테트라사이클린 및 테트라사이클린-구연산 혼합젤로 처리한 치근면의 항 미생물 활성 변화에 관한 연구 : In Vivo Study

정희선* · 한수부* · 남석우* · 심창구** · 계승범*

*서울대학교 치과대학 치주과학교실 및 치학연구소
**서울대학교 약학대학 제약학과

I. 서 론

치주질환의 원인은 세균으로서 세균성 치태의 제거에 치료의 촛점이 주어지고 있다. 일반적으로 기계적 방법, 즉, 치석 제거술과 치근 활택술 그리고 구강위생교육 등을 통하여 치태를 제거하고 있으나[1, 2], 특정한 미생물에 의해 특정 질환을 야기시킨다는 최근의 연구 결과는[3-5] 항생제의 이용의 이론적 근거를 주고 있다. 그리하여 전통적인 기계적 처치와 항생제 처치를 병행함으로써 치은 연하 치석과 치태 및 세균성 독소를 보다 효과적으로 제거하고자 하는 연구들이 진행되어 왔다. 이는 특히 기계적 치료에 적절히 반응하지 않는 개체에 있어서 더욱 필요한 치료로 대두되고 있다[6, 7].

치주질환의 치료에 항생제를 이용하는 경우 전신적 투여법이 많이 시행되어 왔다. 그러나 전신적 항생제 요법이 야기할 수 있는 몇 가지 부작용 때문에[8] 그 이용이 비교적 제한되고 있으며, 최근에는 항생제를 국소적으로 송달함으로써 그러한 단점을 극복하고자 하는 노력이 진행되고 있다[9-11].

항생제의 국소송달은 송달방법과 사용 약제에 따라 여러 방법이 시도되고 있다. 대표적으로 클로르헥시딘 제제와 테트라사이클린이나 반합성 테트라사이클린인 독시사이클린 혹은 미노사이클린제제 들이 많이 이용되고 있다. 이들 약제는 치은연하 세척이나 삽입, 기타의 방출 조절성 시스템을 이용하여 치은연하에 송달하는 방식으로 광범위하게 연구되고 있는데, 많은 연구에서 국소적으로 적용시 치주질환 원인균의 수를 감소시키며 임상적으로 좋은 결과를 나타내었다.

일회의 시술을 통하여 오랜 시간동안 항생제의 활성을 나타내기 위하여 치태 억제 물질로서 요구되는 성질은 substantivity이다. 치근면이나 치주낭 내의 결합조직이 일정한 저장소가 되어 항생제를 방출시킬 수 있다. 테트라사이클린과 클로르헥시딘이 치주치료를 위하여 널리 이용되고 있는데, 이들 약제는 모두 광범위한 항 미생물 활성과 함께 법랑질이나 상아질에 대한 substantivity를 보인다[13-21].

테트라사이클린은 치주치료에 있어서 가장 많이 선택되는 약제이다. 이는 치은 연하 세

* 이 연구는 1996년도 한국과학 재단 연구비 (961-0702-025-1)지원에 의한 결과임

균에 대한 항미생물 활성이 뛰어날 뿐 아니라[22~25] 임상적인 증상을 개선시킨다. 실험실적 연구에 의하면, 상아질면을 테트라사이클린으로 처리시 smear layer가 제거 되고 표면이 탈회되었으며[18, 26~29], 치근면에 침착된후 대부분의 치주질환 원인균에 대한 활성을 유지한 채로 서서히 방출된다[30]. Stabholz 등은[21] 치은연하 세척 후 임상적으로 의미있는 농도를 유지하면서 테트라사이클린이 치은열구액으로 서서히 방출됨을 보고하였다. 항생제로서의 역할 외에도 테트라사이클린은 저농도에서 교원질 분해효소를 억제시킴으로 인하여 치주조직의 파괴를 저지함이 보고되고 있다[31~34].

국소송달을 위하여 아크릴릭 레진 송달법, 흡수성 교원질 막, 섬유나 캡슐 혹은 strip 형태의 흡수성 중합체 등의 여러 방법이 연구되어 오고 있다[11, 13, 14, 35, 36]. 그러나 현존하는 대부분의 약물 송달체계는 전문적인 장착과 제거과정을 필요로 하며, 조기에 탈락될 수 있다는 단점을 갖고 있다.

테트라사이클린 수용액이 치아 경조직에대한 높은 substantivity를 비롯하여 치주질환에 대한 임상적, 미생물학적 효과가 우수함이 많은 연구에서 보고되고 있다[16~21, 37, 38]. 그러나 임상적으로 이용하기 위하여 용액을 번번히 직접 제조해야 하는데, 용액의 준비에 비교적 시간이 소요됨으로 인하여 임상가의 이용에 제한을 주고 있다. 이러한 문제를 극복하기 위하여 저자들은 수용성 젤 형태의 테트라사이클린과 테트라사이클린-구연산 혼합젤을 개발하였다. 정 등은[41] 이미 이들 제제의 임상적, 미생물학적 효과에 관하여 보고하였고, 실험실적 연구를 통하여 치근면에대한 substantivity를 관찰하였다.

