

2006년 2월
박사학위논문

감염근관에서 분리 배양한 세균의 수종
항생제에 대한 감수성 조사

조선대학교 대학원

치의학과

임 상 수

감염근관에서 분리 배양한 세균의 수종
항생제에 대한 감수성 조사

*Antibiotic susceptibility in bacteria isolated from
infected root canals*

2006년 2월 일

조선대학교 대학원

치의학과

임 상 수

*Antibiotic susceptibility in bacteria isolated from
infected root canals*

지도교수 황 호 길

이 논문을 박사학위신청 논문으로 제출함

2005년 10월 일

조선대학교 대학원

치의학과

임 상 수

임상수의 박사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교 수 조 영 곤 인

위 원 연세대학교 교 수 강 인 철 인

위 원 연세대학교 교 수 이 승 종 인

위 원 조선대학교 교 수 국 중 기 인

위 원 조선대학교 교 수 황 호 길 인

2005년 12월 일

조선대학교 대학원

목 차

표목차 -----	ii
영문초록 -----	iii
I. 서론 -----	1
II. 연구 재료 및 방법 -----	3
III. 연구결과 -----	9
IV. 총괄 및 고안 -----	22
V. 결론 -----	25
참고문헌 -----	26

표 목 차

Table 1. The bacterial strains isolated in this study -----	7
Table 2. Interpretive standards for dilution susceptibility testing -----	8
Table 3. Identification of bacteria isolated from the samples at the species level -----	11
Table 4 Minimal inhibitory concentration of several antibiotics for species isolated . from the endodontic infection -----	18

ABSTRACT

Antibiotic susceptibility in bacteria isolated from infected root canals

Lim, Sang-Soo, D.D.S., M.S.D.

Advisor : Prof. Hwang, Ho-Keel, D.D.S., M.S.D., Ph. D.

Department of Dentistry,

Graduate School of Chosun University

The aim of this study was to identify the bacteria isolated from endodontic lesions by cell culture and to determine the antimicrobial susceptibility of them against 8 antibiotics. The necrotic pulpal tissues were collected from 27 infected root canals, which were diagnosed as endodontic infection. Samples were collected aseptically from the infected pulpal tissue of the infected root canals using a barbed broach and a paper point. The cut barbed broaches and paper points were transferred to an eppendorf tube containing 500 μ l of 1 X PBS. The sample solution was briefly mixed and plated onto a BHI-agar plate containing 5% sheep blood. The agar plates were incubated in a 37°C anaerobic chamber for 2 to 5 days. The bacteria grown on the agar plates were identified by comparison of 16S rRNA gene (rDNA) sequencing method at the species level. To test the sensitivity of the bacteria isolated from the infected root canals against 8 antibiotics, minimum inhibitory concentrations (MIC) were determined using broth dilution assay. The data showed that 101 bacterial strains were isolated and were identified. *Streptococcus* spp. (29.7%) and *Actinomyces* spp. (21.8%) were predominantly isolated. The 9 strains were excluded in antimicrobial susceptibility test because they were lost during the experiment or were not grown in broth culture. The

percentage of bacteria susceptible for each antibiotic in this study was clindamycin, 87.0 % (80 of 92); tetracycline, 75.0% (69 of 92); cefuroxime axetil, 75.0% (69 of 92); amoxicillin + clavulanic acid (5:1), 71.7% (66 of 92); penicillin G, 66.3% (61 of 92); erythromycin, 66.3% (61 of 92); amoxicillin, 44.6% (41 of 92); and ciprofloxacin, 31.5% (29 of 92). The susceptibility pattern of 8 antibiotics was dependent on the host of the bacteria strains rather than the kinds of bacterial species. These results indicate that antibiotic susceptibility test should be performed when antibiotics are needed for the treatment of infected root canals. The combined treatment of two or more antibiotics may be better than single antibiotic treatment for the case of multidrug-resistant bacteria in the infected root canals.

I. 서론

치수(dental pulp)의 염증은 외상이나 치아우식증과 같은 세균 감염에 의해 발생할 수 있다. 치수가 외상과 같은 외부자극에 의해 염증을 일으킬 경우에는 자극원을 제거해 줌으로써 병소 부위가 치유가 될 수 있고, 치근단 치주조직의 구조가 재형성됨이 보고 되었다(Andreasen, 1986). 하지만, 세균성 염증일 경우에는 치수조직이 괴사가 되고 치근단 치주염 또는 치근단 낭종 등이 발생된다. 치수에 세균이 감염되는 경로는 크게 두 가지로 나눌 수 있다(Nair, 2004; Solomon et al., 1995). 첫 번째는 치아우식증, 외상에 의한 치아의 파절이나 균열 발생 등의 치아 경조직이 파괴되거나 치근부 백악질의 소실에 의한 상아세관의 노출에 의해 구강 내 세균이 감염되는 경로이다. 두 번째는 치주질환이 발생되어 치은낭이나 치주낭에 존재하는 세균이 치근단으로 이동하여 치수로 감염되는 경로이다.

치근관 감염 질환의 병인론에 있어서 중요한 원인인자가 세균임이 동물실험에 의해 밝혀졌다(Kakehashi et al., 1965). 혐기성 세균이 치근관 감염(endodontic infection, endodontitis)의 발생에 있어서 중요한 역할을 함이 보고 되었다(Bergenholtz, 1974; Kantz and Henry, 1974; Wittgow and Sabiston, 1975). 구강 내에는 약 500여 종의 세균이 존재하지만(Paster et al., 2001), 치근관 감염 병소에서 세균 배양법에 분리 동정된 균종은 상대적으로 매우 적은 편이다(Le Goff et al., 1997; Sundqvist, 1994; Lee et al., 2005). 이러한 이유 중 하나가 현재의 세균 배양 기술로는 구강 내 세균 중 중 약 50% 정도 배양이 가능하다는 것이다(Paster et al., 2001; Munson et al., 2002). 이러한 세균 배양법의 단점을 극복하기 위해 분자생물학적 방법을 이용하여 치근관 감염 질환 병소에서 세균 종을 검출하는 연구가 시도되었다(Munson et al., 2002). 분자생물학적 방법만을 이용하여 치근관 감염 병소에서 세균 종을 검출할 경우, 치근관 질환의 발생 및 진행에 중요한 역할을 하는 세균 종의 생리학적 특성, 독력 인자 검출 및 세균-숙주 상호작용 등의 병인론 연구에 이용할 세균 균주를 얻을 수 없다는 단점이 있다. 그러므로 치근관 감염질환의 병인론 연구에 이용할 세균을 얻기 위해서는 세균배양법이 필요하다.

