

근관내 주요 혐기성 병인균에 대한 수증 항생제와 근관충전용 세멘트의 항균효과에 관한 연구*

서울대학교 치과대학 보존학교실

배 광 식

Abstract

ANTIMICROBIAL EFFECT OF ANTIBIOTICS AND ROOT CANAL CEMENTS ON THE PREDOMINANT PATHOGENIC ANAEROBIC MICROFLORA IN ROOT CANALS

Kwang-Shik Bae, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

*Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry,
Seoul National University*

The purpose of this study was to evaluate the susceptibility of anaerobic microorganisms to certain antibiotics and root canal cements. *Prevotella intermedia* (*Bacteroides intermedius*) ATCC 25611 (serotype A), *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Actinomyces viscosus* ATCC 15987 which are the predominant pathogenic anaerobes in dental root canals were cultured in BHI for 48 hours (Fig.1). After each 200 μ l of those broths with microorganisms was streaked on each surface of blood agar plate, 2 to 5 antibiotic discs which are impregnated with Tetracycline, Erythromycin, Ampicillin, Clindamycin, or Vancomycin were applied on each surface of blood agar plate and cultured for 5 days anaerobically in the anaerobic chamber (Coy anaerobic chamber MI, USA) (Fig.2). 15 antibiotic discs for each kind of antibiotics and each species of microorganisms were tested. Also each kind of root canal cement tubes which include Zinc oxide eugenol cement, Zinc phosphate cement, Calcium hydroxide powder + D.D.W., Calcium hydroxide paste (Pulpdent Tempcanal), or Vitapex (Table 1) were applied on the inoculated BAPs after 200 μ l of each experimental species of microorganisms was streaked on the surface of blood agar plates, and they were cultured for 5 days anaerobically in the anaerobic chamber (Fig.3). The sensitivity (antimicrobial effect) was determined by the diameter of the inhibition zone.

The results are as follows:

1. The results of antibiotic susceptibility test (Table 2)

- 1) All of the tested antibiotics had antimicrobial activity with various degrees.
- 2) In *Prevotella intermedia* (old *Bacteroides intermedius*), the diameter of inhibition zone to

* 이 연구논문은 '92년도 서울대학교 발전기금 포철학술연구비(연구관리번호 92-15-2120) 지원에 의한 결과임.

Erythromycin($37.87\text{mm} \pm 2.20$) was largest, those to Tetracycline($26.20\text{mm} \pm 2.96$), Vancomycin($21.53\text{mm} \pm 1.96$), Clindamycin($18.73\text{mm} \pm 0.96$) was smaller than former orderly, and That to Ampicillin ($7.87\text{mm} \pm 0.83$) was smallest.

3) In *Actinomyces viscosus*, the diameter of inhibition zone to Erythromycin($28.73\text{mm} \pm 1.22$) was largest, those to Ampicillin($21.73\text{mm} \pm 1.03$), Clindamycin($21.33\text{mm} \pm 1.59$) was similarly next order, that to Vancomycin($19.00\text{mm} \pm 1.96$) was smaller than Clindamycin, and that to Tetracycline($11.93\text{mm} \pm 0.70$) was smallest.

4) In *Fusobacterium nucleatum*, the diameter of inhibition zone to Ampicillin($31.07\text{mm} \pm 1.91$) was largest, that to Erythromycin($28.87\text{mm} \pm 0.92$), Clindamycin($20.47\text{mm} \pm 1.51$), Vancomycin ($16.73\text{mm} \pm 0.96$), Tetracycline ($12.13\text{mm} \pm 1.06$) are smaller than former orderly.

2. The results of root canal cements and pastes(Table 3)

1) The external diameter of tube is 4mm, so 4mm of the inhibition zone diameter means non-susceptable. *Prevotella intermedia* (old *Bacteroides intermedius*) was non-susceptable to Calcium hydroxide powder+D.D.W., Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal), and *Actinomyces viscosus* was non-susceptable to Zinc phosphate cement, Calcium hydroxide powder+D.D.W., Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal).

2) In *Prevotella intermedia* (old *Bacteroides intermedius*), the diameter of inhibition zone to Zinc oxide eugenol cement($13.67\text{mm} \pm 3.30$) was largest, that to Vitapex($9.20\text{mm} \pm 2.96$), Zinc phosphate cement($6.13\text{mm} \pm 2.07$) was smaller than former.

3) In *Actinomyces viscosus*, the diameter of inhibition zone to Zinc oxide eugenol cement($17.40\text{mm} \pm 5.20$) was largest and that to Vitapex($8.80\text{mm} \pm 1.70$) was next order.

4) In *Fusobacterium nucleatum*, the diameter of inhibition zone to Vitapex($42.33\text{mm} \pm 17.2$) was largest and those to Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal)($14.47\text{mm} \pm 3.72$) and Zinc oxide eugenol cement($8.93\text{mm} \pm 2.71$), Zinc phosphate cement($8.20\text{mm} \pm 2.27$), Calcium hydroxide powder+D.D.W.($5.53\text{mm} \pm 2.10$)was next orderly. And then In Zinc oxide eugenol cement and Zinc phosphate cement group, two of fifteen samples showed no inhibition zone, in Calcium hydroxide powder+D.D.W. group, 8 of 15 samples showed no inhibition zone.