이 연구의 목적은 새로 개발된 테트라사이클린 함유 젤과 테트라사이클린-구연산 혼합젤을 생체내에서 치근면에 도포한 후 시간에 따른 항 미생물 활성의 변화(substantivity)를 측정하는 것이다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

5명의 환자들로 부터 진전된 치주질환(치주낭 깊이 6mm이상)으로 인하여 발치가 예정된 11개의 치아(3개의 상악 전치와 8개의 하악 전치)를 선택하였다.

전신 질환의 병력이 있는 자, 최근 3개월 이내에 항생제 치료의 경험이 있는 자, 임산부 또는 수유부, 테트라사이클린 계 항생제에 과민반응이 있는 자는 제외하였으며, 실험대상 치아는 치아우식증에 이환되어 있지 않은 치아를 선택하였다.

2. 연구 방법

대상환자는 전악 치석 제거술을 실시하고 1주 후 내원하여 발치가 예정된 부위에 국소마취 하에 한 치아당 5분에 걸쳐 치근 활택술을 실시하였다. 치근활택술 후 생리 식염수로 치은 열구를 세척하고 무작위로 각각의 치아에 다음과 같이 처치하였다.

1군) ; 3개의 치아는 염산 테트라사이클린(50mg/ml)용액으로 5분에 걸쳐서 치은연하 세척을 시행하였다 2군) ; 3개의 치아는 수용성 테트라사이클린 젤(5%)을 치은연하에 5분간 도포하였다 3군) ; 3개의 치아는 수용성 테트라사이클린-구연산 혼합젤을 치은연하에 5분간 도포하였다. 그리고 대조군으로 2개의 치아는 0.9% 멸균된 생리 식염수로 5분간 치은연하 세척을 시행하였다.

치아는 5분간 각각의 제제로 처리한 후 즉시 발거하였고, 치면에 흡착되지 않은 약제를 제거하기 위하여 30초간 10ml의 멸균된 생리 식염수로 vortex 하였다. 다음으로 각각의 치아는 탈착 용매로서 1ml의 멸균된 tris

buffered saline(TBS, pH=7.4)이 담긴 용기에 담아 실온에서 22일간 저장하였다. 24시간 간격으로 치아를 새로운 TBS가 담긴 용기로 옮기고, 24시간 동안 약제를 탈착시킨 용매는 영하 70°C에 보관하였다. 이 과정을 24시간 간격으로 22일에 걸쳐 반복하였다.

3. 약제의 제조

캡슐에 들어있는 염산 테트라사이클린 분말(한국 그락소(주))을 처치 직전 증류수에 용해시킴으로써 테트라사이클린 용액을 제조하였다. 53°C water bath에서 분말을 녹인 다음 캡슐의 충전물을 제거하기 위하여 0.22 m pore를 갖는 여과기(Syfil-MF(25mm, 0.22 m, Max press 75 PSI), Nuclepore)로 여과하였다.

수용성 테트라사이클린 젤은 염산 테트라사이클린을 증류수에 녹인후 에탄올을 가하고 gelling agent로서 poloxamer(28%)를 가하여 제조하였다. 테트라사이클린-구연산 혼합젤 역시 구연산을 증류수에 녹인 다음 테트라사이클린을 녹이고 에탄올을 가했으며, gelling agent로서 0poloxamer(28%)를 이용하였다. 두 제제 모두에서 테트라사이클린의 농도는 5%로서 이는 Terranova 등의 연구 결과를 토대로 한 것이다.

4. 미생물학적 검사

microtiter assay를 이용하여 치아로 부터 탈착된 용매의 항미생물 활성을 측정하였다. 지시 미생물로는 중요한 치주질환 원인균으로 밝혀지고 있는 Porphyromonas gingivalis W50을 선택하였다.

P. gingivalis의 stock culture 를 Brain Heart Infusion(BHI) broth에 옮긴 후 85% N_2, 5% H_2, 10% CO_2, 37°C의 혐기성 환경 하에서 48시간 동안 배양하였다. 총 242개의 냉동된 TBS 표본을 녹인 후, 70㎕의 표본과 30㎕의 BHI와 혼합된 세균부유물을 96-well tissue culture plates(Nunclon, Nunc, Denmark)에 담아 37°C 혐기성 배양기에서 40시간 동안 배양하였다. 이때 비교를 위하여 음성 대조군으로서 멸균된 TBS 용액 100ul와 양성대조군으로서 세균 부유물 100㎕를 각각의 plate에 첨가하였다. 배양이 끝난 후 ELISA plate reader(Thermomax, Molecular device corp., California, USA.)를 이용하여 550nm에서 흡광도(OD)를 측정함으로써 세균의 성장을 분석하였다.