급성 치근관 감염질환의 경우 치근단 부위의 골과 연조직까지 진행되어 치근단 농양이나 봉와직염이 발생할 수 있기 때문에 항생제가 치료 보조제로 자주 이용된다. 이러한 경우 임상적인 경험이나 학회지에 보고된 급성 치근관 감염질환 병소에서 분리 배양된 세균의 항생제 감수성 검사 결과를 참조하여 항생제를 처방한다. 하지만, 한국인의 치근관 질환 병소에서 세균 분리, 동정 및 항생제 감수성 검사에 관한 연구가 미미하기 때문에 항생제 처방시 외국의 연구 결과물을 참조하여 처방하는 경우가 많다. 또한, 항생제 내성 균주는 세균 종 및 서식하고 있는 숙주에 따라 결정되기 때문에 항생제 처방과 동시에 병소에서 세균 종을 분리 배양하고 수종 항생제에 감수성 검사를 실시하는 것이 필요하다.

그러므로 본 연구에서는 한국인의 치근관 감염 병소에서 세균을 분리 및 동정하여, 임상적으로 빈번히 사용되고 있는 8종 항생제에 대한 감수성을 조사하고자 시행하였다.

II. 연구재료 및 방법

II-1. 샘플 채취 및 세균배양

조선대학교 부속 치과병원에 근관치료를 위해 내원한 환자 중 항생제를 복용하거나 근관치료를 받던 사람을 제외한 27명 환자로부터 27개의 감염된 치아를 연구 대상으로 하였다. 샘플링을 할 치아들을 러버댐으로 격리하고, 치관부를 3% 과산화수소, 5% iodine으로 1분간 소독하고, 5% Sodium thiosulfate로 치면의 iodine을 불활성화시킨 다음 근관을 개방하고, 치관부 치수를 무균적으로 제거한 다음, 바비드 브로치 또는 페이퍼 포인트를 이용하여 근관 내 내용물을 채취하고 1 ml의 1X PBS에 담아 혐기성 세균배양실로 즉시 옮겼다. 채취한 샘플들은 1,000배 희석한 다음 3% Tryptic soy broth, 0.5% Yeast extract, 0.05% Cysteine HCl, 1.5% Bacto-agar, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ hemin, 및 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ vitamin K₁이 함유된 고형배지에 도말하여 85% N₂, 5% H₂, 10% CO₂의 혼합가스가 공급되는 37°C anaerobic chamber(Model Bactron I, Sheldon Manufacturing Inc., Cornelius, OR, USA)에서 2-5일 동안 배양하였다. 이 때 성장하는 세균 군락의 모양, 색깔, 크기 등을 고려하여 서로 다른 것을 각각 채취하고 Tryptic soy 액체 배지에 배양하여 다음 실험에 사용하였다.

II-2. 세균 유전체 DNA의 추출

앞에서 한천배지에서 배양된 세균 집락을 5 ml의 액체배지에 접종하여 혐기성 배양기에서 1-2일 간 배양하였다. 세균 배양액 3 ml를 7,000 × g 의 원심력을 이용하여 수확하고, 이를 G-spinTM Genomic DNA Extraction Kit(iNtRON Co., Seoul, Korea)를 이용하여 세균 유전체 DNA를 추출하였다. 세균을 수확한 다음 50 μl 의 전배양 용액과 3 μl 의 라이소자임 용액을 넣고 잘 혼합한 다음 37°C에서 1시간 동안 배양하였다. 여기에 250 μl 의 G-완충액 용액을 넣고 잘 혼합한 다음 65°C에서 15분간 반응시키고, 250 μl 의 결합 용액을 넣고 교반기를 이용하여 잘 섞어주었다. 이러한 세포 용해질을 G-spinTM column에 넣고 13,000 rpm에서 1분간 원심분리하였다. G-spinTM column에 500 μl 의 세척 완충액 A를 넣고 다시 1분간 원심분리하였다. 여기에 500 μl 의 세척 완충액 B를 넣고 다시 1분간 원심분리하고, G-spinTM column을 eppendorf tube에 넣어

100 μ l의 용출 완충액을 넣고 1분간 실온에 방치한 다음, 미량원심분리기에서 7,000 $\times g$ 의 원심력을 이용하여 1분간 원심분리하였다.

II-3. PCR을 이용한 16S rDNA의 증폭 및 클로닝

16S rDNA를 증폭할 수 있는 universal PCR 프라이머 쌍(27F와 1492R, Lane et al., 1985), *AccuPower*[®] Premix(Bioneer Corp.)와 PTC-200 PCR machine(MJ Research Inc., Watertown, MA, USA)을 이용하여 16S rDNA를 증폭하였다. 이때 PCR의 조건은 다음과 같이 시행하였다. PCR 반응 혼합용액이 20 μ l가 되도록, 20 pmoles 씩의 27F 및 1492R 프라이머와 100 pg의 세균 유전체 DNA를 넣고 94 $^{\circ}$ C에서 2분간 초기 변성을 실시한 다음 94 $^{\circ}$ C에서 1분간 변성, 55 $^{\circ}$ C에서 1분간 결합반응, 72 $^{\circ}$ C에서 1분간 합성반응을 30회 반복 진행시킨 후, 최종 합성 반응을 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 진행시켰다. PCR이 끝난 후 20 μ l의 반응물 중 2 μ l를 Tris-acetate buffer(0.04 M Tris-acetate, 0.001 M EDTA, [pH8.0])를 전해질로 사용하고 1.5% 아가로스 젤을 매질로 이용해서 100 V에서 30분간 전기영동하였다. 증폭물은 ethidium bromide로 염색하여 UV transilluminator로 발색시켜 증폭 여부를 확인하였다.

앞에서 증폭한 16S rDNA를 pGEM-T easy vector(Promega Corp., Madison, WI, USA)를 이용하여 클로닝하였다.