I. 서 론

과거에는 여러 호기성 및 혐기성 세균이 혼합되어 있을 경우, 혐기성 세균은 그 까다로운 배양 방법 때문에 자주 간과되어져 왔고 치성 농양에서는 viridans Streptococci가 주된 역할을 한다고 알려져 왔다¹⁻⁴⁾. 그러나 1976년 스웨덴의 Sundqvist⁵⁾가 치근단 질환이 있는 치아에서 혐기성 세균을 검출한 이래, 혐기성 세균과 이것의 배양 그리고 혐기성 세균과 호기성 세균 및 통성 혐기성 세균의 상승효과에 대한

연구가 활발히 진행되었다⁴⁾. 그 결과 근관내나 치근단 병소의 세균은 그 종류나 수에 있어 대부분이 혐기성 세균으로 알려지고 있으며 또한 이들이 치근단 농양의 중요한 원인이라는 것이 밝혀졌다⁶⁻¹⁰⁾. 또한 혐기성 세균은 임상 증상이 있는 피사 치수에서 임상 증상이 없는 피사 치수보다 그 숫자와 종류가 증대되는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 이들 혐기성 세균중 특히 Black-pigmented *Bacteroides*가 중요한 역할을 하며 그 외의 부수적인 세균들 또한 치근단 질환에 많은 역할을 한다.^{5, 11-16)}

1980년 Griffiee 등¹⁷⁾은 *B. melaninogenicus*와 치수괴사의 증상들간의 관계에 관한 연구에서 심한 악취, 동통, 누공 등의 증상과 *B. melaninogenicus*와 유사한 상관관계가 있다고 보고하였다. Sundqvist⁶⁾, Mayrand¹⁸⁾ 등도 특히 타진반응, 부종, 동통, 삼출액 등의 급성염증의 증상이 홀로 또는 겹쳐서 나타나는 치아에서 *Bacteroides melaninogenicus*의 subspecies가 발견된다고 하였다.

Yoshida 등¹³⁾은 최근에 임상증상이 없는 치아에서는 주로 oral streptococci와 enteric bacteria가 발견되는 반면에, 임상적으로 급성증상이 있는 치아에서 *Bacteroides species*와 *Peptococcus magnus*를 빈번히 분리해내므로써 *Bacteroides melaninogenicus*와 타 혐기성균의 mixed infection이 임상 증상과 관련이 있다는 Sundqvist와 Griffiee의 견해를 뒷바침하였다.

van Steenbergem 등¹⁹⁾의 최근 연구에서 감염치근관에서만 발견되는, 독특한 DNA homology를 지니고 성장에 menadione이 꼭 필요한, *Bacteroides*의 한 균주를 찾아내어 *Bacteroides endodontalis*라고 명명하였다. van Winkelhoff 등⁹⁾도 그들 연구case의 38%에서 동일한 균주를 발견하였다. 아직 이들의 어떤 성질이 치근관감염에 관여하는지는 명확히 밝혀지지 않았다.

Baumgartner 등²⁰⁾은 치근단병소를 가진 감염치근관의 근침 5mm내의 균을 배양한 결과 50종의 균을 확인했으며, 특징적인 세균으로 *Actinomyces*, *Lactobacillus*, black-pigmented *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, nonpigmented *Bacteroides*, *Veillonella*, *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus mutans*를 뽑았다.

1986년 Bystrom²¹⁾은 치근단주위염을 가진 치아들의 근관치료에 대한 논문에서, *Bacteria*가 치근단주위염을 유발하고, 근관치료의 실패와 직접 관련이 있으며, 근관치료의 목표는 치근관계에서 모든 박테리아를 제거하는 것이라고 하였다.

또한 이를 위해서는 mechanical instrumentation, 관개, 치료간 항균약제 사용 등이 복합적으로 이루어져야 한다고 하였다. 근관치료시 미생물이 존재한다고 반드시 실패하는 것이 아니고, 미생물이 없다고 꼭 성공하는 것도 아니지만, 특정 미생물의 존재가 지속적인 자극이 될 수 있으므로 근관치료시

미생물을 조절하고, 미생물과 기질을 제거하는 것은 필수적이다⁴⁾.

따라서 본 연구는 치근단 질환에서 빈번히 발견되는 *Actinomyces*, black-pigmented *Bacteroides*, *Fusobacterium nucleatum* 등 3종의 혐기성 세균에 대한 5종의 항생제 즉 Tetracycline, Erythromycin, Ampicillin, Clindamycin, Vancomycin 등에 대한 감수성을 관찰하고자 한다.

또한 널리 사용되는 근관 충전용 세멘트의 항균력을 측정하여 치근단 병소의 존재시 적절한 근관 충전용 세멘트의 선택에 도움이 되고자 한다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

실험 대상균은 *Prevotella intermedia*(구 *Bacteroides intermedius*) ATCC 25611(serotype A), *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Actinomyces viscosus* ATCC 15987 등 3종을 사용하고, 항생제는 Tetracycline, Erythromycin, Ampicillin, Clindamycin, Vancomycin 등 5가지를 사용하였으며, 근관 충전 세멘트는 Zinc oxide eugenol cement, Zinc phosphate cement, Calcium hydroxide powder + D. D. W., Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal), Vitapex 등 5가지를 사용하였다(Table 1.).

항생제는 각각 일정량의 항생제를 함유한 6mm 크기의 disc(BBL Sensi-Disc, Becton Dickinson and Company, Cockeysville, MD 21030 USA)를 사용하였으며, 그 농도는 Tetracycline : 30mcg, Erythromycin : 15mcg, Ampicillin : 10mcg, Clindamycin : 2mcg, Vancomycin : 30mcg이었다.