5. 통계 분석

시간과 흡광도 변화의 관계를 규명하기 위하여 상관분석과 회귀분석을 사용하였다. One way analysis of variance(ANOVA)를 이용하여 각 시간대에서의 세 가지 처치군과 대조군을 비교하였다.

흡광도를 독립변수로 하고 처치방법을 종속변수로 하였으며, Scheff 검정으로 대조군과의 유의성 있는 차이를 판별하였다. 5%의 유의도를 채택하였다.

III. 연구 결과

표 1은 1일 부터 22일 까지의 회귀분석과 상관분석 결과를 나타내고 있다. 전반적으로 세 군 모두에서 시간의 변화에 따른 흡광도의 변화가 크지 않음을 보이고 있으며, 특히 테트라사이클린 젤 및 테트라사이클린-구연산 혼합젤의 기울기는 매우 유사하였고 테트라사이클린 수용액의 경우 이보다 가파른 기울기를 나타내었다. 상관분석의 결과도 테트라사이클린 수용액이 가장 큰 상관관계를 나타내었다.

표 2에는 분산분석 결과를 나타내고 있다. 각 처치의 효과를 대조군과 비교하였다. 테트라사이클린 젤과 테트라사이클린-구연산 혼

표 1 Regression coefficient(Reg Coeff.),Probabilities(Prob.) and Correlations(Corr.) for the Optical Density readings for the different treatments

Treatment	SAL	TCS	TCG	TC-CAG
Reg. Coeff.	0.008	0.012	0.007	0.006
Prob.	0.000	0.000	0.000	0.000
Corr.	0.513	0.624	0.431	0.326

SAL = Saline
TCS = Tetracycline HCl solution
TCG = Tetracycline-containing gel
TC-CAG = Tetracycline and Citric acid-containing gel

표 2 Mean Optical Densities of Each Treatment Group at Different Time Point

Day Tx.	1	2	3	5	7	11	17	22
SAL	0.832	0.892	0.895	0.862	0.997	1.010	0.931	1.070
	±0.070	±0.008	±0.028	±0.081	±0.088	±0.076	±0.068	±0.117
TCS	0.621*	0.743*	0.779	0.929	0.892	0.967	0.996	1.052
	±0.046	±0.079	±0.068	±0.072	±0.113	±0.065	±0.104	±0.066
TCG	0.727*	0.813	0.896	0.964	0.943	0.990	0.931	0.998
	±0.062	±0.075	±0.082	±0.112	±0.072	±0.029	±0.081	±0.098
TC-CAG	0.711*	0.908	0.870	0.915	0.936	0.991	0.953	0.946
	±0.032	±0.077	±0.125	±0.048	±0.100	±0.040	±0.125	±0.104

SAL = Saline
TCS = Tetracycline HCl solution
TCG = Tetracycline-containing gel
TC-CAG = Tetracycline and Citric acid-containing gel
* : significantly different from Saline-Treated group($p<0.05$)

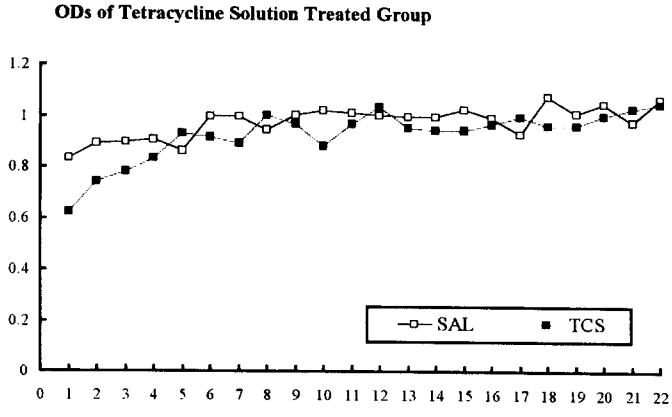

그림 1 Optical density readings(OD) for 22-day period of media of teeth immersed in tetracycline HCl solution(TCS) and saline(SAL)

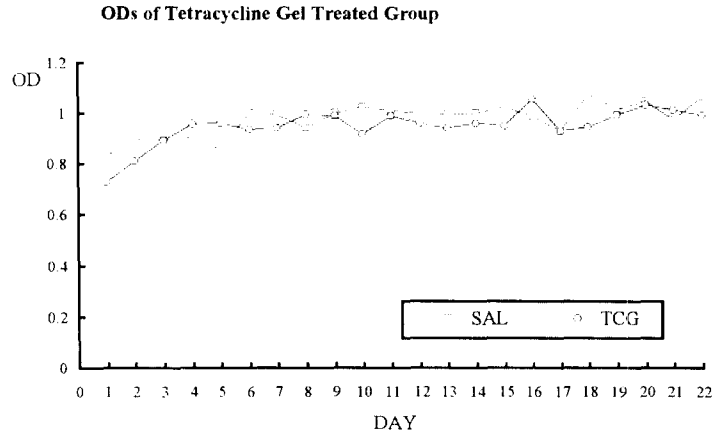

그림 2 Optical density readings(OD) for 22-day period of media of teeth immersed in tetracycline-containing gel(TCG) and saline(SAL)