II-4. 플라스미드 DNA 추출

E. coli DH5 α 에 transformation시킨 각각의 재조합된 플라스미드 DNA는 *AccuPrep*TM Plasmid Extraction Kit(Bioneer Corp., Daejeon, Korea)를 이용하여 제조 회사의 지시대로 추출하였다. 이를 간략히 설명하면, 세균배양액 1 ml를 30초간 원심 분리(12,000 $\times g$)하고, 얻어진 세균 덩어리를 250 μ l의 현탁 완충액을 넣고 잘 풀어준 다음, 250 μ l 세포 용해 완충액을 첨가하여 천천히 잘 혼합하여, 350 μ l의 중화 완충액을 첨가한 즉시 철저히 부드럽게 잘 섞은 후에 얼음에 5분간 방치하였다. 이것을 10분간 원심분리(10,000 $\times g$)하여 상청액을 결합 기둥 튜브에 옮기고, 1분간 원심분리(10,000 $\times g$)하였다. 여과액은 버리고, 결합 기둥 튜브에 700 μ l의 세척 용액(80% 에탄

을)을 넣은 후 1분간 원심분리(10,000 × g)하였다. 결합 기둥 튜브에 남아있을 여분의 에탄올을 제거하기 위해 여과액을 버리고, 다시 303분간 원심분리(10,000 × g) 하였다. 결합 기둥을 새로운 튜브로 옮기고, 여기에 100 μl의 용출 완충액을 넣고 1분간 기다린 다음, 다시 1분간 원심분리(10,000 × g)하여 여과액을 -70℃에서 보관하고 핵산염기서열 결정에 사용하였다.

II-5. 핵산염기서열 결정 및 핵산염기서열의 상동성 검색

핵산염기서열 결정은 바이오니아사(Bioneer Corp.)에 의뢰하여 결정하였다. 이때 사용한 핵산염기서열 결정용 프라이머는 ChDC-GEM-F(5'-TTC CCA GTC ACG ACG TTG TAA AA-3'), Seq-F1(5'-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3'), Seq-R2(5'-GAC TAC CAG GGT ATC TAA TCC-3'), Seq-F16(5'-TAG ATA CCC YGG TAG TCC-3'), 및 ChDC-GEM-R(5'-GTG TGG AAT TGT GAG CGG ATA AC-3')를 이용하였으며, 그 결과는 SeqMan 프로그램(Version 5.00; DNASTAR, Inc., Madison, WI, USA)을 이용하여 분석하였다.

위에서 결정된 핵산염기서열을 미국립보건원에서 제공하는 Blastn 프로그램을 이용하여 상동성을 검색하고, 그 결과 98% 이상 상동성을 보이는 경우를 표준균주의 종(species)과 같은 종이라고 판정하였다.

II-6. 항생제 감수성 실험

Penicillin G(페니실린 G), amoxicillin(아목시실린), tetracycline(테트라사이클린), erythromycin(에리트로마이신) 및 clindamycin(클린다마이신)은 씨그마사(Sigma, St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 또한, Augmentin®(amoxycillin + clavulanic acid, 5:1)(오그멘틴)은 SmithKline Beecham 사(Brentford, UK), ciprofloxacin(시플록사신)은 삼천당제약회사(Seoul, Korea) 그리고, Cefuroxime axetil(세프록심 아세틸, 세프록심)은 대웅제약회사(Seoul, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 여러 항생제에 대한 최소성장억제농도(minimum inhibitory concentration; MIC)는 Murry와 Jorgensen(1981)의 방법에 따라 액체 배지 희석법으로 측정하였다. 이를 간략

히 설명하면, 각각의 항생제의 농도가 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 씩 되도록 조절된 0.1 ml의 액체배지에, 450 nm의 파장에 대한 흡광도(A_{450})가 0.05로 일정하게 현탁된 세균배양액을 각각 0.1 ml씩 접종하고, 이를 각각의 세균에 최적의 성장 조건에서 48시간 배양한 후 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정 한 결과 음성대조군인 세균을 넣지 않은 배지의 흡광도 값과 비교하여 ± 0.050 인 값을 갖는 항생제 농도를 MIC 값으로 결정하였다. 감수성 여부 농도는 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)에서 권고한 해석 표준에 따랐다(Table 1, National Committee for Clinical Laboratory standards, 2000, 2001).

Table 1. Interpretive standards for dilution susceptibility testing (NCCL, 1997, 1999)

Antibiotics	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Penicillin G, amoxicillin *			
Anaerobes	≤ 0.5	1	≥ 2
Staphylococci	≤ 0.12	-	≥ 0.25
Streptococci	≤ 0.12	0.25-2	≥ 4
Enterococci	≤ 8	-	≥ 16
Amoxicillin + clavulanic acid			≥ 4
Anaerobes	≤ 4	8	≥ 16
Staphylococci	≤ 4	-	≥ 8
Other aerobes	≤ 8	16	≥ 32
Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16
Ciprofloxacin	≤ 1	2	≥ 4
Erythromycin	≤ 0.5	1-4	≥ 8
Clindamycin			
Anaerobes	≤ 2	4	≥ 8
Aerobes	≤ 0.5	1-2	≥ 4
Cefuroxime axetil	≤ 1	2	≥ 4

*Amoxicillin is considered to have an MIC similar to ampicillin.

III. 연구결과

III-1. 치근관 병소에서 세균 분리 및 동정

본 연구 결과 27명의 치근관 감염 질환 병소에서 세균을 배양한 결과 101 균주를 얻었다(Table 2). 한 샘플 당 평균 3.7개의 균주가 검출되었으며 적게는 1 균주에서 많게는 12균주가 검출되었다. 이들 균주들의 16S rDNA를 클로닝한 다음, 염기서열 비교법을 이용하여 종 수준에서 동정한 결과, 연쇄상구균(29.7%)과 *Actinomyces* spp.(21.8%) 균주들이 가장 많이 검출되었다(Table 3). 연쇄상구균들 중 *mitis* 균 연쇄상구균, *salivarius* 균 연쇄상구균, 및 *anginosus* 균 연쇄상구균 중 *S. constellatus*와 *S. intermedia*는 16S rDNA 염기서열로 동정이 어려웠다(Table 3 & 4). 또한 *A. naeslundii*와 *A. viscosus*, *P. cyclohexanicum*과 *P. freudenreichii*, *P. propionicus*와 *P. avidum*, *S. pasteurii*와 *S. warneri*, *C. sporogenes*와 *C. botulinum* 들도 본 연구에서는 구별할 수 없었다(Table 3 & 4). 93/94번 샘플은 한 환자의 한 치아에서 barbed broach와 paper point를 이용하여 두 번 샘플링을 한 것이다.

Actinomyces naeslundii/viscosus 종과 *mitis* 균 연쇄상구균이 7개(25.9%) 샘플에서 가장 빈번하게 검출되었다(Table 2 & 3).

