

성인형 치주염 환자에서 분리한 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*의 항생제 내성에 관한 연구

나용철 · 유형근 · 신형식

원광대학교 치과대학 치주과학교실

I. 서 론

치주질환은 세균 감염으로 알려져 있으며 몇몇 형태는 특이적인 미생물과 연관되어 있다고 보고되고 있다.¹⁻³⁾ 이러한 치주질환 중 가장 빈발하는 형태인 성인형 치주염은 특정한 파괴 양상없이 전반적으로 대부분의 치아를 침범한다.⁴⁾ 또한 치태와 치석의 침착과 직접적인 관련이 있고, 수년에서 수십년에 걸쳐 진행되기도 하며 골 소실 및 부착소실이 다양하게 나타나고 치태 침착부에 발생한다.⁵⁾ 이 질환의 호발연령은 40세 이상이며 백혈구 및 림프구 기능등의 숙주반응 인자는 정상이고, 유년형, 급속진행형, 사춘기전 치주염등이 조기에 시작된 경우 대부분의 환자가 성인형 치주염으로 이행된다고 보고하고 있다.⁴⁾

치주염에서의 치은연하 세균은 운동성을 띤 그람음성의 이산화탄소 친화성을 가진 혐기성 미생물이 증가하며 숙주의 방어기전이 불충분할 때는 특수한 세균이 증가하여 조직을 파괴시키는 원인이 되기도 하는데 이들 병소들과 관련된 주요 미생물의 종류로는 *A. actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, 및 *Prevotella intermedia*가 관여하여 있으며, 이러한 세균들의 존재가 질환의 예측자 및 표식자로서의 가능성이 있다고 보고되고 있다. 그밖

에 *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Bacteroid forsythus*, *Selenomonas sputigena* 등이 성인형 치주염과 관련이 있다.⁶⁾ 이 중 *A. actinomycetemcomitans*는 그람 음성, 통성, 이산화탄소 친화성의 발효성 간균으로 유년형 치주염(LJP)³⁾뿐 아니라 급속 진행형 치주염(RPP)^{3, 8)}, 난치성 치주염⁹⁾, 사춘기전 치주염¹⁰⁾, 성인형 치주염의¹¹⁾ 원인 요소로 여겨지고 있으며 전신적으로는 방선균증, 심내막염¹²⁾, 척추 골수염¹³⁾, 요도감염¹⁴⁾등에서도 분리되고 있다. Slot등은¹⁵⁾ LJP 환자의 75-90%, RPP 환자의 50%, 및 AP 환자의 25-30%에서 *A. actinomycetemcomitans*의 감염이 존재하고 임상적으로 건강한 개체의 5-10%만이 *A. actinomycetemcomitans*가 존재한다고 보고 하였으며 이는 *A. actinomycetemcomitans*가 진행성 치주질환뿐 아니라 치주질환의 병력이 없는 치주적으로 건강한 개체에서도 나타날 수 있음을 알 수 있다.¹⁶⁾

이러한 *A. actinomycetemcomitans*의 제거를 위한 여러 가지 시도 중 Slot과 Rosling¹⁷⁾, Christersson¹⁸⁾, Kormann과 Robertson등은¹⁹⁾ 치은연하 치석제거와 치근활택술로는 완전히 제거하기가 어렵다고 보고했으며 변형 치은박리 판막술(modified Widman flap)과 연조직 소파술을 이용한 치주조직의 외과적 제거 역시 *A.*

*actinomycetemcomitans*의 완전 제거에는 한계가 있다고 하였다. 이러한 기계적인 방법의 실패 이유는 치은결체조직 또는 치주낭의 깊은 곳에 살고 있는 이 세균의 영향 때문일 것이다.²⁰⁾ 따라서 이러한 형태의 치주감염 세균의 존재는 전신적인 항생제 사용의 근거를 제시해주고 있다.

현재까지 여러 치주질환에서의 항생제 사용에 관한 연구가 다수 보고되어 왔으나²¹⁻²³⁾ 국내에서 분리한 세균에 대한 연구는 희소하여 실제 임상에서 항생제의 사용에 어려움이 있는 형편이다. 특히 *A. actinomycetemcomitans*가 국소 유년형 치주염의 주 원인균이라고 알려져 있어서 국소 유년형 치주염에서 분리한 *A. actinomycetemcomitans*에 대한 항생제 내성에 관한 연구는 보고 되어져 있으나 성인형 치주염에서 분리된 경우에는 미비한 상태이다.

한편 항생제의 시판이 자유화 되어 있는 우리나라의 실정으로는 항생제 남용에 의한 각종 치주균주의 내성유무도 크게 문제시 되고 있다. 따라서 본 연구의 목적은 한국인 성인형 치주염 환자의 치은연하 치태에서 분리한 *A. actinomycetemcomitans*를 선정하여 이미 정해진 농도에서 세균의 감수성 여부를 결정짓는 disk diffusion method와 항생제 농도를 분포화시킨 broth dilution method를 이용하여 이들 세균의 감수성에 여부를 검사하므로써, 치주질환의 치료에 보다 과학적인 뒷받침을 하고자 하는데 있다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

원광대학교 부속 치과병원 치주과에 내원한 환자 중 6mm이상의 치주낭을 가진 환자 7명

(남성: 3 여성: 4)을 대상으로 하였다. 대상자의 연령분포는 40-60세이었으며, 모든 대상자들은 전신질환이 없고 최근 6개월 이내에 치주치료를 받은 경험과 항생제를 복용한 경험이 없었으며 임신하지 않은 여성을 대상으로 하였다.

2. 연구 방법

1) 세균 배양

성인형 치주염 환자로 진단되어진 환자 7명을 선정해서 치은연상 치태를 조심스럽게 제거한 후 2개의 paper point*를 적당한 저항이 느껴질 때까지 10초간 삽입한 후 Ringer's solution에 옮겨 10배씩 희석한 후 TSBV 배지 (Tryptic soy agar, 0.1% Yeast extract, 10% horse seru, 75µg/ml Vancomycin)**에 유리봉을 이용하여 각각 도말하고 10% Co₂가 공급되는 탄산 배양기에서 4-5일간 배양하였다.