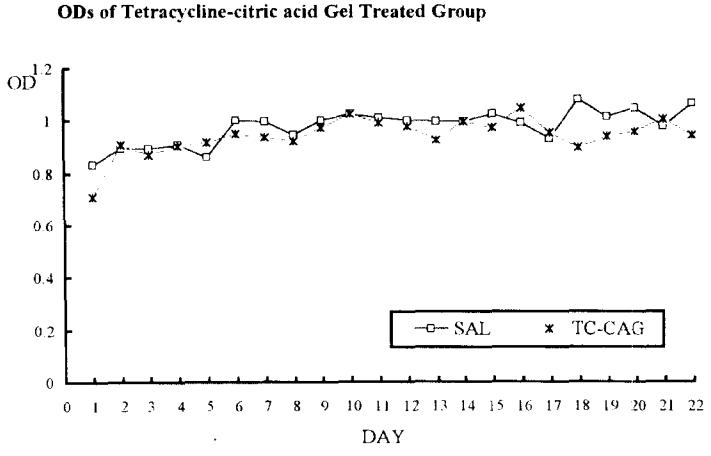

그림 3 Optical density readings(OD) for 22-day period of media of teeth immersed in tetracycline and citric acid-containing gel(TC-CAG) and saline(SAL).

합젤의 흡광도는 대조군인 식염수 처치군에 비하여 1일째에만 통계학적으로 유의성 있게 낮았다. 테트라사이클린 수용액의 경우 2일까지 유의한 차이를 나타내었다($p<0.05$). 그 이후 22일째 까지 각 군의 흡광도는 대조군과 통계학적으로 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

22일간 각 처치군의 흡광도 변화를 그림 1-4에 나타내었다. 테트라사이클린 용액으로 5분간 세척한 군의 항 미생물 활성이 가장 높아 2일째 까지 차이를 나타내었으나, 3일 이후에는 유의한 차이를 보이지 않았다(그림 1). 대조군으로서 멸균된 생리식염수로 처리한 군의 흡광도는 0.95부근에서 근소한 차이를 나타내며 평탄하게 유지되었다.

두 종류의 테트라사이클린 함유 젤은 1일에만 항미생물 활성을 나타내었으며 이후 대조군과 유사하게 유지되었다(그림 2, 그림 3).

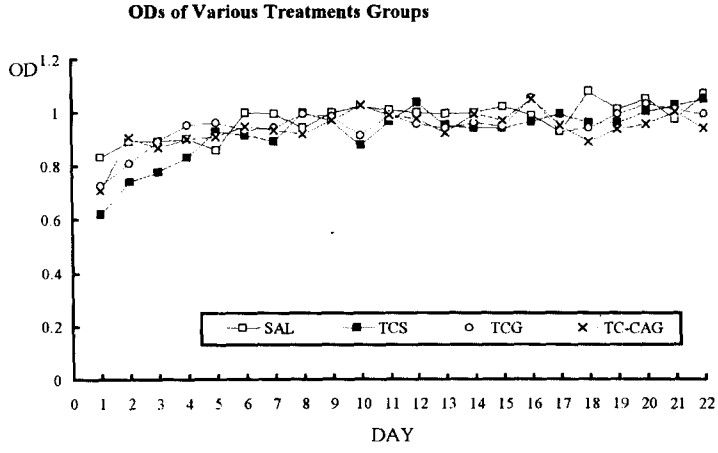

그림 4 Optical density readings(OD) for 22-day period of media of teeth immersed in various drugs treatment.

비교를 목적으로 측정한 양성 대조군의 흡광도는 0.94에서 1.16 범위에, 그리고 음성 대조군의 흡광도는 0.23에서 0.36에 걸쳐 분포하였다.

IV. 총괄 및 고안

이 연구는 두 종류의 테트라사이클린 젤에 관한 임상적, 미생물학적 효과와[41] 치근면에 대한 항 미생물 활성 변화에 관한 기왕의 보고에 기초하여 인체에서 치은연하 도포 후 효과의 지속기간을 보기 위하여 시행되었다. 연구 결과 용액 형태의 테트라사이클린 제제의 substantivity가 가장 높았으며, 두 종류의 젤은 유사한 결과를 나타내었으나 세 군 모두에서 기대했던 결과를 나타내지는 않았다.

식염수 처리군과 비교하여 볼 때 50mg/ml 테트라사이클린 용액으로 처리한 치아군은 2일 째 까지 유의성 있는 흡광도의 차이를 보였다. 테트라사이클린이 치면에 흡착되어 서서히 방출되는 성질은 이 약제의 임상적, 미생물학적 효과를 높이는 데 일정하게 기여한다. 몇 몇 연구자들은 인체내에 치아를 테트라사이클린 용액으로 처리시 서서히 방출됨을 보고하였다. Puchalsky 등은[37] 100mg/ml 테트라사이클린 용액으로 치주낭 내에 5분간 세척시 7일간 치은열구액에서 약물이 존재함을 보고하였으며, Stabholtz 등은[21] 50mg/ml의 테트라사이클린 수용액으로 5분간 치근면을 세척한 결과 생리 식염수 처치군에 비하여 16일 간이나 항 미생물 활성이 나타남을 보였다.