III-2. 분리 및 동정된 균주들의 8종 항생제에 대한 MIC 값

본 연구에서 분리된 균주들의 8종 항생제에 대한 MIC 값은 Table 5에 정리하였다. 분리된 101 균주 중 9 균주는 계대 배양 중 소실(ChDC B634와 ChDC B744)되거나 한천배지에서는 자라나지만, 액체배지에서는 배양이 되지 않아서(ChDC B632, ChDC B633, ChDC B647, ChDC B700, ChDC B708, ChDC B750, ChDC B751) 항생제 감수성 실험을 하지 못하였다. 분리된 균주들 중 80(87.0 %) 균주가 클린다마이신에 감수성을 보였으며, 세프록심 아세틸과 테트라사이클린에 69(75.0%)가, 오그멘틴에 66(71.7%) 균주가, 페니실린 G에 63(68.5%) 균주가, 에리트로마이신에 61(66.3%) 균주가, 아목시실린에 41(44.6%) 균주가 감수성을 보였다. 하지만 시플록사신에는 29(31.5%) 균주만이 감수성을 보였다(Table 5).

Table 2. The bacterial strains isolated in this study

Sample No.	Clinical isolates
81	5 ChDC B631*, ChDC B632*, ChDC B633*, ChDC B634*, ChDC B635*
82	2 ChDC B636*, ChDC B637
84	1 ChDC B638*
85	2 ChDC B639*, ChDC B640*
86	4 ChDC B664, ChDC B665, ChDC B666, ChDC B667
88	2 ChDC B641, ChDC B642
89	3 ChDC B643*, ChDC B644*, ChDC B645*
90	1 ChDC B646*
93/94	6 ChDC B668*, ChDC B669*, ChDC B670*, ChDC B671*, ChDC B672*, ChDC B673
95	3 ChDC B674*, ChDC B676*, ChDC B677*
97	1 ChDC B709*
99	2 ChDC B678, ChDC B679*
100	2 ChDC B707, ChDC B708
102	2 ChDC B680*, ChDC B681*
103	2 ChDC B682*, ChDC B683*
104	5 ChDC B647*, ChDC B648*, ChDC B649*, ChDC B650*, ChDC B651*
105	6 ChDC B652*, ChDC B653*, ChDC B654*, ChDC B655*, ChDC B656*, ChDC B657*
106	6 ChDC B658*, ChDC B659, ChDC B660, ChDC B661, ChDC B662, ChDC B663
107	7 ChDC B684*, ChDC B685*, ChDC B686*, ChDC B687*, ChDC B710, ChDC B711, ChDC B712
112	7 ChDC B688, ChDC B689, ChDC B690, ChDC B691, ChDC B692, ChDC B693, ChDC B694
114	4 ChDC B713, ChDC B714, ChDC B715, ChDC B716
115	12 ChDC B695, ChDC B696, ChDC B697, ChDC B698*, ChDC B699*, ChDC B700*, ChDC B701*, ChDC B702*, ChDC B703*, ChDC B704*, ChDC B705*, ChDC B706*
117	2 ChDC B717, ChDC B718
119	2 ChDC B735, ChDC B736
120	4 ChDC B737, ChDC B741, ChDC B743, ChDC B744
123	4 ChDC B749, ChDC B750 ChDC B751, ChDC B752
180	4 ChDC B730, ChDC B731, ChDC B732, ChDC B733
Total	101

ChDC; Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

*Those strains were isolated in a previous study, Lee *et al.*, 2005.

ChDC B631: This strain doesn't exist at present.

Table 3. Identification of bacteria isolated from the samples at the species level

Strains	Genus or species match [Gene Bank access number]	Identity (%)
ChDC B631*	<i>Actinomyces</i> sp. oral clone IP073 [AY349365]	99
	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	95
	<i>Actinomyces oricola</i> CCUG 46090 ^T [AJ507295]	94
	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	94
ChDC B632	<i>Actinomyces israelii</i> C.I.P. 103259 ^T [X82450]	98
ChDC B633	<i>Actinomyces georgiae</i> DSM 6843 ^T (=ATCC 49285 ^T) [X80413]	98
ChDC B634	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	97
	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	97
ChDC B635	<i>Methylobacterium fujisawaense</i> ATCC43884 ^T [AJ250801]	99
	<i>Methylobacterium radiotolerans</i> ATCC27329 ^T [D32227]	99
ChDC B636	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC10145 ^T [AB117953]	99
ChDC B637	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC10145 ^T [AB117953]	99
ChDC B638	<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 6919 ^T [AB108479]	99
ChDC B639	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	98
	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	98
ChDC B640	<i>Streptococcus anginosus</i> ATCC 33397 ^T [AF104679]	98
ChDC B641	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990 ^T [AE016751]	99
	<i>Staphylococcus caprae</i> ATCC 35538 ^T [AB009935]	99
	<i>Staphylococcus capitis</i> ATCC 49326 ^T [AB009937]	99
	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC 14953 ^T [L37602]	99
ChDC B642	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	98
	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	97
ChDC B643	<i>Staphylococcus warneri</i> ATCC 27836 ^T [L37603]	99
	<i>Staphylococcus pasteurii</i> ATCC 51129 ^T [AB009944]	99
ChDC B644	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	99
	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	98
ChDC B645	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	99
	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	98
ChDC B646	<i>Actinomyces odontolyticus</i> CCUG 20356 ^T [AJ234043]	98

ChDC; Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

*ChDC B631: This strain doesn't exist at present.

(Continued on next page)

Table 3. Identification of bacteria isolated from the samples at the species level
(Continued in previous page)

Strains	Genus or species match [Gene Bank access number]	Identity (%)
ChDC B647	<i>Propionibacterium cyclohexanicum</i> ATCC 700429 ^T [D82046]	96
	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> ATCC 6207 ^T [Y10819]	96
ChDC B648	<i>Streptococcus oralis</i> ATCC 35037 ^T [AF003932]	98
	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AJ295853]	98
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	98
ChDC B649	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	99
	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	97
ChDC B650	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	98
	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	98
ChDC B651	<i>Actinomyces georgiae</i> ATCC 49285 ^T [X80413]	98
ChDC B652	<i>Propionibacterium propionicus</i> ATCC 14157 ^T [AJ003058]	99
	<i>Propionibacterium avidum</i> DSM 4901 ^T [AJ003055]	99
ChDC B653	<i>Propionibacterium propionicus</i> ATCC14157 ^T [AJ003058]	99
	<i>Propionibacterium avidum</i> DSM 4901 ^T [AJ003055]	99
ChDC B654	<i>Finegoldia magna</i> ATCC 15794 ^T [AB109771]	98
ChDC B655	<i>Propionibacterium propionicus</i> ATCC 14157 ^T [AJ003058]	99
	<i>Propionibacterium avidum</i> DSM 4901 ^T [AJ003055]	99
ChDC B656	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ATCC 25260 ^T [L16490]	98
ChDC B657	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ATCC 25260 ^T [L16490]	98
ChDC B658	<i>Actinomyces odontolyticus</i> CCUG 20536 ^T [AJ234040]	99
ChDC B659	<i>Actinomyces odontolyticus</i> CCUG 20536 [AJ234040]	99
ChDC B660	<i>Actinomyces odontolyticus</i> CCUG 20536 ^T [AJ234040]	99
ChDC B661	<i>Actinomyces odontolyticus</i> CCUG 20536 ^T [AJ234042]	98
ChDC B662	<i>Actinomyces odontolyticus</i> CCUG 20536 ^T [AJ234042]	98
ChDC B663	<i>Actinomyces odontolyticus</i> CCUG 20536 ^T [AJ234042]	99
ChDC B664	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 12600 ^T [X68417]	99
	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i> ATCC 35844 ^T [D83355]	99
ChDC B665	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 12600 ^T [X68417]	99
	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i> ATCC 35844 ^T [D83355]	99