2. 실험 방법

1) 항생제 실험

Prevotella intermedia(구 *Bacteroides intermedius*), *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces viscosus* 등 3종의 균을 각각 BHI 에서 48시간 배양한 후(Fig. 1) 각각 Blood agar plate에 200 μ l씩 접종하여 도말하였다. 각각의 균이 도말된 Blood agar plate에 1 plate 당 항생제 disc 2~5매씩 접촉하도록 얹고, 항생제는 1종류당 15개의 disc를 사용하였다. 이것을 즉시 혐기성 배양기(Coy anaerobic chamber MI,

Table 1. Root canal cements and pastes tested.

Product	Code	Manufacturer	Approximate p : 1 ratio or mixing conditions
Zinc oxide eugenol	ZOE	Pharmaceutical grade	2.5 : 1 by vol.
Zinc phosphate cement	ZPC	Confi-Dental, Louisville, Colorado	1.4g : 0.5ml
Calcium hydroxide powder	Cal.	Eli Lilly & Co. Indianapolis, Ind.	mixed with D.D.W.
Pulpdent Tempcanal	Pd	Pulpdent, Brookline, Mass.	supplied as paste
Vitapex	Vit	Neo 製藥工業株式會社, Japan	supplied as paste



Fig. 1. *Prevotella intermedia* (*Bacteroides intermedius*) ATCC 25611 (serotype A), *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Actinomyces viscosus* ATCC 15987 were cultured anaerobically in the BHI broths for 48 hours.

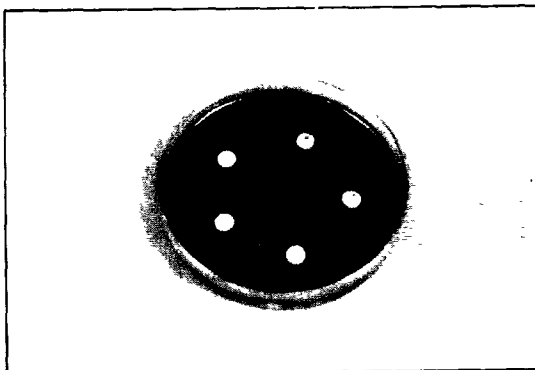


Fig. 2. Zones of inhibition surround antibiotic containing discs. (microorganism : *P. intermedia*, antibiotics : Clindamycin)

USA)에 넣어 5일간 배양한 후 형성된 inhibition zone의 직경을 vernier caliper를 사용하여 측정하였다(Fig. 2). inhibition zone이 원형이 아니고 불규칙한 경우는 장폭경과 단폭경의 평균치를 기록하였다.

Blood agar plate의 pH는 7.2-7.3으로 유지하고, 조성은 Trypticase soy agar 20g, Agar 2g, Yeast extract 0.5g, Glucose 1g, Na-succinate 1g, KNO₃ 1g, Na-Formate 1g, Na-Fumarate(Fumaric acid) 1.5g, Rabbit blood 25ml, Hemin 5μg/ml, Vitamin K 0.5μg/ml, D. D. W. 500ml로 하였다.

2) 근관 충전 세멘트 실험

Prevotella intermedia (구 *Bacteroides intermedius*), *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces viscosus* 등 3종의 균을 각각 BHI 에서 48시간 배양한 후 각각 Blood agar plate에 200μl씩 접종하여 도말하였다. 멸균된 외경 4mm, 내경 3mm이고 길이 5mm인 PVC tube의 한 쪽 끝을 bone wax로 채워 밀폐시키고, 상기 5종의 근관충전용 세멘트를 제조 회사의 지시에 따라 혼합하여 tube내에 충전하였다. 이와같이 충전된 tube를 각 균이 도말된 Blood agar plate에, Vitapex는 1 plate 당 1-2개, Zinc Oxide Eugenol Cement, Zinc Phosphate Cement, Calcium hydroxide powder+D. D. W., Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal) 등은 1 plate 당 5개씩 Blood agar plate에 세멘트가 접촉되도록 세웠다(Fig. 3). 이들을 즉시 혐기성 배양기에 넣어 5일간 배양한 후 형성된 inhibition zone의 직경을 측정하였다. inhibition zone이 원형이 아니고 불규칙한 경우는 장폭경과 단폭경의 평균치를 기록하였다.

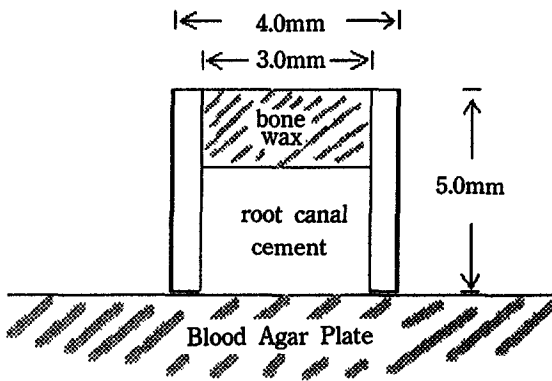


Fig. 3. Schematic drawing of PVC tube diffusion test of root canal cement.

III. 실험성적

1. 항생제 실험성적

3종의 실험 대상균 *Prevotella intermedia*(구 *Bacteroides intermedius*), *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces viscosus*의 5종 항생제 Tetracycline, Erythromycin, Ampicillin, Clindamycin, Vancomycin에 대한 inhibition zone 직경의 측정 평균치 및 표준편차는 Table 2 와 같다.