본 연구에서 5% 테트라사이클린 젤 및 테트라사이클린-구연산 혼합젤의 경우 첫 24시간 동안만 유의성있는 항 미생물 활성을 나타내었다. 세 종류의 제제에서 사용한 약제의 농도가 동일했던 점을 고려해 볼 때, 젤화 성분으로 사용된 poloxamer가 약물의 흡착력을 억제하였을 가능성이 있다고 여겨진다. 또 치은 열구라는 환경에 송달하는 과정에서 수동적으로 열구내에 주입한다는 방식이 일정한 한계를 가져왔으리라 생각된다. 물리적으로 약제의 치면 접촉 가능성을 증가시키는 적절한 송달기술 및 기구의 개발이 필요하다.

테트라사이클린과 구연산을 혼합한 제제는 과거의 수 많은 연구들에서 밝혀진 치근면 처리제로서의 구연산의 효과에 기초하여 상승된 효과를 나타낼 수 있으리라는 기대 하에 만들게 되었다. 혼합젤을 사용한 정 등의[41] 임상연구에서는 우수한 치은부착상실도의

개선을 보였지만, 항 미생물 활성을 측정한 기왕의 in vitro 연구와 본 연구에서는 테트라사이클린-구연산 혼합젤의 상대적 우수성을 증명할 수 없었다.

테트라사이클린을 치은 열구로 직접 송달하는 방법은 전신적인 경구투여로 인한 부작용을 줄이기 위하여 개발되어 온 것이다. Goodson 등은[11] 전신적 투여에 비하여 국소 송달법을 이용하여 환자에게 투여되는 전체 약물의 양을 상당히 감소시킬 수 있다고 하였다. 이는 주로 치은연하 세척이나 방출조절성 장치의 삽입을 통하여 이루어 지고 있다. 기계적 치료법과 비교해 볼 때 이러한 국소 송달법의 효과는 매우 제한적이므로[12] 단일한 치료법으로 추천할 수는 없지만, 치석제거술과 치근 활택술 등의 비외과적 치주처치와 병행함으로써 부가적인 효과를 기대할 수 있다. 특히 기계적 처치에 반응하지 않는 부위나 치주치료 후에도 제거되지 않은 잔존 치주낭의 처치시 유용하게 적용시킬 수 있다.

약제에 의한 과민반응의 가능성에 관하여도 언급되어 왔으며[16], 국소적 적용 후 야기될 수 있는 내성균주의 발현 가능성 또한 해결되지 못한 문제의 하나이다. 테트라사이클린 경구투여 후 내성균의 등장에 관하여 많이 관찰되었으나[8, 47-49], Goodson 등은[30] 국소 송달된 테트라사이클린에 의하여 저항성 있는 그람 음성 간균이나 polyantibiotic resistance를 유발하지 않는다고 하였다. 그렇다 하더라도 내성균 출현 가능성에 대한 보다 다양한 연구가 필요하다.

국소적 항생제 요법의 단점 중 하나는 치주낭 깊은 부위까지 약제를 충분히 도달시키기 힘들다는 점이다. 또 여러 부위에 처치하여야 할 경우 부위마다 수 분에 걸쳐서 세척을 하는 것도 비교적 시간이 많이 소요되는 작업이다. 몇몇 연구자들은 petrolatum base에 테트라사이클린을 함유시킨 페이스트를 만들어 손쉽게 송달하는 방법을 고안하여[51-53], 3일 이상 생물학적 활성을 갖는 약물이 치은열구액으로 방출됨을 보고하였다. 그러나 그들 역시 이 요법이 치석제거술과 치근 활택술을 대치할 수 있는 것은 아니라고 하였다. 우리는 치근면 처리제(root conditioning agent)로서의 효과와 항생물질의 효과를 결합하기 위하여 친수성 혼합젤을 개발하게 되었다. 두 종류의 젤이 용액과 유사한 substantivity를 나타내길 기대하였고, 정 등의[11] 임상연구에 기초하여 테트라사이클린-구연산 혼합젤의 효과가 테트라사이클린 단독 젤의 효과보다 우수하길 기대하였으나 결과는 그렇지 못하였다. 그러나 용액과 달리 젤은 고형의 성분으로 일회의 주입 후 비교적 오랜 시간 동안 머무를 수 있으므로, 만약 5분간 약제를 적용시킨 후 즉시 발거하는 방식이 아니라, 치주낭 내에 송달한 뒤 장시간 후에 발거하여 측정에 들어갔다면 상반된 결과를 나타낼 수도 있었으리라 여겨진다. 그러므로 용액에 비하여 상대적으로 낮은 substantivity를 보임에도 불구하고 연구의 결과는 이 제제들의 실용가능성을 암시하고 있다.