ChDC; Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

(Continued on next page)

Table 3. (Continued in previous page)

Strains	Genus or species match [Gene Bank access number]	Identity (%)
ChDC B666	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AF003929]	99
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AF003930]	99
	<i>Streptococcus oralis</i> ATCC 35037 ^T [AF003932]	99
ChDC B667	<i>Abiotrophia para-adiacens</i> strain TKT1 ^T [AB022027]	99
	<i>Granulicatella adiacens</i> GIFU 12706 ^T (=ATCC 49175 ^T) [D50540]	98
ChDC B668	<i>Streptococcus salivarius</i> ATCC 7073 ^T [AY188352]	99
	<i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC 19258 ^T [AY188354]	99
	<i>Streptococcus vestibularis</i> ATCC 49124 ^T [AY188353]	99
ChDC B669	<i>Streptococcus parasanguinis</i> ATCC 15912 ^T [AF003933]	98
	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AF003929]	98
ChDC B670	<i>Streptococcus parasanguinis</i> ATCC 15912 ^T [AF003933]	98
ChDC B671	<i>Streptococcus parasanguinis</i> ATCC 15912 ^T [AF003933]	98
	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AF003929]	98
	<i>Streptococcus oralis</i> ATCC 35037 ^T [AF003932]	98
ChDC B672	<i>Streptococcus salivarius</i> ATCC 7073 ^T [AY188352]	99
	<i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC 19258 ^T [AY188354]	99
	<i>Streptococcus vestibularis</i> ATCC 49124 ^T [AY188353]	99
ChDC B673	<i>Streptococcus salivarius</i> ATCC 7073 ^T [AY188352]	99
	<i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC 19258 ^T [AY188354]	99
	<i>Streptococcus vestibularis</i> ATCC 49124 ^T [AY188353]	99
ChDC B674	<i>Streptococcus oralis</i> ATCC 35037 ^T [AF003932]	99
	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AJ295853]	98
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	98
	<i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556 ^T [AF003928]	98
ChDC B676	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AJ295853]	98
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	98
	<i>Streptococcus oralis</i> ATCC 35037 ^T [AF003932]	98
ChDC B677	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	98
	<i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556 ^T [AF003928]	98

ChDC; Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

(Continued on next page)

Table 3. (Continued in previous page)

Strains	Genus or species match [Gene Bank access number]	Identity (%)
ChDC B678	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AJ295853]	99
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	99
	<i>Streptococcus oralis</i> ATCC 35037 ^T [AF003932]	99
ChDC B679	<i>Streptococcus gordonii</i> ATCC 10558 ^T [AF003931]	99
ChDC B680	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AJ295853]	99
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	99
	<i>Streptococcus oralis</i> ATCC 35037 ^T [AF003932]	99
ChDC B681	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AJ295853]	99
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	99
	<i>Streptococcus oralis</i> ATCC 35037 ^T [AF003932]	99
ChDC B682	<i>Lactobacillus pentosus</i> JCM 1558 ^T [D79211]	99
	<i>Lactobacillus plantarum</i> JCM 1149 ^T [D79210]	99
ChDC B683	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>alactosus</i> JCM 1133 ^T [D16548]	99
	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>tolerans</i> JCM 1171 ^T [D16550]	99
	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>pseudopantarum</i> CM 1181 ^T [D16549]	99
	<i>Lactobacillus zeae</i> ATCC 15820 ^T [D86516]	99
	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> JCM 1134 ^T [D16551]	98
	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>rahamnosus</i> JCM 1136 ^T [D16552]	98
ChDC B684	<i>Streptococcus anginosus</i> ATCC 33397 ^T [AF104678]	99
ChDC B685	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AJ295853]	99
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	98
	<i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556 ^T [AF003928]	98
ChDC B686	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AJ295853]	98
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	98
	<i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556 ^T [AF003928]	98
ChDC B687	<i>Streptococcus cristatus</i> NCTC 12479 ^T [AB008313]	99
ChDC B688	<i>Streptococcus anginosus</i> ATCC 33397 ^T [AF104678]	99
ChDC B689	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AJ295853]	99
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	98
	<i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556 ^T [AF003928]	98

ChDC; Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

(Continued on next page)

Table 3. (Continued in previous page)