2) 세균의 동정

*A. actinomycetemcomitans*는 Stereoscopic photomicroscope*** 상에서 internal star shape 을 보이고 Gram stain(-), catalase(+), oxidase(-), benzidine(+) 반응을 보이면 *A. actinomycetemcomitans*로 판정 하였으며 확인된 균주는 혈액 한천 배지에서 계대배양하였다. 이렇게 확인된 총 7개의 균주를 이용하여 항생제 감수성 검사를 실시하였다.

3) 항생제 감수성 검사

(1) Disk diffusion method

항생제 disk 감수성 검사에 사용된 10종류의 antibiotic disc의 이름 및 함량의 다음과 같고 모든 항생제 disc는 B.B.L 회사에서 구입 하였다.

a. Penicillin G : 10 unit

* Johnson & Johnson, East Widsor. N. J. U.S.A.

** Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo. U.S.A.

*** AO® Scientific Instrument Co., Tokyo. JAPAN.

- b. Ampicillin : 10 μg
- c. Gentamycin : 10 μg
- d. Tetracyclin : 10 μg
- e. Clindamycin : 2 μg
- f. Vancomycin : 30 μg

- g. Chloramphenicol : 30 μg
- h. Lincomycin : 2 μg
- i. Erythromycin : 15 μg
- j. Amikacin : 30 μg

혈액 한천 배지에 계대배양된 균주를 5ml

Table 1. kind of antibiotic disc sensitivity test and zone size interpretation

Antibiotics	Antibiotic concentration	inhibition zone diameter to nearest(mm)		
		Resistant	Intermediate	Sensitive
Penicillin G	10U	≤ 11	12 - 21	≥ 22
Ampicillin	10 μg	≤ 11	12 - 13	≥ 14
Gentamycin	10 μg	≤ 12		≥ 13
Tetracyclin	30 μg	≤ 14	15 - 18	≥ 19
Clindamycin	2 μg	≤ 14	15 - 16	≥ 17
Vancomycin	30 μg	≤ 9	10 - 11	≥ 12
Chloramphenicol	30 μg	≤ 12	13 - 17	≥ 18
Lincomycin	2 μg	≤ 13	14 - 17	≥ 18
Erythromycin	15 μg	≤ 13	14 - 17	≥ 18
Amikacin	30 μg	≤ 14	15 - 16	≥ 17

NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standards 771E
Lancaster Ave Villanova, Penna 19085)

Table 2. Susceptibility of *A. actinomycetemcomitans* to antibiotics in disk diffusion method

Isolate	P	C	Va	Am	E	Gm	An	L	Te	CC
Aa. 1	20.4(S)	20.2(S)	15.7(S)	18.4	15.5	14.5(S)	12.3	8.5	24.2(S)	12.0
2	26.5(S)	21.6(S)	22.4(S)	17.5	16.2	15.0(S)	11.5	9.5	23.1(S)	9.2
3	25.4(S)	24.2(S)	26.5(S)	26.2(S)	17.3	14.9(S)	15.7	10.0	25.5(S)	11.5
4	23.6(S)	20.8(S)	21.0(S)	23.1(S)	14.4	17.0(S)	14.4	14.4	20.0(S)	10.7
5	18.4	22.7(S)	24.2(S)	15.3	14.0(S)	12.9(S)	17.8	12.1	30.1(S)	9.9
6	17.5	26.5(S)	23.0(S)	18.0	18.0(S)	11.0(S)	10.9	12.0	29.5(S)	7.2
7	27.5(S)	30.0(S)	17.8(S)	22.2(S)	13.1	20.0(S)	12.2	8.0	29.2(S)	8.4
Mean	22.7(S)	23.7(S)	21.5(S)	20.1(S)	15.5	15.0(S)	13.5	10.6	25.9(S)	9.8

R: resistant, I: intermediate, S: susceptibility

AM: Ampicillin, AN: Amikacin, C: Chloramphenicol, CC: Clindamycin Gm: Gentamycin, P: Penicillin G, TC: Tetracyclin, E: Erythromycin, V: Vancomycin L: Lincomycin

Brain Heart Infusion 액에 접종하여 37°C 에서 48시간 10% Co₂ 배양기에서 최대 성장을 보일 때까지 배양한 다음 준비된 Muller-Hinton agar에 접종한 후 3-5분간 평편하게 두었다. 접종된 배지는 10% Co₂, 10%) H₂ 및 80% N₂ 가 포함된 호기성 배양기 내로 옮겨서 표면의 수분을 제거하고 각 항생제 disk를 배지당 3-4개씩 표면에 밀착시켜 48시간 배양한 후 성장 억제대의 직경을 mm로 측정하였으며 그에 따

르는 각 항생제의 감수성 및 내성 유무는 NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standards)의 기준에 의거하여 결정하였다(Table 1). 상기의 검사는 각 균주별로 동일 한 방법으로 2회 실시하여 그 평균치를 구하였다.