Table 2. Mean values and standard deviations of the inhibition zone diameters around the antimicrobial discs on the BAP. mean± S. D.(mm)

Microorganism	Tetracycline	Erythromycin	Ampicillin	Clindamycin	Vancomycin
<i>Prevotella intermedia</i>	26.20± 2.96	37.87± 2.20	7.87± 0.83	18.73± 0.96	21.53± 1.96
<i>Actinomyces viscosus</i>	11.93± 0.70	28.73± 1.22	21.73± 1.03	21.33± 1.59	19.00± 1.96
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	12.13± 1.06	28.87± 0.92	31.07± 1.91	20.47± 1.51	16.73± 0.96

Disc diameter : 6mm

Table 3. Mean values and standard deviations of the inhibition zone diameters around the cups with root canal cement on the BAP. mean± S. D.(mm)

Microorganism	ZOE	ZPC	Cal	Pd	Vit
<i>Prevotella intermedia</i>	13.67± 3.30	6.13± 2.07	4.00± 0.00	4.00± 0.00	9.20± 2.96
<i>Actinomyces viscosus</i>	17.40± 5.20	4.00± 0.00	4.00± 0.00	4.00± 0.00	8.80± 1.70
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	8.93± 2.71	8.20± 2.27	5.53± 2.10	14.47± 3.72	42.33± 17.2

PVC tube diameter : 4mm

2. 근관 충전 세멘트 실험성적

3종의 실험 대상균 *Prevotella intermedia*(구 *Bacteroides intermedius*), *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces viscosus*의 5종 근관 충전 세멘트 Zinc oxide eugenol cement, Zinc phosphate cement, Calcium hydroxide powder+D. D. W., Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal), Vitapex 에 대한 inhibition zone 직경의 측정 평균치 및 표준편차는 Table 3 과 같다.

IV. 총괄 및 고안

세균에 대한 감수성 검사방법은 희석법(dilution method)과 확산법(diffusion method)이 있으며²²⁻²⁶⁾, 확산법에는 원판확산법(disc-diffusion method)과 원통확산법(cup diffusion method)이 있는데²⁶⁾, 본 실험에서는 항생제의 항균효과는 원판확산법을 사용하였고 근관 충전 세멘트의 항균효과는 원통확산법을 사용하였다. 이상의 방법에서 약제가 효과적이면 inhibition zone이 나타나고, sensitive, intermediate, resistant등으로 표현한다²²⁾.

본 실험에 사용된 세균 중 *Prevotella intermedia*는 최근까지 *Bacteroides intermedius*로 불리던 세균으로 *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides endodonta-*

lis와 더불어 치근단주위병소에서 자주 발견되는 *Bacteroides species* 중의 하나이며^{9, 19, 27-29}), 운동성이 없고 포자를 형성하지 않으며, 절대혐기성인 Gram 음성 간균으로 평소에는 소화장기내에 공생적으로 존재하나 때로는 치명적인 의과질환을 유발하기도 한다³⁰). 많은 *Bacteroides*가 골흡수를 유발하는 LPS 등^{31, 32}), 숙주면역세포의 탐식을 방해하는 capsule³³), 치수결체조직을 파괴하는 trypsin과 교섬유 분해효소 등의 조직분해효소^{34, 35})와 같은 치근단병소의 병리에 중요한 역할을 하는 독성물질을 생산한다. 또한 *Pantera* 등²⁹)은 *Bacteroides intermedius*, *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides endodontalis* 중 *Bacteroides intermedius*가 치근단 병소의 key microorganism이라고 주장하였다.

Sundqvist³⁶)는 근관내 세균을 배양해보면 세균간에 상관관계가 있는데, 가장 흔히 발견되는 *Fusobacterium nucleatum*은 *Peptostreptococcus micros*, *Wolinella recta*, *Porphyromonas*(전의 *Bacteroides*) *endodontalis*, *Selenomonas sputigena*와 정상관관계가 있고, 근관의 34%에서 발견되는 *Bacteroides intermedius*는 *Peptostreptococcus anaerobius*, *P. Micros*, *Eubacterium species*와 정상관관계가 있으며, 또 *Actinomyces species*는 *Propionibacterium propionicus*와 정상관관계가 있다고 하였다. 또한 Mayrand 등¹⁸)은 *B. asaccharolyticus* 가 hemin 대신 succinate를 사용할 수 있으며, succinate를 생산하는 미생물에 의존하기 때문에 *K. pneumonia*등의 다른 미생물이 필요하다고 하였다. 실제 배양에서 agar immobilized succinate or hemin과 같이 집중하면 제2의 미생물은 필요없다.

최근 근관감염에서 주요역할을 하는 *Bacteroides species* 중 *Bacteroides genus* 의 type species인 *Bacteroides fragilis*와 주요 생화학 특성의 차이를 보이는 *B. gingivalis*, *B. asaccharolyticus*, *B. endodontalis*를 *Porphyromonas genus*로 독립시켜 각각 *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *Porphyromonas endodontalis*라 명명하고³⁷), *B. intermedius*, *B. melaninogenicus*, *B. denticola*, *B. loescheii*를 *Prevotella genus*로 독립시켜 *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella denticola*, *Prevotella loescheii*로 명명하였다³⁸).