Strains	Genus or species match [Gene Bank access number]	Identity (%)
ChDC B690	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	98
	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	97
ChDC B691	<i>Streptococcus mitis</i> ATCC 49456 ^T [AJ295853]	99
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	99
	<i>Streptococcus oralis</i> ATCC 35037 ^T [AF003932]	98
ChDC B692	<i>Abiotrophia para-adiacens</i> strain TKT1 ^T [AB022027]	99
	<i>Granulicatella adiacens</i> GIFU 12706 ^T (=ATCC 49175 ^T) [D50540]	98
ChDC B693	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 33400 ^T [AE008537]	98
	<i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556 ^T [AF003928]	98
ChDC B694	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	98
	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	97
ChDC B695	<i>Streptococcus anginosus</i> ATCC 33397 ^T [AF104678]	99
ChDC B696	<i>Prevotella denticola</i> ATCC 35308 ^T [AY323524]	98
ChDC B697	<i>Prevotella buccae</i> ATCC 33690 ^T [L16478]	98
ChDC B698	<i>Prevotella denticola</i> ATCC 35308 ^T [AY323524]	98
ChDC B699	<i>Streptococcus anginosus</i> ATCC 33397 ^T [AF104678]	99
ChDC B700	<i>Shuttleworthia satelles</i> VPI D143K-13 ^T [AF399956]	99
ChDC B701	<i>Bifidobacterium dentium</i> ATCC 27534 ^T [D86183]	98
ChDC B702	<i>Prevotella denticola</i> ATCC 35308 ^T [AY323524]	98
ChDC B703	<i>Atopobium parvulum</i> ATCC 33793 ^T [X67150]	99
ChDC B704	<i>Prevotella denticola</i> ATCC 35308 ^T [AY323524]	98
ChDC B705	<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i> ATCC 25586 ^T [AE010523]	98
ChDC B706	<i>Eubacterium infirmum</i> W 1471 [U13039] NCTC 12940(?)	99
ChDC B707	<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC 27823 ^T [AF104676]	99
	<i>Streptococcus intermedius</i> ATCC 27335 ^T [AF104671]	99
ChDC B708	<i>Micromonas micros</i> ATCC 33270 ^T [AY323523]	99
ChDC B709	<i>Clostridium sporogenes</i> rrn gene ATCC 3584 ^T [X68189]	99
	<i>Clostridium botulinum</i> NCTC7273 type B rrn gene [X68186]	99
ChDC B710	<i>Streptococcus anginosus</i> ATCC 33397 ^T [AF104678]	99

ChDC: Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

(Continued on next page)

Table 3. (Continued in previous page)

Strains	Genus or species match [Gene Bank access number]	Identity (%)
ChDC B711	<i>Granulicatella adiacens</i> strain 10/833 [AJ312375]	99
ChDC B712	<i>Abiotrophia para-adiacens</i> strain TKT1 ^T [AB022027]	99
	<i>Granulicatella adiacens</i> GIFU 12706 ^T (=ATCC 49175 ^T) [D50540]	99
ChDC B713	<i>Staphylococcus pasteurii</i> ATCC51129 ^T [AB009944]	99
	<i>Staphylococcus warneri</i> ATCC 27836 ^T [L37603]	99
ChDC B714	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 14990 ^T [D83363]	99
ChDC B715	<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 6919 ^T [AB042288]	99
ChDC B716	<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 6919 ^T [AB042288]	99
ChDC B717	<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC 27823 ^T [AF104676]	99
	<i>Streptococcus intermedius</i> ATCC 27335 ^T [AF104671]	99
ChDC B718	<i>Streptococcus constellatus</i> ATCC 27823 ^T [AF104676]	99
	<i>Streptococcus intermedius</i> ATCC 27335 ^T [AF104671]	99
ChDC B730	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990 ^T [D83363]	99
	<i>Staphylococcus caprae</i> ATCC 35538 ^T [AB009935]	99
	<i>Staphylococcus capitis</i> ATCC 49326 ^T [AB009937]	99
	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC 14953 ^T [L37602]	99
ChDC B731	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990 ^T [D83363]	99
	<i>Staphylococcus caprae</i> ATCC 35538 ^T [AB009935]	98
	<i>Staphylococcus capitis</i> ATCC 49326 ^T [AB009937]	98
	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC 14953 ^T [L37602]	98
ChDC B732	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990 ^T [D83363]	99
	<i>Staphylococcus caprae</i> ATCC 35538 ^T [AB009935]	99
	<i>Staphylococcus capitis</i> ATCC 49326 ^T [AB009937]	99
	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC 14953 ^T [L37602]	98
ChDC B733	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990 ^T [D83363]	99
	<i>Staphylococcus caprae</i> ATCC 35538 ^T [AB009935]	98
	<i>Staphylococcus capitis</i> ATCC 49326 ^T [AB009937]	98
	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC 14953 ^T [L37602]	98
ChDC B735	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	99
	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	99

ChDC; Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

(Continued on next page)

Table 3. (Continued in previous page)

Strains	Genus or species match [Gene Bank access number]	Identity (%)
ChDC B736	<i>Actinomyces viscosus</i> NCTC 10951 ^T [X82453]	98
	<i>Actinomyces naeslundii</i> NCTC 10301 ^T [X81062]	98
ChDC B737	<i>Prevotella nigrescens</i> NCTC 9336 ^T [X73963]	98
ChDC B739	<i>Lactobacillus mucosae</i> CCUG 43179 ^T [AF126738]	99
ChDC B741	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990 ^T [D83363]	99
	<i>Staphylococcus caprae</i> ATCC 35538 ^T [AB009935]	99
	<i>Staphylococcus capitis</i> ATCC 49326 ^T [AB009937]	99
	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> ATCC 14953 ^T [L37602]	99
ChDC B743	<i>Lactobacillus mucosae</i> CCUG 43179 ^T [AF126738]	99
ChDC B744	<i>Dialister invisus</i> E7_25 ^T [AY162469]	99
ChDC B749	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>alactosus</i> JCM 1133 ^T [D16548]	99
	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>tolerans</i> JCM 1171 ^T [D16550]	99
	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>pseudopantarum</i> CM 1181 ^T [D16549]	99
	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> JCM 1134 ^T [D16551]	98
	<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> JCM 1136 ^T [D16552]	98
	<i>Lactobacillus zeae</i> ATCC 15820 ^T [D86516]	98
ChDC B750	<i>Lactobacillus frumenti</i> TMW 1.666 ^T [AJ250074]	99
ChDC B751	<i>Lactobacillus vaginalis</i> ATCC 49540 ^T [AF243177]	99
ChDC B752	<i>Lactobacillus pentosus</i> JCM 1558 ^T [D79211]	99
	<i>Lactobacillus plantarum</i> JCM 1149 ^T [D79210]	99
	<i>Lactobacillus paraplantarum</i> DSM 10667 ^T [AJ306297]	99

ChDC; Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

Table 4. Summary of detection frequency of bacteria from endodontic infection lesions