본 연구에서 상아질에 대한 약제의 흡수 정도가 규명되지는 않았으므로 테트라사이클린 함유 젤 제제의 흡수 및 방출역학을 규명하기 위한 연구가 진행되어야 할 것으로 여겨진다. 그리고 기술적인 편리성에도 불구하고 microtiter assay 결과 표준편차가 크고 오차가 발생할 수 있는 단계가 많으므로 다른 방법의 미생물학적 분석을 통하여 결과를 비교하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

이 연구의 목적은 인체내에서 실험적으로 고안한 테트라사이클린 함유 젤과 테트라사이클린-구연산 혼합젤의 substantivity를 평가하고, 이를 테트라사이클린 수용액과 비교하는 것으로서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 50mg/ml 테트라사이클린 수용액이 가장 오랜 항 미생물 활성을 보였다. 생리 식염수 처치군과 비교하여 2일째 까지 유의한 차이를 나타내었다.
2. 5% 테트라사이클린 함유 젤과 테트라사이클린-구연산 혼합젤은 유사한 활성을 보였으며, 식염수 처치군과 비교하여 첫 24시간 동안만 유의한 차이를 나타내었다.

참고문헌

1. Slots J, Mashimo P, Levine MJ, Genco RJ. Periodontal therapy in humans. I. Microbiological and clinical effects of a single course of periodontal scaling and root planing and of adjunctive tetracycline therapy. J Periodontol 1979 ; 50 : 495-509.
2. Tagge D, O'Leary T, El-Kafrawy A. The clinical and histological response of periodontal pockets to root planing and oral hygiene. J Periodontol 1975 ; 46 : 527-533.
3. Armitage GC, Dickinson WR, Jender RS, Levine SM, Chambers DW. Relationship between the % of subgingival spirochetes and the severity of periodontal disease. J Periodontol 1982 ; 53 : 550-556.
4. Moore WE. Microbiology of periodontal disease. J Periodont Res 1987 ; 22 : 335-341.
5. Slots J and Listgarten MA. Bacteroides gingivalis, Bacteroides intermedius and Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. J Clin Periodontol 1988 ; 15 : 85-93.
6. Slots J and Rams TE. Antibiotics in periodontal therapy : advantages and disadvantages. J Clin Periodontol 1990 ; 17 : 479-493.
7. Genco RJ, Singh S, Krygier G, Levine M. Use of tetracycline in the treatment of adult periodontitis. I.Clinical studies. J Dent Res 1978 ; 57(Special Issue A) ; 266.
8. Kornman KS, Karl EH. The effect of long-term low-dose tetracycline therapy on the subgingival microflora in refractory adult periodontitis. J Clin Periodontol 1982 ; 53 : 604-610.
9. Loe H and Schiott CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhesidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. J Periodont Res 1970 ; 5 : 79-83.
10. Rosling BG, Slots J et al. Topical chemical antimicrobial therapy in the management of the subgingival microflora and periodontal disease. J Periodont Res 1982 ; 17 : 541-543.
11. Friedman M and Golomb G. New sustained release dosage form of chlorhexidine for dental use. J Periodont Res 1982 ; 17 : 323-328.
12. Soh LL, Newman HN and Strahan JD. Effects of subgingival chlorhexidine irrigation on periodontal inflammation. J Clin Periodontol 1982 ; 9 : 66-74.
13. Goodson JM, Holborow D, Dunn RL, Hogan P, Dunham S. Monolithic tetracycline-containing fibers for controlled delivery to periodontal pockets. J Periodontol 1983 ; 54 : 575-579.
14. Goodson JM, Offenbacher S, Farr DH, Hogan PE. Periodontal disease treatment by local drug delivery. J Periodontol 1985 ; 56 : 265-272.