(2) Broth dilution method

Broth dilution법을 실시하기 위하여 **tetracycline, clindamycin, lincomycin, 및

Table 3. Susceptibility of *A. actinomycetemcomitans* to tetracycline in broth dilution(Mean±SD)

Bacteria Concentration(μg/ml)	1	2	3	4	5	6	7
0	100.43 ±0.36	100.52 ±0.28	100.29 ±0.28	100.09 ±0.15	100.16 ±0.14*	100.12 ±0.13*	100.08 ±0.14*
0.5	96.78 ±1.31*	96.64 ±1.34*	103.78 ±1.94*	104.42 ±1.53*	98.90 ±0.91	109.93 ±2.34*	104.14 ±1.72*
1	93.31 ±2.21*	93.60 ±1.21*	99.75 ±1.39*	97.22 ±1.26*	97.28 ±1.21*	97.50 ±1.42*	97.52 ±0.92*
2	85.64 ±2.54*	91.62 ±1.43*	95.73 ±0.58*	96.39 ±0.81*	95.87 ±1.18*	96.56 ±0.45*	94.99 ±1.23*
4	78.04 ±1.47*	85.86 ±1.72*	92.71 ±1.23*	94.44 ±0.96*	98.09 ±1.13*	95.59 ±0.90*	94.85 ±1.30*
8	74.76 ±1.01*	82.06 ±1.75*	88.16 ±2.41*	95.14 ±0.97*	94.64 ±0.99*	93.89 ±1.19*	91.78 ±1.27*
16	71.49 ±0.96*	72.69 ±3.14*	81.69 ±1.41*	89.25 ±0.85*	92.25 ±0.86*	91.98 ±1.02*	87.50 ±0.69*
32	67.36 ±1.91*	66.30 ±0.84*	77.93 ±1.46*	88.19 ±1.38*	90.38 ±0.57*	88.08 ±2.49*	84.39 ±0.90*
64	64.52 ±0.98*	63.81 ±1.27*	73.81 ±1.52*	83.48 ±0.93*	88.31 ±0.62*	81.76 ±1.33*	82.73 ±1.45*
128	62.41 ±0.95*	58.05 ±1.66*	70.83 ±1.06*	87.35 ±1.30*	84.25 ±0.83*	77.14 ±1.48*	82.15 ±0.86*
256	57.18 ±1.66*	54.90 ±1.03*	67.02 ±1.48*	82.26 ±0.84*	78.84 ±1.35*	73.87 ±1.43*	78.52 ±1.01*

* Statistically different from control group(p < 0.05)

ampicillin 을 사용하였으며 선정된 균주는 실험전에 Trypticase -Soy broth에 48시간 동안 탄산 배양기에서 배양하였고 실험에 사용된 4 종류의 항생제는 증류수를 이용하여 512 $\mu\text{g/ml}$ 용량으로 희석한 다음 Trypticase -soy broth를 이용하여 96 well plate 상에서 256 $\mu\text{g/ml}$ 에서 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 까지 2배 희석을 실시하였다. 각 단계로 희석된 항생제가 포함된 96 well plate에 다시 7개의 균주를 분주하여 48시간 동안 혐기

성 배양기에서 배양하였다. plate를 잘 흔든후 ELISA analyser(Model ETY - 96, Toyo instrument Inc., Japan)에 plate를 넣은 다음 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 각 군마다 4배수로 시행하였고 매 실험마다 항생제가 들어 있지 않은 배양액을 대조군으로 모든 실험결과는 다음과 같이 대조군의 백분율로 산출 하였다.

Table 4. Susceptibility of *A. actinomycetemcomitans* to tetracycline in broth dilution(Mean \pm SD)

Bacteria Concentration($\mu\text{g/ml}$)	1	2	3	4	5	6	7
0	100.41 ± 0.28	100.42 ± 0.19	100.21 ± 0.15	100.00 ± 0.00	100.12 $\pm 0.16^*$	100.17 $\pm 0.14^*$	100.08 $\pm 0.11^*$
0.5	121.01 $\pm 1.40^*$	113.61 $\pm 3.85^*$	114.03 $\pm 1.61^*$	112.84 $\pm 2.45^*$	117.28 $\pm 5.24^*$	127.00 $\pm 2.20^*$	123.09 $\pm 1.30^*$
1	117.08 $\pm 1.79^*$	111.85 $\pm 3.05^*$	117.74 $\pm 1.32^*$	107.32 $\pm 2.00^*$	120.84 $\pm 0.95^*$	124.87 $\pm 8.73^*$	121.87 $\pm 1.59^*$
2	113.13 $\pm 1.82^*$	110.49 $\pm 0.56^*$	112.71 $\pm 2.31^*$	103.45 $\pm 1.54^*$	114.62 $\pm 3.62^*$	113.31 $\pm 1.82^*$	115.85 $\pm 1.36^*$
4	113.97 $\pm 1.44^*$	104.35 $\pm 1.44^*$	109.16 $\pm 1.06^*$	101.87 $\pm 1.46^*$	105.55 $\pm 3.74^*$	107.98 $\pm 1.77^*$	110.53 $\pm 0.54^*$
8	111.10 $\pm 0.88^*$	106.28 $\pm 1.03^*$	103.92 $\pm 1.46^*$	96.29 $\pm 1.38^*$	104.94 $\pm 3.01^*$	103.97 $\pm 1.31^*$	104.01 $\pm 2.85^*$
16	105.82 $\pm 1.13^*$	103.53 $\pm 0.39^*$	97.59 $\pm 0.87^*$	98.57 $\pm 2.25^*$	101.55 $\pm 2.53^*$	97.54 $\pm 0.78^*$	97.05 $\pm 0.43^*$
32	98.26 $\pm 1.41^*$	96.82 $\pm 1.30^*$	94.56 $\pm 1.04^*$	89.01 $\pm 0.97^*$	98.38 $\pm 0.87^*$	95.01 $\pm 1.43^*$	96.01 $\pm 1.49^*$
64	95.36 $\pm 0.84^*$	94.87 $\pm 0.83^*$	93.82 $\pm 1.30^*$	85.47 $\pm 0.80^*$	94.85 $\pm 1.94^*$	91.08 $\pm 0.90^*$	82.21 $\pm 0.88^*$
128	87.67 $\pm 2.00^*$	92.88 $\pm 0.30^*$	91.13 $\pm 0.83^*$	83.82 $\pm 0.52^*$	93.07 $\pm 1.02^*$	86.77 $\pm 1.84^*$	77.92 $\pm 1.47^*$
256	81.53 $\pm 1.40^*$	89.33 $\pm 1.37^*$	87.95 $\pm 0.42^*$	82.63 $\pm 1.41^*$	91.91 ± 1.08	84.13 $\pm 1.84^*$	64.72 $\pm 0.63^*$

* Statistically different from control group($p < 0.05$)

세균 활성화(%) = 실험 well의 흡광도 / 대조 well의 흡광도 × 100

(3) 통계분석

각 농도에 따른 대조군에 대한 백분율로 환산된 세균 활성화의 평균과 표준편차를 구하고 이들의 통계학적인 유의성은 일원분산 분석법 (ANOVA)과 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계분석 하였다.