*Bacteroides genus*와 함께 *Bacteroidaceae family*에 속하는 *Fusobacterium genus*는 pointed ends를 지닌 혐기성 gram-negative small spindle-shaped rod 로서, 포자형성을 하지 않고, 운동성이 있으며, 절대혐기성으로 사람의 구강, 대장, 여성 생식기 등의 상주균이며, 때로 pulmonary, intraabdominal, and pelvic abscess에서 분리된다. 또한 자주 다른 anaerobe와 facultative anaerobe 등과 mixed infection조건을 보인다. sugar를 발효시켜 organic acid인 Butyric acid, acetic acid, lactic acid 등을 생성하고, 소량의 propionic, succinic, formic acid를 생성하며, Peptone을 분해시키기도 한다. 본 실험에 사용된 *fusobacterium nucleatum* 은 약 16종의 *fusobacterium species*중 type species로서 Vincent's angina(trench mouth)의 경우에 여러 spirochete등과 같이 나타나기도 한다. horse blood agar위에 1-2 mm의 circular to irregular, convex, translucent colonies를 형성하고 통상 non hemolytic이다^{23, 25}).

*Actinomycetaceae family*에 속하는 *Actinomyces genus*(ray fungus)는 Gram 양성이고, Non-acid-fast이며, 운동성이 없고, 포자형성을 하지 않으며, 대개 anaerobic이며, 1907년 Bergey가 구강내에서 첫분리하였다. *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *A. viscosus*, *A. bovis*등의 5 species가 있으며, type species는 *Actinomyces bovis*이다. 본 실험에 사용된 *A. viscosus*는 hamster, rat, 사람의 구강에서 분리되며, BHI(Co2와 호기배양) agar에서 filamentous fringe가 있는 dense center를 보인다. facultative anaerobe로 CO₂와 잘 자라며, 사람 구강의 dental calculus, root surface caries에서 잘 자라며, hamster에서 치주질환을 일으키고 전염된다. 또한 sucrose를 분해하여 levan을 형성한다²³⁻²⁵). Hoshino 등³⁹)은 깊은 상아질 치아우식증이 있는 19개의 발거된 치아중 임상검사와 전기치수검사시 치수노출 없는, 즉 치아우식증하에 건강치질로 덮여 있는 9개의 경우를 혐기적으로 처리해 세균검사를 한 결과, 이들 9 경우중 6개의 치아에서 치수에 세균침입이 있는 것이 발견되었으며, 주지배 세균은 절대혐기세균으로 *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Actinomyces* 속이었고, 다른 절대혐기세균으로는 *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Streptococcus* 이었다. 또한 세균분포가 깊은

상아질 치아우식증 부위와 유사한 것으로 보아 상아세관을 통해 치수로 침투한 듯하다고 보고하였다.

항생제의 종류선정은 peptidoglycan의 합성을 억제해 세포벽생성을 억제하는 Ampicillin, Vancomycin, 30S ribosomal subunit에 작용해 단백질합성을 억제하는 Tetracycline, 50S ribosomal subunit에 작용해 단백질합성을 억제하는 Erythromycin, Clindamycin 등으로 하였다²³⁾. Ampicillin은 Gram 음성균에 잘 들으며, Clindamycin은 streptococcus, staphylococci, pneumococci와 기타 gram 양성균에 잘 듣는다. 특히 penicillin에 저항성이 있는 균이나 penicillin에 예민한 환자에서 구강수술전에 예방적으로 사용한다. Erythromycin은 bacteriostatics로 beta hemolytic streptococci, pneumococci, staphylococci 등에 잘 듣는다^{22, 25)}. Tetracycline에 대한 저항성이 생기는 것은 세균내에서 억제농도에 도달하지 못하기 때문인데, plasmid-encoded process로 약물의 흡수를 줄이고, 세균의 방출을 증강시키기 때문이며, Erythromycin에 대한 저항성이 생기는 것은 plasmid-encoded enzyme이 23S rRNA를 methylate해 약물 결합을 방해하기 때문이다²³⁾.

항생제의 항균력 실험에서 disc의 직경이 6mm이므로 측정치가 6mm인 경우는 감수성이 전혀 없는 것인데, *Prevotella intermedia* (구 *Bacteroides intermedius*)에 대해서 Ampicillin 이 7.87 ± 0.83 으로 미약한 inhibition zone을 나타낸 이외의 모든 경우에서 항생제의 항균력이 나타났다.

Bacteroides genus중 *B. fragilis*는 β -lactamase 생성으로 penicillin에 저항성이 있어 Clindamycin이 좋은 것으로 되어 있고, cefoxitin, metronidazole, chloramphenicol등도 사용한다. 이에 비해 *B. melaninogenicus*는 penicillin G가 좋은 것으로 되어 있다²³⁾. 한편 Yoon 등⁴⁰⁾은 Clindamycin, Tetracycline, Erythromycin, Ampicillin, Vancomycin 등 5종 항생제의 *B. gingivalis*에 대한 항균효과를 원판확산법으로 관찰하여 5종 모두 항균효과가 있고, Clindamycin과 Tetracycline 이 가장 효과가 크다고 보고하였다.

본 실험에 사용된 세균 *Prevotella intermedia* (구 *Bacteroides intermedius*)에 대해서는 Erythromycin이 가장 큰 inhibition zone을 나타내었고, Tetracycline, Clindamycin, Vancomycin 은 거의 유사

한 inhibition zone을 나타내었으며, Ampicillin이 가장 적은 inhibition zone을 나타내었다.