Phylum/ Class Genus or species	Detection frequency			
	Case (total = 27)		Strain (total = 101)	
	n	%	n	%
Actionobacteria				
<i>Actinomyces georgiae</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Actinomyces israelii</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Actinomyces naeslundii/viscosus</i>	7	25.9	10	9.9
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	3	11.1	8	7.9
<i>Actinomyces sp.</i>	1	3.7	2	2.0
<i>Atopobium parvulum</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Propionibacterium acnes</i>	2	7.4	3	3.0
<i>Propionibacterium cyclohexanicum/ freudenreichii</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Propionibacterium propionicus/ avidum</i>	1	3.7	3	3.0
Firmicutes/ Bacilli				
<i>Abiotrophia para-adiacens</i>	2	7.4	2	2.0
<i>Bifidobacterium dentium</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Granulicatella adiacens</i>	1	3.7	2	2.0
<i>Lactobacillus frumenti</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Lactobacillus mucosae</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Lactobacillus sp.</i>	2	7.4	4	4.0
<i>Lactobacillus vaginalis</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3.7	2	2.0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	11.1	6	5.9
<i>Staphylococcus pasteurii/ warneri</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Staphylococcus sp.</i>	2	7.4	2	2.0
<i>Streptococcus anginosus</i>	5	18.5	6	5.9
<i>Streptococcus constellatus/ intermedius</i>	2	7.4	3	3.0
<i>Streptococcus cristatus</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Streptococcus gordonii</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Streptococcus sp. (mitis group)</i>	7	25.9	16	15.8
<i>Streptococcus sp. (salivarius group)</i>	1	3.7	3	3.0
Firmicutes/ Clostridia				
<i>Clostridium sporogenes/ botulinum</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Dialister invisus</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Eubacterium infirmum</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Fingoldia magna</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Micromonas micros</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Shuttleworthia satelles</i>	1	3.7	1	1.0
Proteobacteria				
<i>Methylobacterium fujisawaense</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	3.7	2	2.0
Fusobacteria				
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1	3.7	1	1.0
Bacteroides				
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1	3.7	2	2.0
<i>Prevotella buccae</i>	1	3.7	1	1.0
<i>Prevotella denticola</i>	1	3.7	4	4.0
<i>Prevotella nigrescens</i>	1	3.7	1	1.0
Total	-	-	101	100.4

Table 5. Minimal inhibitory concentration of several antibiotics for species isolated from the endodontic infection

Sample' No.	strains	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)								
		PEN ¹	AMX ²	AUG ³	TET ⁴	CIP ⁵	ERY ⁶	CLI ⁷	CMX ⁸	
107	<i>Abiotrophia para-adiacens</i> ChDC B692	0.25	0.25	0.25	8	4	>32	>32	0.25	
81	<i>Actinomyces georgiae</i> ChDC B633	ND ⁹	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
81	<i>Actinomyces israelii</i> ChDC B632	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
104	<i>Actinomyces naeslundii/viscosus</i> B649 ChDC	0.125	0.25	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25	
85	<i>Actinomyces naeslundii/viscosus</i> B639 ChDC	0.125	0.5	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25	
88	<i>Actinomyces naeslundii/viscosus</i> B642 ChDC	0.125	0.5	0.25	0.125	2	0.5	0.125	0.25	
89	<i>Actinomyces naeslundii/viscosus</i> B644 ChDC	0.25	0.25	0.25	0.5	8	0.125	0.125	0.25	
89	<i>Actinomyces naeslundii/viscosus</i> B645 ChDC	0.25	0.5	0.25	0.5	8	0.125	0.5	0.25	
104	<i>Actinomyces naeslundii/viscosus</i> B650 ChDC	0.25	0.25	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25	
107	<i>Actinomyces naeslundii/viscosus</i> B690 ChDC	0.5	1	0.25	1	8	0.125	0.125	0.25	
107	<i>Actinomyces naeslundii/viscosus</i> B694 ChDC	0.25	0.5	0.25	4	4	>32	>32	0.25	
120	<i>Actinomyces naeslundii/viscosus</i> B735 ChDC	0.125	0.25	0.25	1	8	0.125	0.5	0.25	
120	<i>Actinomyces naeslundii/viscosus</i> B736 ChDC	0.25	0.25	0.25	0.125	4	0.125	0.25	0.25	
90	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B646	0.5	2	0.5	4	16	0.125	0.125	0.25	
104	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B651	0.125	0.5	0.25	0.125	8	0.125	0.125	0.25	
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B658	0.125	2	0.5	0.125	8	0.125	0.125	0.25	
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B659	0.125	1	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25	
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B660	0.125	0.25	4	0.125	8	0.125	0.125	0.25	
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B661	0.125	1	0.25	0.125	8	0.125	0.125	0.25	
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B662	0.125	1	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25	
106	<i>Actinomyces odontolyticus</i> ChDC B663	0.125	1	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25	
81	<i>Actinomyces</i> sp. ChDC B631	0.125	1	0.5	0.25	2	1	0.125	1	
81	<i>Actinomyces</i> sp. ChDC B634	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
115	<i>Atopobium parvulum</i> ChDC B703	>32	2	32	0.125	1	2	0.125	4	

1, Penicillin G; 2, Amoxicillin; 3, Augmentin; 4, Tetracycline; 5, Ciprofloxacin; 6, Erythromycin; 7, Clindamycin; 8, Cefuroxime axetil; 9, Not determined.

(Continued on next page)

Table 5. (Continued in previous page)

Sample' No.	strains	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)								
		PEN ¹	AMX ²	AUG ³	TET ⁴	CIP ⁵	ERY ⁶	CLI ⁷	CMX ⁸	
97	<i>Clostridium sporogenes/ botulinum</i> ChDC B709	1	8	2	0.125	0.25	0.5	8	8	
120	<i>Dialister invisus</i> ChDC B744	ND ⁹	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
115	<i>Eubacterium infirmum</i> ChDC B706	>32	64	64	32	0.5	32	8	64	
105	<i>Finegoldia magna</i> ChDC B654	32	64	64	32	0.5	32	16	64	
115	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ChDC B705	0.125	0.25	2	0.125	1	8	0.125	2	
107	<i>Granulicatella adiacens</i> ChDC B711	0.125	0.25	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25	
107	<i>Granulicatella adiacens</i> ChDC B712	0.125	2	0.5	32	4	0.125	0.125	0.5	
123	<i>Lactobacillus frumenti</i> ChDC B750	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
120	<i>Lactobacillus mucosae</i> ChDC B743	0.125	0.25	4	0.25	16	2	0.125	16	
103	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B682	>32	64	16	8	>32	0.25	0.25	>64	
103	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B683	2	8	2	0.25	8	0.125	0.25	4	
123	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B749	1	8	2	0.25	4	0.125	0.125	4	
123	<i>Lactobacillus</i> sp. ChDC B752	>32	32	8	8	32	0.125	0.125	> 64	
123	<i>Lactobacillus vaginalis</i> ChDC B751	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
81	<i>Methylobacterium fujisawaense</i> ChDC B635	0.125	0.25	0.25	0.125	8	0.125	0.125	0.25	
100	<i>Micromonas micros</i> ChDC B708	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
105	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ChDC B656	32	64	64	32	1	32	>32	64	
105	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ChDC B657	32	64	64	32	1	32	>32	64	
115	<i>Prevotella buccae</i> ChDC B697	0.125	0.25	1	0.125	0.5	0.125	0.125	0.25	
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B696	32	8	16	0.125	1	2	0.125	16	
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B698	>32	4	8	0.125	1	2	0.125	8	
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B702	>32	2	32	0.125	1	0.5	0.125	4	
115	<i>Prevotella denticola</i> ChDC B704	>32	2	16	0.125	1	2	0.125	4	
120	<i>Prevotella nigrescens</i> ChDC B737	32	8	32	0.5	0.25	0.125	0.125	16	

1, Penicillin G; 2, Amoxicillin; 3, Augmentin; 4, Tetracycline; 5, Ciprofloxacin; 6, Erythromycin; 7, Clindamycin; 8, Cefuroxime axetil; 9, Not determined.