III. 연구 결과

1. Disk diffusion method에 의한 결과

7명의 성인형 치주염 환자에서 분리한 7개의 *A. actinomycetemcomitans* 균주에 대한 disk diffusion method를 시행한 결과는 다음과 같다 (Table 2.)

tetracycline, vancomycin, 및 chloramphenicol 등에는 7개의 균주 모두 감수성을 보였고,

Table 5. Susceptibility of *A. actinomycetemcomitans* to tetracycline in broth dilution (Mean ± SD)

Bacteria Concentration (μg/ml)	1	2	3	4	5	6	7
0	100.48 ±0.34	100.30 ±0.05	100.12 ±0.21	100.17 ±0.15	100.14 ±0.16*	100.19 ±0.13*	100.03 ±0.04*
0.5	114.82 ±1.86*	111.85 ±0.56*	107.14 ±1.04	111.76 ±1.27*	113.35 ±2.31*	113.89 ±2.54*	96.87 ±1.14*
1	110.30 ±0.93*	110.49 ±0.56*	102.70 ±1.87*	107.32 ±0.87*	111.79 ±1.35*	104.97 ±0.74*	97.84 ±0.73*
2	107.69 ±0.94*	104.35 ±0.57*	96.74 ±0.97*	96.10 ±0.83*	106.69 ±1.59*	108.50 ±1.78*	94.95 ±0.82*
4	105.77 ±0.98*	107.29 ±2.20*	94.85 ±1.30*	93.46 ±0.62*	103.96 ±1.42*	105.97 ±4.23*	92.99 ±0.70*
8	103.31 ±2.18*	106.18 ±0.84*	91.78 ±1.27*	96.10 ±0.83*	100.14 ±1.50*	112.01 ±1.29*	90.27 ±1.80*
16	96.85 ±0.80*	101.02 ±0.96*	87.50 ±0.69*	92.30 ±1.42*	96.10 ±1.43*	104.21 ±2.30*	83.08 ±1.84*
32	94.14 ±2.51*	96.82 ±1.30*	84.39 ±0.90*	89.10 ±1.38*	91.73 ±1.36*	95.11 ±1.21*	83.02 ±1.64*
64	91.46 ±0.80*	94.88 ±0.82*	82.73 ±1.45	86.60 ±1.33*	87.10 ±1.24*	93.65 ±1.83*	79.77 ±1.81
128	85.79 ±1.52*	92.88 ±1.24*	82.15 ±0.86*	81.65 ±1.24*	84.24 ±1.31*	90.96 ±0.96*	76.88 ±1.18*
256	82.35 ±0.64*	89.25 ±1.44*	78.52 ±1.01*	78.36 ±0.59*	82.97 ±0.92	88.86 ±0.64*	77.38 ±0.71*

* Statistically different from control group (p < 0.05)

penicillin과 gentamycin이 각각 5개의 균주에서 감수성을 보였으나 penicillin이 좀더 나은 감수성을 보였다. Ampicillin과 erythromycin은 각각 3개와 2개의 균주에서 감수성을 보여 중등도의 감수성을 나타냈다. 그러나 clindamycin에서는 전균주가, Lincomycin과 Amikacin은 1균주만을 제외하고는 모든 균주가 내성을 보였다.

따라서 구강내 *A. actinomycetemcomitans* 균주는 tetracycline과 chloramphenicol에는 특이한

감수성을 보였고 penicillin 및 macrolide 계통의 erythromycin에는 중등도의 감수성을 나타냈고 clindamycin, lincomycin 및 amikacin에는 내성을 보이는 것으로 확인되었다.

2. Broth dilution method에 의한 결과

Tetracycline, clindamycin, lincomycin, ampicillin에 의한 *A. actinomycetemcomitans* 균

Table 6. Susceptibility of *A. actinomycetemcomitans* to tetracycline in broth dilution(Mean \pm SD)