15. Rolla G, Loe H and Schiott R. The affinity of chlorhesidine for hydroxyapatite and salivary mucins. J Periodont Res 1970 ; 5 : 90-95.
16. Baker PJ, Evans RT, Coburn RA, Genco RJ. Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. J Periodontol 1983 ; 54 : 580-585.
17. Bjorvatn K, Skaug N, Selvig KA. Tetracycline-impregnated enamel and dentin : duration of antimicrobial capacity. Scand J Dent Res 1985 ; 93 : 192-197.
18. Terranova VP, Franzetti LC, Hic S, DiFlorio RM, Lyall RM, Wikesjo UME, Baker PJ, Christersson LA, Genco RJ.A biochemical approach to periodontal regeneration : Tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth. J Periodont Res 1986 ; 21 : 330-337.
19. Wikesjo UME, Baker PJ, Christersson LA, Genco RJ et al. A biochemical approach to periodontal regeneration : Tetracycline treatment conditions dentin surfaces. J Periodont Res 1986 ; 21 : 322-329.
20. Stabholz A, Kettering J, Aprecio R, Zimmerman G, Baker PJ, Wikesjo UME. Antimicrobial properties of human dentin impregnated with tetracycline HCl or chlorhexidine. J Clin Periodontol 1993 ; 20 : 557-562.
21. Stabholz A, Kettering J, Aprecio R, Zimmerman G, Baker PJ, Wikesjo UME. Retention of antimicrobial activity by human root surfaces after in situ subgingival irrigation with tetracycline HCl or chlorhexidine. J Periodontol 1993 ; 64 : 137-141.
22. Listgarten MA, Lindhe J and Hellden L. Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease. J Clin Periodontol 1978 ; 5 : 246-271.
23. Slots J, Mashimo P, Levine MJ, Genco RJ. Periodontal therapy in humans. I.Microbiological and clinical effects of a single course of periodontal scaling and root planing, and of adjunctive tetracycline therapy. J Periodontol 1979 ; 50 : 495-509.
24. Walker CB, Gordon JM, McQuilken SJ, Niebloom TA, Socransky SS. Tetracycline : Levels achievable in gingival crevice fluid and in vitro effect on subgingival organisms. Part I II.Susceptibilities of periodontal bacteria. J Periodontol 1981 ; 52 : 613-616.
25. Lindhe J, Liljenberg B, Adielsson B. Effect of long-term tetracycline therapy on human periodontal disease. J Clin Periodontol 1983 ; 10 : 590-601.
26. Terranova VP, Hic S, Franzetti L, Lyall RM, Wikesjo UME. A biochemical approach to periodontal regeneration. AFSCM : Assays for specific cell migration. J Periodontol 1987 ; 58 : 247-256.
27. Labahn R, Fahrenbach WH et al. Root dentin morphology after different modes of citric acid and tetracycline hydrochloride conditioning. J Periodontol 1992 ; 63 : 303-309.
28. Lafferty TA, Gher ME, Gray JL. Comparative SEM study on the effect of acid etching with tetracycline HCl or citric acid on instrumented periodontally-

involved human root surface. J Periodontol 1993 ; 64 : 689-693.
29. Dyer BL, Caffesse RG, Nasjleti CE, Morrison EC. Guided tissue regeneration with dentin biomodification. J Periodontol 1993 ; 64 : 1052-1060.
30. Baker PJ, Evans RT, Slots J, Genco RJ. Susceptibility of human oral anaerobic bacteria to antibiotics suitable for topical use. J Clin Periodontol 1985 ; 12 : 201-208.
31. Golub LM, Ramamurthy N, McNamara TF et al. Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity. J Periodont Res 1984 ; 19 : 651-655.
32. Ingman T, Sorsa T, Suomalainen K, Halinen S, Lindy O, Lauhio A, Saari H, Konttinen Y, Golub LM. Tetracycline inhibition and the cellular source of collagenase in gingival crevicular fluid in different periodontal diseases. A review article. J Periodontol 1993 ; 64 : 82-88.
33. Chang KM, Ramamurthy NS, McNamara TF, Evans RT, Klausen B, Murray PA, Golub LM. Tetracyclines inhibit Porphyromonas gingivalis-induced alveolar bone loss in rats by a non-antimicrobial mechanism. J Periodont Res 1994 ; 29 : 242-249.
34. Minabe M, Takeuchi K et al. The effect of root conditioning with minocycline HCl in removing endotoxin from the roots of periodontally-involved teeth. J Periodontol 1994 ; 65 : 387-392.
35. Heijl L, Dahlen G, Sundin Y, Wenander A, Goodson JM. A 4-quadrant comparative study of periodontal trearment using tetracycline-containing drug delivery fibers and scaling. J Clin Periodontol 1991 ; 18 : 111-116.
36. Minabe M, Takeuchi K et al. Subgingival administration of tetracycline on a collagen film. J Periodontol 1989 ; 60 : 552-556.
37. Puchalsky CS, Christerson LA, Norris LA, Dunford RG, Genco RJ. Release of active tetracycline HCl from in vivo, irrigated human teeth. J Dent Res 1987 ; 66(Special Issue A) : 356.
38. Demirel K, Baer PN, McNamara TF. Topical application of doxychcline on periodontally involved root surfaces in vitro : Comparative analysis of substantivity on cementum and dentin. J Periodontol 1991 ; 62 : 312-316.
39. Silverstein L, Bissada N et al. Clinical and microbiological effects of local tetracycline irrigation on periodontitis. J Periodontol 1988 ; 59 : 301-305.
40. Christersson LA, Norderyd OM, Puchalsky CS. Topical application of tetracycline-HCl in human periodontitis. J Clin Periodontol 1993 ; 20 : 88-95.
41. Jeong SN, Han SB et al. Effects of tetracycline-containing gel and a mixture of tetracycline and citric acid-containing gel on non-surgical periodontal therapy. J Periodontol 1994 ; 65 : 840-847.
42. MacAlpine R, Magnusson I, Kiger R, Crigger M, Garrett S, Egelberg J. Antimicrobial irrigation of deep pockets to supplement oral hygiene instruction and root debridement. J Clin Periodontol 1985 ; 12 : 568-577.
43. Braatz L, Garrett S, Claffey N, Egelberg J. Antimicrobial irrigation of deep pockets to supplement non-surgical

