ehrmann EH : The endodontic management of the acute pulpal or periapical lesion. *Aust Dent J* 17 : 279–82, 1972.
 18. Cervone F, Tronstad L, and Hammond B : Antimicrobial effect of chlorhexidine in a controlled release delivery system. *Endod Dent Traumatol* 6 : 33–6, 1990.
 19. Transtad L, Yang ZP, Trope M, Barnett F, and Hammond BF : Controlled release of medicaments in endodontic therapy. *Endod Dent Traumatol* 1 : 130–4, 1985.
 20. Barnett F, Trope M, Kreshtool D, and Tronsad L : Suitability of controlled release delivery system for root canal disinfection, *Endod Dent Traumatol* 2 : 71–4, 1986.
 21. Barnett F, Gordon W, Trope M, and Tronstad L : Tissue response to quarternary ammonium compound in a controlled release delivery system. *Endod Dent Traumatol* 4 : 76–8, 1988.
 22. Tronstad L, Barnett F, Londono A, Drozd E, Sloan W, and Russo E : Clinical efficacy of an endodontic antiseptic in a controlled release delivery system. *Endod Dent Traumatol* 4 : 79–81, 1988.
 23. Cohen S and Burns RC : Pathways of the pulp. 4th ed. St Louis : CV Mosby 364–72, 1987.
 24. Sabiston CB Jr., Grisby BA and Segerstrom MT : Bacterial study of pyogenic infections of dental origin. *Oral Surg* 41 : 430–5, 1976.
 25. Iwu C, MacFarlane TW, Mackenzie D, and Stenhouse D : The microbiology of periapical granulomas. *Oral Surg* 69 : 502–5, 1990.
 26. Wayman BE, Murata SM, Almeida RJ, and Fowler CB : A bacteriological and histological evaluation of 58 periapical lesions. *J Endod* 18 : 152–5, 1992.
 27. Sjogren U, Figdor D, Spangberg L, Sundqvist G : The antibacterial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J* 24 : 119–25, 1991.
 28. Molander A, Reit C, and Dahlen G : Microbiological evaluation of clindamycin as a root canal dressing in teeth with apical peiodontitis. *Int Endod J* 23 : 113–8, 1990.
 29. Grossman LI : Polyantibiotic treatment of pulpless teeth. *J Am Dent Asso* 57 : 265–78, 1951.
 30. Bender IB, and Seltzer S : Combination of antibiotics and fungicides used in trea-

- tment of the infected pulpless tooth. J Am Dent Asso 45 : 293–300, 1952.
31. Heling I : Efficacy of Ledermix paste in eliminating *Staphylococcus aureus* from infected dentinal tubules in vitro. Endod Dent Traumatol 7 : 251–4, 1991.
 32. Thornsberry C : Antimicrobial susceptibility testing : general considerations. Manual of clinical microbiology. Balows A, Hauser WJ, Herrmann KL, Isenberg HD and Shadomy HJ, pp 1059–64, fifth edition, 1991.

IDENTIFICATION AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY
TEST OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM INFECTED ROOT CANALS

Jung-Ho Ji, D. D. S., Mi-Kyung Im, D. D. S., M. S. D., Ph. D.

Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Wonkwang University

Bacteria have been regarded as major etiologic factors in root canal infections. Infected root canal flora from thirteen patients who had visited to conservative department of Wonkwang dental hospital were cultured on blood agar plates. Cultured microorganisms were isolated and identified with Gram stain and biochemical tests using Vitek Systems (BioMérieux, MO, USA); Antibiotic susceptibility was performed with disk diffusion and broth microdilution using Vitek Systems.

Gram positive cocci (65%) were predominant, which were composed of 6 *Streptococcus viridans* group, 5 *Staph. spp.*, and 4 *Enterococcus faecium*, in the isolated 23 strains. Gram negative rods (26%) were the next common bacteria, which were composed of 5 non-fermentative Gram negative rods, and 1 *Enterobacter cloacae*.

Most strains of *S. viridans* group and *E. faecium* were susceptible to antibiotics including penicillin. But strains of *Staphylococcus spp.* and non-fermentative Gram negative rods showed marked resistance to antibiotics except tetracycline and cefotaxime.

Most results between disk diffusion and microdilution were all agreed, but the results of non-fermentative Gram negative rods were susceptible to cefotaxime in disk diffusion method but resistant in microdilution.