Bacteria Concentration($\mu\text{g/ml}$)	1	2	3	4	5	6	7
Control	100.17 ± 0.14	100.30 ± 0.06	100.25 ± 0.35	100.19 ± 0.23	100.30 $\pm 0.03^*$	100.19 $\pm 0.09^*$	100.05 $\pm 0.10^*$
256	116.12 ± 3.86	127.78 $\pm 2.08^*$	131.88 ± 1.35	113.38 $\pm 0.84^*$	120.81 $\pm 1.11^*$	113.96 $\pm 1.26^*$	96.87 $\pm 2.19^*$
128	110.43 $\pm 0.54^*$	120.92 $\pm 3.71^*$	119.88 $\pm 3.13^*$	109.23 $\pm 2.42^*$	113.92 $\pm 1.22^*$	112.97 $\pm 1.78^*$	112.97 $\pm 0.55^*$
64	105.53 $\pm 0.88^*$	112.75 $\pm 1.25^*$	115.11 $\pm 0.88^*$	109.06 $\pm 1.03^*$	111.09 $\pm 1.10^*$	109.65 $\pm 0.64^*$	110.38 $\pm 0.68^*$
32	107.67 $\pm 2.14^*$	111.26 $\pm 1.17^*$	112.92 $\pm 1.45^*$	109.90 $\pm 0.94^*$	108.64 $\pm 1.76^*$	107.22 $\pm 1.41^*$	109.06 $\pm 1.16^*$
16	104.96 $\pm 1.18^*$	104.98 $\pm 1.01^*$	110.90 $\pm 0.40^*$	111.41 $\pm 1.98^*$	107.48 ± 2.76	104.83 $\pm 1.03^*$	107.11 $\pm 1.32^*$
8	103.19 $\pm 1.72^*$	103.56 $\pm 3.35^*$	103.75 $\pm 1.48^*$	103.79 $\pm 1.30^*$	100.13 $\pm 1.63^*$	104.61 $\pm 1.02^*$	104.11 $\pm 0.82^*$
4	96.91 $\pm 0.97^*$	94.09 $\pm 0.52^*$	97.81 ± 1.23	97.27 $\pm 0.78^*$	92.96 $\pm 0.50^*$	96.23 $\pm 1.35^*$	96.72 $\pm 1.15^*$
2	95.25 $\pm 1.50^*$	92.29 $\pm 0.84^*$	87.86 ± 0.54	94.65 $\pm 1.26^*$	92.80 $\pm 0.46^*$	96.02 $\pm 1.31^*$	95.09 ± 0.53
1	91.42 $\pm 0.63^*$	91.49 $\pm 1.09^*$	84.65 $\pm 0.44^*$	91.85 $\pm 1.26^*$	90.68 $\pm 0.66^*$	87.44 $\pm 3.54^*$	91.90 $\pm 1.39^*$
0.5	87.05 $\pm 1.57^*$	88.27 $\pm 0.77^*$	86.21 $\pm 2.94^*$	88.24 ± 0.91	88.42 $\pm 1.00^*$	87.88 $\pm 1.37^*$	86.02 $\pm 2.18^*$

* Statistically significantly different from control group($p < 0.05$)

주의 세균 성장 억제최소용량(MIC)의 실험결과 tetracycline은 (3균주에서는 $0.5\mu\text{g/ml}$, 용량에서, 3균주에서는 $1.0\mu\text{g/ml}$ 용량에서 1균주는 $2\mu\text{g/ml}$ 에서(table 3.) 세균의 최대 억제를 보였고, lincomycin은 3균주는 $32\mu\text{g/ml}$, 3균주는 $16\mu\text{g/ml}$, 1균주에서 $8\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 최대 억제를 보였다(table 4). ampicillin의 경우에는 1균주만이 $0.5\mu\text{g/ml}$ 의 용량에서 균주의 성장을 억제하였고 2균주는 $16\mu\text{g/ml}$, 2균주는 $32\mu\text{g/ml}$ 의 높은 용량에서 균주의 성장을 억제하였다(table 6). 따라서 이상의 결과로 미루어 볼 때 tetracycline이 *A. actinomycetemcomitans* 균주 성장 억제에 가장 좋은 효과를 보임을 알 수 있다.

IV. 총괄 및 고찰

*A. actinomycetemcomitans*는 국소 유년형 치주염의 원인균으로 잘 알려져 있으나 치조골이 급속히 소실되는 성인형 치주염과도 강하게 관련되어 있고 치석 제거술, 치근 활택술, 그리고 심지어 치주수술후에도 지속되는 치주염과도 관련되어 있으며²⁴⁾ 특히 백혈구 독소라는 외독소를 분비함으로써 치주조직의 파괴에 상당한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.²⁵⁾ 따라서 치주질환 중 가장 많은 비율을 차지하고 있는 성인형 치주염에서 분리한 *A. actinomycetemcomitans*의 항생제 내성에 관한 연구는 치주질환 치료의 측면에서 의미있는 연구일 것이다.

현재 항생제 내성에 관한 연구 중 일반적으로 사용되어지고 있는 disk diffusion method는 탄성 배양기가 아닌 일반 호기성배양기에서만 가능하다. 따라서 CO_2 친화성인 *A. actinomycetemcomitans*를 이러한 NCCLS에만 적용시키기 보다는 dilution method와 병행하는 것이 보다 효과적인 판정이 될 것이다.

본 연구 결과 *A. actinomycetemcomitans*에 가장 효과적인 항생제는 tetracycline, vancomycin,

chloramphenicol 등이며 대부분의 균주에 감수성이 있는 것으로 나타났다. Tetracycline은 본 연구에서는 모든 균주에 감수성이 있으며 $0.5\mu\text{g/ml}$ 의 용량에서 대부분의 균주를 억제시킬 정도로 좋은 효과를 발휘하였으며 치은열구액 농도가 혈청내 농도보다 높게 나타나기 때문에^{26, 27)} 혈청내 농도로는 중등도 또는 낮은 감수성을 보인다 해도 통상적인 투여경로 및 용량에서 치주병소내 약제의 분포가 유효농도까지 도달하여 치주질환의 원인균을 억제시킬 수 있게 된다. 또한 치면의 칼슘에²⁸⁾ 흡착되어 지속적으로 항균 작용을 가질 수 있으며 국소적으로 도포시 상아질의 교원질을 노출시켜 섬유모세포의 치면부착도를 증진시킨다고 알려져 있어 타 항생제에 비해 치주질환에 더욱 효과적인 것으로 보고되고 있다.^{29, 30)} 그러나 이전의 연구에서는 tetracycline의 임상적 효과의 변화가 너무나 심하며 특히 장기간 뿐아니라 단기간에 사용했을 경우에도 내성이 빨리 증가한다고 보고하였다.^{31, 32)}

Oosten등은 aminopenicillin, amoxilline 같은 penicillin 계통의 항생제를 이용하여 치주염의 치료에 적용시켜 좋은 결과를 얻었다고 보고하였으며 본 연구에서도 유사한 결과를 얻었다.³³⁾ 그러나 *A. actinomycetemcomitans* 그 자체는 penicillinase를 형성 하지는 않지만 penicillin에 부분적인 내성을 보이는데 그 이유는 β -lactamase의 생성에 기인한 것으로 생각된다.³⁴⁾ 더욱이 Walker³⁵⁾ 등의 연구에 의하면 β -lactamase는 치주낭내의 다른 균에 의해서도 생성될 수 있으며 이들이 치주염의 치료를 방해할 수 있다고도 하였다. 따라서 *A. actinomycetemcomitans*와 연관된 치주염의 치료에 있어서 penicillin을 사용하기 위해서는 clavulanic acid나 sulbactam 같은 β -lactamase inhibitor를 같이 사용하거나 β -lactamase를 형성 하는 균을 억제할 수 있는 다른 약제와 같이 사용해야 한다.