periodontal therapy. II. Daily irrigation. J Clin Periodontol 1985 ; 12 : 630-638.
44. Southard SR, Drisko CL, Killoy WJ, Cobb CM, Tira DE. The effects of 2% chlorhexidine digluconate irrigation on clinical parameters and the level of Bacteroides gingivalis in periodontal pockets. J Periodontol 1989 ; 60 : 302-309.
45. Reynolds MA, Lavigne CK, Minah GE, Suzuki JB. Clinical effects of simultaneous ultrasonic scaling and subgingival irrigation with chlorhexidine. J Clin Periodontol 1992 ; 19 : 595-600.
46. Ciancio SG. Tetracyclines and periodontal therapy. J Periodontol 1976 ; 47 : 155-159.
47. Osterberg SK, Williams BL, Jorgensen J. Long-term effects of tetracycline on the subgingival microflora. J Clin Periodontol 1979 ; 6 : 133-140.
48. Williams BL, Osterberg SK, Jorgensen J. Subgingival microflora of periodontal patients on tetracycline therapy. J Clin Periodontol 1979 ; 6 : 210-221.
49. Lantz MS, Ray T, Krishnasami S, Pearson DE. Subinhibitory concentration of tetracycline alter fibrinogen binding by Bacteroides intermedius. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1987 ; 31 : 1915-1918.
50. Goodson JM, Tanner ACR, Hoffmann BE, Lee H. Antibiotic susceptibility of periodontal gram negative rods before and after treatment with tetracycline by local delivery. J Dent Res 1987 ; 66(Special Issue A) : 355.
51. Eckles TA, Reinhardt RA et al. Intracrevicular application of tetracycline in white petrolatum for the treatment of periodontal disease. J Clin Periodontol 1990 ; 17 : 454-462.
52. Van Steenberghe D, Bercy P, Kohl J, De Boever J, Adriaens P, Vanderfaeillie A et al. Subgingival minocycline hydrochloride ointment in moderate to severe chronic adult periodontitis : A randomized, double-blind, vehicle-controlled, multicenter study. J Periodontol 1993 ; 64 : 637-644.
53. Unsal E, Akkaya M and Walsh TF. Influence of a single application of subgingival chlorhexidine gel or tetracycline paste on the clinical parameters of adult periodontitis patients. J Clin Periodontol 1994 ; 21 : 351-355.

-Abstract-

Antimicrobial Activities of Root Surfaces Treated with Tetracycline-containing gel and a Mixture of tetracycline and citric acid-containing gel : in vivo study

Hee-Sun Cheong*, Soo-Boo Han*, Seok-Woo Nam*, Chang-Koo Shim**, Seung-Beom Kye*
*Department of Periodontology and Dental Research Institute, College of Dentistry, Seoul National University
**Department of Pharmacology, College of Dentistry, Seoul National University

The purpose of this study was to evaluate the substantivity of experimentally developed gel type tetracycline HCl and a mixture of tetracycline-citric acid gel, and compare to those of solution type tetracycline HCl. 11 extracted anterior teeth were subjected to this study. After scaling and root planing teeth were randomly divided into 3 treatments groups : group 1; 3 teeth were irrigated with tetracycline HCl(50mg/ml) solution , group 2; tetracycline gel (5%) was inserted in the periodontal pockets of 3 teeth, group 3; a mixture of tetracycline and citric acid gel was inserted in the pockets of 3 teeth. And 2 teeth treated in 0.9 % sterile saline served as controls. After 5-minute exposure, each tooth immediately extracted and incubated at room temperature for 22 days in tris-buffered saline as a desorption media. The total volume of TBS was removed and replaced with fresh TBS, at 24-h intervals. Removed desorption media transferred to a sterile vial and stored at -70 oC. This procedure was repeated every 24 h throughout the 22-day desorption period. Using Porphyromonas gingivalis as an indicator organism, a microtiter assay was used to evaluate antimicrobial activity desorbed from the teeth.

1. 50mg/ml tetracycline HCl solution exhibited the longest antimicrobial activity. Compared to saline treated group, it showed significant difference on the day 1 and day 2 desorption period.
2. The ODs of 5% tetracycline gel and a mixture of tetracycline-citric acid gel were significantly different during the first 24 hour only.
3. There was no statistically significant difference after the day 3 between the groups.($p<0.05$).

Despite our expectation a mixture of tetracycline-citric acid gel did not show longer antimicrobial activities than those of tetracycline gel, and the solution type exhibited the longest activities. Because the gel type agents may stay in the subgingival environment longer than the solution, if the teeth were not extracted immediately after the delivery of the agent, the result could be different. hus this result suggests the possibilities of practical use of these kind of gel type agents.

Key Words : tetracycline, tetracycline-citric acid , gel, substantivity