Actinomyces genus중 Actinomycosis를 일으키는 *Actinomyces israelii*는 penicillin G가 좋은 것으로 되어 있는데²³⁾, 본 실험에서 사용된 *Actinomyces viscosus*에 대해서는 Erythromycin이 가장 큰 inhibition zone을 나타내었고, Ampicillin, Clindamycin, Vancomycin 은 거의 유사한 inhibition zone을 나타내었으며, Tetracycline이 가장 적은 inhibition zone을 나타내었다.

*Fusobacterium nucleatum*에 대해서는 Ampicillin이 가장 큰 inhibition zone을 나타내었고, Erythromycin이 유사한 수준이었으며, 다음이 Clindamycin, Vancomycin, Tetracycline순으로 inhibition zone 직경이 감소하였다.

본 실험에 사용된 근관충전 세멘트들은 주변에 가장 흔히 쓰이는 Zinc oxide eugenol cement, Zinc phosphate cement와 Calcium hydroxide제재로서 Calcium hydroxide powder+D. D. W., Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal), Vitapex 등 3가지, 도합 5가지를 사용하였다.

근관충전 세멘트는 근관을 물리적으로 폐쇄시키는 효과 외에 감염된 근관을 확대한 후에도 잔존가능한 세균에 대한 항균력이 기대되며 또한 충전된 근관을 멸균상태로 유지시킬 수 있는 효과가 있어야 한다고 보고하고 있다⁴¹⁻⁴³⁾. 근관충전 세멘트의 항균력 실험에서 tube의 외경이 4mm이므로 측정치가 4mm인 경우는 감수성이 전혀 없는 것인데, 본 실험에 사용된 세균 *Prevotella intermedia* (구 *Bacteroides intermedius*)에 대해서는 Zinc oxide eugenol cement이 13.67mm로 가장 항균력이 강했고, Vitapex가 9.20mm로 다음순이었으며, Zinc phosphate cement는 6.13mm로 약간의 항균력을 보였으며, Calcium hydroxide powder+D. D. W., Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal)는 전혀 항균력을 보이지 않았다.

*Actinomyces viscosus*에 대해서는 Zinc oxide eugenol cement이 17.40mm로 가장 항균력이 강했고, Vitapex가 8.80mm로 다음순이었으며, Zinc phosphate cement, Calcium hydroxide powder+D. D. W., Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal)는 전혀 항균력을 보이지 않았다.

V. 결 론

*Fusobacterium nucleatum*에 대해서는 Vitapex가 42.33mm로 가장 항균력이 강했고, Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal)가 14.77mm로 다음순이었으며, Zinc oxide eugenol cement이 8.93 mm, Zinc phosphate cement가 8.20mm로 항균력을 보였고, Calcium hydroxide powder+D. D. W.는 5.53mm로 약간의 항균력을 보였다. 그런데 Zinc oxide eugenol cement와 Zinc phosphate cement에 대해서는 각각 15개의 표본중 2개에서, Calcium hydroxide powder+D. D. W.에 대해서는 15개의 표본중 8개에서 inhibition zone이 나타나지 않았다.

최근 근관치료에서 수산화칼슘 약재의 사용을 권장하는 논문이 많은 편인데 Milosevic⁴⁴⁾은 Mueller-Hinton 성장배지를 이용해, 4종의 상품화된 수산화칼슘 세멘트의 *Streptococcus sanguis* NCTC 7864에 대한 항균효과를 평가하였는데, Optical density analysis를 통한 성장곡선, pH 측정, viability count를 24시간 이상 비교한 결과 pH 측정에서는 $P < 0.05$ 의 유의한 차가 발견되었으나, 성장곡선과 viability count에서는 유의한 차이가 없었으며, 모든 세멘트는 cidal effect가 있었는데 단지 알칼리성의 증가때문만은 아니라고 주장하였다. 또 Safavi 등⁴⁵⁾은 bacterial LPS에 Calcium hydroxide를 작용시켜 LPS의 지질을 가수분해하여 free hydroxy fatty acid를 생성하는 것으로 보아, Calcium hydroxide를 근처에 사용해 LPS를 Calcium hydroxide-degradation 시켜 골흡수 양상을 치유시킬 수 있다고 주장하였다. Gutmann 등⁴⁶⁾은 일단 Calcium hydroxide로 근침화술식이 행해진 거대병소 case에서 재오염이 된 상태에서도 치유기전이 일어난 증례를 보고하고, Calcium hydroxide가 일단 상피세포를 파괴하고 치유기전에 시동을 걸은 것이 아닌가 추측하였다. 국내에서는 권 등²⁶⁾이 1987년 *Streptococcus sanguis*에 대한 근관 충전 세멘트의 항균효과를 본 것이 있으며 혐기성 세균으로는 1989년 Yoon 등⁴⁷⁾이 *B. gingivalis* 1종에 대하여 근관충전 세멘트의 항균효과를 관찰하여 Vitapex, N2, PCA, ZOE 순으로 항균력을 보였으며, 수산화칼슘은 전혀 항균력을 보이지 않았다고 보고하였다.