Slot등은³⁴⁾ *A. actinomycetemcomitans*에 대한

항생제 감수성 감수에서 tetracycline($1\mu\text{g}/\text{ml}$), minocycline($4\mu\text{g}/\text{ml}$), polymyxin B($2\mu\text{g}/\text{ml}$)에서 모든 균주가 성장 억제를 보였다고 하였으며 정등은³⁶⁾ tetracycline, minocycline, doxycycline, 및 chloramphenicol에 대해서 감수성이 있는 것으로 보고하였으나 본 연구에서는 penicillin에서는 좋은 효과를 보였지만 ampicillin($0.5-32\mu\text{g}/\text{ml}$)에서는 그다지 좋은 효과를 보이지 않았다. 이러한 차이점은 Slot 등이³⁴⁾ 지적한 대로 *A. actinomycetemcomitans*는 penicillin과 ampicillin에 감수성이 높으나 실제 임상에서는 이런 항생제 효과의 다양성으로 인하여 어떤 환자에서는 효과가 나타나지만 다른 경우에는 효과가 없을 수도 있다는 사실을 반영하고 있다고 사료 된다. 또한 Hoffer³⁷⁾ 등의 연구에서 penicillin과 cephalothin에 대한 *A. actinomycetemcomitans*의 감수성은 체형에 따라 많은 차이를 보인다고 보고하였다. Tetracycline 이나 penicillin 이상으로 감수성이 좋은 것으로 나타난 vancomycin은 치료 효과면에서는 우수하지만 과민반응 및 이독성 (auditory impairment) 등의 부작용이 심하여 이보다 더욱 강력하고 독작용이 적은 항생물질이 있어 현재는 2차적 약물로 선택되어지고 있다.³⁸⁾ 마찬가지로 chloramphenicol 역시 전 균주에 감수성을 보이지만 극심하고 치명적인 골수 억제작용을 나타내어 그 사용이 극히 제한되어 있으며 그 위험성을 무릅쓰고 사용할 만한 적응증은 대단히 드물지만 심한 혐기성 세균감염, 특히 penicillin 저항세균(*Porphyromonas gingivalis*와 같은)에 의한 감염의 치료에 간혹 쓰이고 있다.³⁹⁾

또한 amikacin과 gentamycin 등의 aminoglycoside계 항생제 중에서 amikacin은 Hoffer와 Slot등의 연구와 마찬가지로 내성을 보였으나³⁷⁾ 중등도의 감수성을 보인 gentamycin은 Hoffer와 Slot의 연구와는 일치하지 않지만 정등³⁶⁾과는 유사한 결과를 보였다.

Macrolide 계통중 일반적으로 많이 사용되어

지고 있는 erythromycin 및 spiramycin 등은 치주질환에 별다른 효과가 없다고 보고되어 있다.⁴⁰⁾ 그러나 최근에 개발된 macrolide 항생제인 azythromycin은 치주질환에 우수한 효과를 보이고 있으며⁴¹⁾ erythromycin 보다 더 나은 약리효과를 보이고 있다.⁴²⁾ 또한 Hamada 등의 연구에 의하면 최근에 개발된 thiolactomycin은 *A. actinomycetemcomitans*와 black-pigmented *Bacteroides*에 선택적인 항생제라고 보고하였다.⁴³⁾ Disk diffusion method에서 7균주 모두 내성을 보인 clindamycin이나 6균주에서 내성을 보인 lincomycin은 broth dilution method에서도 $32\mu\text{g}/\text{ml}$, $8-32\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 고농도의 용량에서 세균의 최소 억제 농도를 보이는 등의 상당한 내성을 보였다. 하지만 clindamycin 역시 vancomycin과 chloramphenicol과 마찬가지로 부작용을 간과할 수 없는데 가장 중요한 부작용으로는 pseudomembranous colitis로서 clindamycin, cephalosporin과 가장 관련성이 높으며 vancomycin의 경우 투여로 회복된다.⁴⁵⁾

이상과 같은 in vitro 항생제 감수성 연구에서 disk diffusion method와 broth dilution method에 의한 결과는 많은 부분에서 일치되고 있는 것으로 보아 disk diffusion method를 항생제 감수성 검사에서 보다 예민하게 발전시키면 유효한 결과를 얻을 수 있으리라 생각된다. 더불어 최근 중요시되고 있는 항생제의 혈중 및 치은열구삼출액 내의 농도 그리고 이들의 치태세균 성장억제 효과에 대한 연구가 진행되었으며²⁶⁾ 또한 각종 항생제의 치주낭내로의 국소투입에 대한 연구가 진행되는 바⁴⁶⁾ 이러한 연구는 항생제의 전신투여에 따른 부작용을 줄이고 국소 치주낭내의 원인 세균들의 성장억제와 제거에 이용되리라 생각된다.

V. 결 론

성인형 치주염 환자의 치은연하 치태에서 분리한 *A. actinomycetemcomitans*의 항생제

감수성 여부를 검사하기 위한 본연구에서 성인형 치주염 환자 7명에서 분리한 *A. actinomycetemcomitans* 7균주에 대한 disk diffusion method와 broth dilution method를 이용하여 항생제 감수성 감사를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Disk diffusion method에 의한 결과

Tetracycline, chloramphenicol 및 vancomycin 등에서 가장 좋은 감수성을 얻었고 penicillin, gentamycin, ampicillin 및 erythromycin 등은 중 정도의 감수성, lincomycin, clindamycin, amikacin 등은 내성을 보였다.

2. Broth dilution method에 의한 결과

각 항생제의 세균에 대한 최소 억제 농도는 tetracycline이 0.5-1.0 $\mu\text{g/ml}$, ampicillin이 0.5-32 $\mu\text{g/ml}$, lincomycin이 8-32 $\mu\text{g/ml}$ 및 clindamycin이 32 $\mu\text{g/ml}$ 으로 나타났다.

이상과 같은 연구 결과를 바탕으로 성인형 치주염 환자에서 분리한 *A. actinomycetemcomitans*에 대한 각종 항생제의 효과는 tetracycline이 가장 우수함을 알 수 있었다.

참고문헌

- Socransky, S.: Relationship of bacteria to etiology of periodontal disease. J. Dent. Res., 49 : 203-222, 1970
- Socransky, S.S.: microbiology of periodontal disease: Present status and future consideration. J. Periodontol., 48 : 497-499, 1977
- Slot, J and Genco, R.J.: Black-pigmented bacteroid and actinobacillus actinomy-cetemcomitans in human periodontal disease: Virulence factor in colonization, survival and tissue destruction. J. Dent. Res., 63 : 411-421, 1984
- 치주과학 교수 협의회: 치주과학 PP. 168, 1988.
- Suzuki JB, Chan SP, Socrasky SS, et al: Importance of actinomyces and certain gram negative anaerobic organism in the transformation of lymphocytes from patients with periodontal disease. Infect. Immun., 2 : 158-172, 1987.
- Wenstrom JL, Dahlen G, Svensson J, Nyman S.: *Actinobacillus actinomyce-temcomitans*, *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* : Predictors of attachment loss. Oral. Microbiol. immunol., 2 : 158-162, 1987.
- Lamster IB, Oshrain RL, Harper DS, Celento RS, Hovliaras CA, Gordon JM: Enzyme activity in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in patients with chronic adult periodontitis - Six month results. J. Periodontol., 59(8) : 516-523, 1988
- Koga, K., Nishihara, Y. & Amano, K.: Chemical and biological Properties cell surfaces Components of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: Periodontal disease. pathogens & Host Immune Response : 177-181, 1991.
- Slot, J.: Bacterial specificity in adult periodontitis: A summary of recent work. J. Clin. Periodontol., 13 : 912-945, 1986.
- Preus, H.R.: Treatment of Rapidly Destructive Periodontitis in Papillon -

- Lefevre syndrome: laboratory and clinical observation. *J. Clin. Periodontol.*, 15 : 639-644, 1988.
11. Tanner, A.C., Haffer, C. & Bratthall, G. T.: A study of bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J. Clin. Periodontol.*, 6 : 273-307, 1979.
 12. Walker, C.B., Gordon, J.M., McQuikin, S.J., Niebloom, T.A. and Socransky, S.S.: Tetracycline: Levels achievable in gingival crevic fluid and in vitro effect on subgingival organism. Part II. Susceptibility of periodontal bacteria. *J. Periodontol.* 52 : 613-616, 1981
 13. Muhle, I., Rau, J. and Ruskin, J.: Vertebral osteomyelitis due to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. AM. Med. Assoc.* 142 : 1824-1825, 1979
 14. Vandepitte, J., De geest, H. and Jousten, P.: Subacute bacterial endocarditis due to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Report of a case with an review of the literature. *J. Clin. Pathol.* 30 : 842-846 : 1977.
 15. Slot, J., Reynold, H.S. & Genco, R.J.: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease : Cross sectional Microbiological Investigation. *Infect. Immun.*, 29 : 1013-1016, 1980.
 16. Alaluusua, S & Asikainen, S.: Detection and distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the primary dentition *J. Periodontol.*, 59 : 504-507, 1988
 17. Slot, J., Rosling, B.G.: Suppression of the periodontopathic microflora in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. *J. Clin. Periodontol.*, 10 : 465-486, 1983
 18. Christersson, L.A., Slot, J., Rosling, B.G. & Genco, R.J.: Microbiological and clinical effect of surgical treatment of localized juvenile periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, 12 : 465-476, 1985
 19. Kormman, K.S., Robertson, P.B.: Clinical and microbiological evaluation fo therapy for juvenile periodontitis., *J. Periodontol.*, 56 : 443-446, 1985.
 20. Christersson, L.A., Wiekesjo, U.M.E., Albin, B., Zambon, J.J. & Genco, R.J.: Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis. II. Correlation between immunofluorescence and culture technique. *J. Periodontol.* 58-59, 1987
 21. Baker, P.J., Slot, J., Genco, R.J., and Evans. R.T.: Minimal inhibitory concentration of various antimicrobial agents for human oral anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 24 : 420-424, 1983
 22. Ciancio, S.G., Mather, M.L., McMullen, J.A.: An evaluation of minocycline in patients with periodontal disease. *J. Periodontol.*, 51 : 530-534, 1980
 23. Genco, R.J.: Antibiotic in the treatment of human periodontal disease. *J. Periodontol.* 52 : 545-558, 1981
 24. Gordon, J.M., Walker, C.B., Murphy, J.C., Goodson, J.M. and Socransky, S.S.: Tetracycline : Levels achievable in gingival crevice fluid and in vitro effect on subgingival organism. Part I. Concentration in Crevicular fluid after repeated doses. *J. Periodontol.* 52 : 609-612, 1981.
 25. Tanner ACR: A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J. Clin. Periodontol.* 6 : 278-307, 1979
 26. Zambon, J.J.: A *actinomycetemcomitans*