Prevotella intermedia(구 *Bacteroides intermedius*) ATCC 25611(serotype A), *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Actinomyces viscosus* ATCC 15987 등 3종의 실험대상균에 대한 5가지의 항생제 Tetracycline, Erythromycin, Ampicillin, Clindamycin, Vancomycin 등의 항균효과를 측정하기 위하여 원판확산법(Fig. 2)을 시행하고, 5종의 근관 충전 세멘트 Zinc oxide eugenol cement, Zinc phosphate cement, Calcium hydroxide powder+D. D. W., Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal), Vitapex 등(Table 1)의 항균효과를 측정하기 위하여 원통확산법(Fig. 3)으로 감수성 검사실험을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 항생제 실험 결과(Table 2)

- 1) 모든 사용 항생제가 각 실험 대상균에 대해 정도의 차이는 있으나 모두 항균력을 가지고 있었다.
- 2) 본 실험에 사용된 세균 *Prevotella intermedia* (구 *Bacteroides intermedius*)에 대해서는 Erythromycin이 가장 큰 inhibition zone을 나타내었고, 다음으로 Tetracycline, Vancomycin, Clindamycin 순으로 inhibition zone을 나타내었으며, Ampicillin이 가장 적은 inhibition zone을 나타내었다.
- 3) *Actinomyces viscosus*에 대해서는 Erythromycin이 가장 큰 inhibition zone을 나타내었고, Ampicillin, Clindamycin은 거의 유사한 정도의 inhibition zone을 나타내었으며, 다음으로 Vancomycin이고, Tetracycline이 가장 적은 inhibition zone을 나타내었다.
- 4) *Fusobacterium nucleatum*에 대해서는 Ampicillin이 가장 큰 inhibition zone을 나타내었고, Erythromycin이 유사한 수준이었으며, 다음이 Clindamycin, Vancomycin, Tetracycline 순으로 inhibition zone 적경이 감소하였다.

2. 근관 충전 세멘트 실험결과(Table 3)

- 1) 근관충전 세멘트의 항균력 실험에서 tube의 의경이 4mm이므로 측정치가 4mm인 경우는

감수성이 전혀 없는 것인데 본 실험에 사용된 세균 *Prevotella intermedia* (구 *Bacteroides intermedius*)에 대해서는 Calcium hydroxide powder+D. D. W., Calcium hydroxide paste (Pulpdent Tempcanal) 는 전혀 항균력을 보이지 않았으며, *Actinomyces viscosus*에 대해서는 Zinc phosphate cement, Calcium hydroxide powder+D. D. W., Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal)이 전혀 항균력을 보이지 않았다.

- 2) *Prevotella intermedia* (구 *Bacteroides intermedius*)에 대해서는 Zinc oxide eugenol cement이 13.67mm로 가장 항균력이 강했고, Vitapex가 9.20mm로 다음순이었으며, Zinc phosphate cement는 6.13mm로 약간의 항균력을 보였다.
- 3) *Actinomyces viscosus*에 대해서는 Zinc oxide eugenol cement이 17.40mm로 가장 항균력이 강했고, Vitapex가 8.80mm로 다음순이었다.
- 4) *Fusobacterium nucleatum*에 대해서는 Vitapex가 42.33mm로 가장 항균력이 강했고, Calcium hydroxide paste(Pulpdent Tempcanal)가 14.47mm로 다음순이었으며, Zinc oxide eugenol cement이 8.93mm, Zinc phosphate cement가 8.20mm로 항균력을 보였고, Calcium hydroxide powder+D. D. W.는 5.53mm로 약간의 항균력을 보였다. 그런데 Zinc oxide eugenol cement와 Zinc phosphate cement에 대해서는 각각 15개의 표본중 2개에서, Calcium hydroxide powder+D. D. W.에 대해서는 15개의 표본중 8개에서 inhibition zone이 나타나지 않았다.

References

1. Morse, D. R. : The endodontic culture technique, Dent Clin Nor Am. 15 : 793, 1971.
2. Ingle, J. I. and Beveridge, E. E. : Endodontics, 3rd ed. Philadelphia, 1985, Lea & Febiger
3. Cohen, S. and Burns, R. C. : Pathways of the pulp, 4th ed. St Louis, 1987, The C. V. Mosby Co.

4. Weine, F. S. : Endodontic therapy, 4th ed. St Louis, 1989, The C. V. Mosby Co.
5. Sundqvist, G. : Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Umea University Odontological Dissertations. no. 7, Umea, Sweden, 1976.
6. Attebery, H. R. : An acute anaerobic infection following endodontic treatment, J Endod 6(10) : 793, 1980.
7. Kannagara, D. W., et al. : Bacteriology and Treatment of Dental Infections. Oral Surg. 50 (2) : 103, 1980.
8. Brook, I. : Bacteriology of acute Periapical abscess in children. J Endod 7(8) : 378, 1981.
9. van Winkelhoff, A. J., Carlee, A. W., and de Graaff, J. : *Bacteroides endodontalis* and other black pigmented *Bacteroides* species in odontogenic abscesses, Inf & Imm 49 : 494, 1985.
10. Wadsworth : Anaerobic Bacteriologic Manual, Dept. of Continuing Education in Health Science : UCLA USA, P1-53, 1975.
11. Fabricius, L., Dahlen, G., Öhman, A. E. and Möller, A. J. R. : Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure, J Dent Res, 90 : 134, 1982.
12. van Winkelhoff, A. J. : Further characterization of *Bacteroides endodontalis*, an asaccharolytic black-pigmented *Bacteroides* species from the oral cavity, J Clin Microbiol, 22(1) : 75, 1985.
13. Yoshida, M et al : Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals with periapical pathosis, J Endod 13 : 24, 1987.
14. van Winkelhoff, A. J. : The role of black-pigmented *Bacteroides* in human oral infections, J Clin Perio, 15 : 145, 1988.
15. McDonald, J. B. : Aspects of the Pathogenesis of mixed anaerobic infections of mucous membranes, J Dent Res 42 : 529, 1963.
16. Sundqvist, G. K. : Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce puru-