- in human periodontal disease. J Clin Periodontol. 12 : 1-12, 1985.
27. Notton, F., Oosten, A.L.-V. & Mikx, F.: Capillary agar diffusion assay for measuring metronidazole in human gingival crevice fluid. Antimicrob. agent Chemothera. 21 : 836-837, 1982.
 28. Baker, P.J., Evans, R.T., Coburn, R.A. & Genco, R.J.: Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. J. Periodontol. 54 : 580-585, 1983
 29. Golub, L. M., Lee, H.M., Lehrer, G., Nemiroff, H., McNarama, T.F., Kaplan, R., & Ramarumathy, N.S.: Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes. Preliminary observation and a proposed new mechanism of action J. Periodont. Res. 18 : 516-526, 1983
 30. Golub, L.M., Wolf, M., Lee, H.M., McNarama, T.F.: Tetracycline therapy inhibit collagenolytic activity in human periodontal pockets. IADR Abstr. 63 : No, 869, 1984.
 31. Heimdhl, A., Nord, C.E.: Influence of doxycycline on normal flora and colonization of oral cavity and colon. Scand. J. Infect. Dis. 15 : 293-295, 1983.
 32. Fiehn, N.E., Westergaard, J.: Doxycycline - resistant bacteria in periodontally diseased individuals after systemic doxycycline therapy and in healthy individuals. Oral Microbiol. Immunol. 5 : 219-222, 1990.
 33. Van Oosten, M.A.C., Hug, H.M., Mikx, F.H.M., Reuggli, H.H.: The effect of amoxicillin on destructive periodontitis. A case report. J. Periodontol. 57 : 613-616, 1986.
 34. Slot, J., Evans, R.T., Lobbins, P.M., Genco, R.J.: In vitro antimicrobial susceptibility of *Actionobacillus actinimycetemcomitans*. Antimicrob. Agents. Chemothera. 18 : 9-12, 1980
 35. Walker, C.B., Tyler, K.T., Low, S.B., King, C.J.: Penicillin degrading enzyme in site associated with adult periodontitis. Oral Microbiol. Immunol. 2 : 129-131, 1987.
 36. 정현주. 정종평, 손성희. : 구강내 *Actinobacillus actinimycetemcomitans* 분리 균주의 항생제 감수성에 관한 연구. 대한 치주과학회지. 17(1) : 11-18, 1987.
 37. Hoffler, V., Niederaw., pulverer, G.: Susceptibility of *actinobacillus actinomy-cetemcomitans* to 45 antibiotics. Antimicrob. Agents. Chemother. 17 : 943-946, 1980
 38. Goodman, A., Goodman, L.: The pharmacological basis of therapeutics. Macmillian 7th edition. : 1193.
 39. 이우주. : 약리학 강의. 선일 문화사, pp448, 1984.
 40. Pappas, J.D., Walker, C.: Gingival crevicular fluid levels of erythromycin and the in vitro effect on periodontal bacteria J. Dent. Res. 66 : 154, 1987.
 41. Pajukanta, R., Asikaiten, S., Saarela, M., Alauussua S., Jousimies - Somer H.: In vitro activity of azythromycin compared with that of erythromycin against *Actionobacillus actinimycetemcomitans*. Antimicrob. Agent. Chemother. : 31 1241-1243, 1987.
 42. Girard, A.E., Girard, D., English, A.R.: Pharmacokinetic and in vitro studies with azythromycin a new macrolide with an extended half life and excellent tissue distribution. Antimicrob. Agent. Chemother. 31 : 1945-1948, 1987.

43. Hamada, S., Fujiwara, T., Shimauchi, H.: Antimicrobial activities of thiolactomycin against gram negative anaerobes associated with periodontal disease. *Oral Microbiol. Immunol.* 5 : 340-345, 1990.
44. Walker, C.B., Gordon, J.M., Cornwall, H.A., Murphy, J.C., Socransky, S.S.: Gingival crevicular fluids levels of clindamycin compared with its minimal inhibitory concentration for periodontal bacteria. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 19 : 867-871, 1981.
45. Bartlett, J.G.: Antibiotic - associated pseudomembranous colitis. *Hosp. Pract.* 16 : 85-95, 1981.
46. Goodson, J.M., Holborow, D., Dunn, R.L., Hogan, P., & Dunham, S.: Monolithic tetracycline containing fibers for controlled delivery to periodontal pocket. *J. Periodontol.* 52 : 609-614, 1981.

Antibiotic Susceptibility Of *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* From The Patients With Adult Periodontitis

Yong - Cheol Na, Hyung - Keun You, Hyung - Shik shin
Dept. of Periodontology, College of Dentistry Wonkwang University

The purpose of this study was to investigate the antibiotic susceptibility of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isolated from the subgingival plaque to adult periodontitis. Seven bacterial strains were tested for their susceptibility to 10 antimicrobial agents under disk diffusion method and broth dilution method.

Seven patients with deep pocket(6mm) were selected for this study. They had not taken antibiotics for 6 months and no history of dental treatment for 6 months and no history of dental treatment for 6 months before this study.

The results were as follows :

1. For the antibiotic disk diffusion method, seven *A. actinomycetemcomitans* were tested with 10 antimicrobial agents which comprised penicillin, gentamycin, clindamycin, lincomycin, ampicillin, erythromycin, tetracycline, amikacin, chloramphenicol, and vancomycin.

The sensitive antibiotics were tetracycline, vancomycin, and chloramphenicol and the resistant antibiotics were clindamycin, and lincomycin. The other antimicrobial agents were less active.

2. From the study of determination on the minimal inhibitory concentration(MIC) by broth dilution method, the MIC of tetracycline to seven strains of the *A. actinomycetemcomitans* was 0.5-1.0 $\mu\text{g/ml}$, that of clindamycin was 32 $\mu\text{g/ml}$.

These data suggest that tetracycline may be valuable drugs in the elimination of *A. actinomycetemcomitans* from the patients with adult periodontitis