- lent infections, *Inf & Imm* 25 : 685, 1979.
17. Griffee, M. B., Patterson, S. S., Miller, C. H., et al : The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis, *Oral Surg* 50 : 457, 1980.
 18. Mayrand, D. and McBride, B. C. : Ecological relationships of bacteria involved in a simple, mixed anaerobic infection, *Inf & Imm* 27(1) : 44, 1980.
 19. van Steenberg, T. V. M., et al : *Bacteroides endodontalis* sp. nov., an asaccharolytic black-pigmented *Bacteroides* species from infected dental root canals, *Int J Syst Bacteriol* 34 : 118, 1984.
 20. Baumgartner, J. C. and Falkler, Jr. : Bacteria in the apical 5mm of infected root canals, *J Endod* 17(8) : 380, 1991.
 21. Bystrom, A. : Evaluation of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis, Umea University Odontological Dissertations 27 : 5, 1986.
 22. Tortora, G. J., Funke, B. R. and Case, C. L. : *Microbiology : an introduction*, 3rd ed. Redwood City, 1989, The Benjamin/Cummings Publishing Co.
 23. Levinson, W. E. and Jawetz, E. : *Medical microbiology & Immunology*, 2nd ed. New Jersey, 1992, Prentice-Hall International Inc.
 24. Levett, P. N. : *Anaerobic microbiology : a practical approach*, New York, 1991, Oxford University Press
 25. Burnett, G. W., Scherp, H. W. and Schuster, G. S. : *Oral microbiology & infectious disease*, 4th ed., Baltimore, 1976, The Williams & Wilkins Co.
 26. Kwon, O. Y. and Yoon, S. H. : Antimicrobial effect of root canal cements on streptococcus sanguis, *J Korean Academy of Conservative Dentistry* 12(1) : 77, 1986.
 27. Brook, I., Grimm, S. and Kielich, R. B. : Bacteriology of acute periapical abscess in children, *J Endod* 7 : 378, 1981.
 28. Williams, B. L. McCann, G. F. and Schoenknecht, F. D. : Bacteriology of dental abscesses of endodontic origin, *J Clin Microbiol* 18 : 770, 1983.
 29. Pantera, Jr. E. A., Zambon, J. J. and Levine, M. S. : Indirect immunofluorescence for the detection of *Bacteroides* species in human dental pulp, *J Endod* 14(5) : 218, 1988.
 30. Finegold, S. M. : *Anaerobic bacteria in human disease*, New York, 1977, Academic Press.
 31. Hausmann, E., Raisz, L. G. and Miller, W. A. : Endotoxin : stimulation of bone resorption in tissue culture, *Science* 168 : 862, 1970.
 32. Sveen, K. and Skaug, N. : Bone resorption stimulated by lipopolysaccharides from *Bacteroides*, *Fusobacterium*, and *Veillonella*, and by the lipid and the polysaccharide part of *Fusobacterium* lipopolysaccharide, *Scand J Dent Res* 88 : 535, 1980.
 33. Ingham, N. R. et al : Phagocytosis and killing of bacteria in aerobic and anaerobic conditions, *J Med Microbiol* 14 : 391, 1981.
 34. Mergenhagen, S. E., Hampp, E. G. and Scherp, H. W. : Preparation and biological activities of endotoxins from oral bacteria, *J Infect Dis* 108 : 304, 1961.
 35. Hausmann, E. and Kaufman, E. : Collagenase activity in a particulate fraction from *Bacteroides melaninogenicus*, *Biochem Biophys Acta* 194 : 612, 1969.
 36. Sundqvist, G. : Ecology of the root canal Flora, *J Endod* 18(9) : 427, 1992.
 37. Schah, H. and Collin M.D. : Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromonas*, *Int J Syst Bacteriol* 38 : 128, 1988.
 38. van Winkelhoff, A. J., van Steenberg, T. J. M. and de Graff, J. : *Porphyromonas* (*Bacteroides*) *endodontalis* : Its role in endodontal infection, *J Endod* 18(9) : 431, 1992.
 39. Hoshino, E., Ando, N., Sato, M. and Kota, K.

- : Bacterial invasion of non-exposed dental pulp, *Int Endod J* 25 : 2, 1992.
40. Yoon, S. H. and Kim, M. K. : Antimicrobial effect of antibiotics on bacteroides gingivalis, *J Korean Academy of Conservative Dentistry* 15 (1) : 16, 1990.
 41. Stewart, G. G. : The importance of chemomechanical preparation of the root canal, *Oral Surg* 8 : 993, 1955.
 42. Seltzer, S. and Bender, I. : Factors affecting successful repair after root canal therapy, *JADA* 67 : 651, 1963.
 43. Grossman L I, Oliet S, Del Rio C E. *Endodontic Practice* 11th ed. Philadelphia, 1988, Lea & Febiger.
 44. Milosevic, A. : In vitro antimicrobial activity of calcium hydroxide cements on *Streptococcus sanguis* NCTC 7864, *Int Endod J* 26 : 106, 1993.
 45. Safavi, K. E. and Nichols, F. C. : Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide, *J Endod* 19(2) : 76, 1993.
 46. Gutmann, J. L. and Fava, L. R. G. : Periradicular healing and apical closure of a non-vital tooth in the presence of bacterial contamination, *Int Endod J* 25 : 307, 1992.
 47. Yoon, S. H. and Kim, M. K. : Antimicrobial effect of root canal cements on bacteroides gingivalis, *J Dental College, Seoul National University* 13(2) : 1, 1989.