(Continued on next page)

Table 5. (Continued in previous page)

Sample' No.	strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)								
		PEN ¹	AMX ²	AUG ³	TET ⁴	CIP ⁵	ERY ⁶	CLI ⁷	CMX ⁸	
114	<i>Propionibacterium acnes</i> ChDC B715	0.125	0.5	0.25	0.25	4	0.125	0.125	0.25	
114	<i>Propionibacterium acnes</i> ChDC B716	0.125	0.25	0.25	1	2	0.125	0.125	0.25	
104	<i>Propionibacterium cyclohexanicum/ freudenreichii</i> ChDC B647	ND ⁹	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
105	<i>Propionibacterium propionicus/ avidum</i> ChDC B655	0.125	0.25	0.25	0.125	0.25	0.125	0.125	0.25	
105	<i>Propionibacterium propionicus/ avidum</i> ChDC B652	0.125	0.5	0.25	0.125	2	0.125	0.125	0.25	
105	<i>Propionibacterium propionicus/ avidum</i> ChDC B653	0.125	0.25	1	0.125	0.25	0.125	0.125	0.25	
82	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ChDC B636	>32	>64	>64	32	1	>32	>32	>64	
82	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ChDC B637	>32	>64	>64	16	0.125	>32	>32	>64	
115	<i>Shuttleworthia satelles</i> ChDC B700	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
86	<i>Staphylococcus aureus</i> ChDC B664	>32	>64	>64	0.125	1	>32	0.125	1	
86	<i>Staphylococcus aureus</i> ChDC B665	>32	>64	>64	0.125	1	>32	0.25	1	
114	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B714	>32	>64	>64	0.25	1	1	0.25	0.5	
180	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B730	>32	>64	>64	32	2	0.5	0.5	2	
180	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B731	>32	>64	>64	1	2	1	0.5	1	
180	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B732	>32	>64	>64	1	1	1	0.25	1	
180	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B733	>32	>64	>64	1	2	1	0.25	2	
120	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ChDC B741	>32	>64	64	0.125	0.5	0.5	0.125	0.5	
114	<i>Staphylococcus pasteurii/ warneri</i> ChDC B713	0.125	1	0.5	0.25	1	1	0.125	1	
88	<i>Staphylococcus</i> sp. ChDC B641	> 32	> 64	> 64	> 32	1	0.5	0.25	0.25	
89	<i>Staphylococcus</i> sp. ChDC B643	0.125	0.5	0.25	8	1	1	0.125	0.5	
85	<i>Streptococcus anginosus</i> ChDC B640	0.125	0.25	0.25	0.125	2	0.125	0.125	0.25	
107	<i>Streptococcus anginosus</i> ChDC B684	0.125	0.25	0.25	16	4	0.125	0.125	0.25	
112	<i>Streptococcus anginosus</i> ChDC B688	0.125	0.5	0.25	4	2	0.125	0.125	0.25	
115	<i>Streptococcus anginosus</i> ChDC B695	0.125	0.25	0.25	0.125	2	0.125	0.125	0.25	

1, Penicillin G; 2, Amoxicillin; 3, Augmentin; 4, Tetracycline; 5, Ciprofloxacin; 6, Erythromycin; 7, Clindamycin; 8, Cefuroxime axetil; 9, Not determined.

(Continued on next page)

Table 5. (Continued in previous page)

Sample' No.	strains	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)								
		PEN ¹	AMX ²	AUG ³	TET ⁴	CIP ⁵	ERY ⁶	CLI ⁷	CMX ⁸	
107	<i>Streptococcus anginosus</i> ChDC B710	0.125	0.25	4	32	2	0.25	0.25	0.5	
100	<i>Streptococcus constellatus/ intermedius</i> ChDC B707	0.125	1	0.25	0.125	2	0.125	0.125	0.25	
117	<i>Streptococcus constellatus/ intermedius</i> ChDC B718	0.125	0.25	2	8	1	0.125	0.125	0.25	
117	<i>Streptococcus constellatus/ intermedius</i> ChDC B717	0.125	1	0.5	8	1	0.125	0.125	0.25	
107	<i>Streptococcus cristatus</i> ChDC B687	0.25	2	0.5	0.125	4	0.125	0.125	0.25	
99	<i>Streptococcus gordonii</i> ChDC B679	0.125	0.25	0.25	8	16	>32	>32	0.25	
104	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B648 (mitis group)	0.25	1	0.25	4	4	2	0.125	0.25	
86	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B666 (mitis group)	0.125	0.25	0.25	8	8	2	0.125	0.25	
93/94	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B669 (mitis group)	>32	>64	>64	>32	2	>32	0.25	0.5	
93/94	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B670 (mitis group)	0.125	2	0.5	0.125	4	0.125	0.125	0.25	
93/94	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B671 (mitis group)	0.5	2	0.5	8	8	0.125	0.125	0.25	
95	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B674 (mitis group)	0.125	0.25	0.25	0.125	4	0.125	0.125	0.25	
95	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B676 (mitis group)	0.125	0.5	0.25	8	8	2	0.125	0.25	
95	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B677 (mitis group)	0.125	0.25	0.25	1	8	0.125	0.125	0.25	
99	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B678 (mitis group)	0.25	8	1	0.25	16	0.125	0.125	1	
102	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B680 (mitis group)	1	2	0.5	4	8	4	32	0.25	
102	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B681 (mitis group)	0.5	2	0.5	0.125	8	0.125	0.125	0.25	
107	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B685 (mitis group)	0.5	4	1	0.125	4	0.125	0.125	2	
107	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B686 (mitis group)	0.125	0.25	0.25	4	8	0.125	0.125	0.25	
107	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B689 (mitis group)	0.125	0.25	0.25	0.5	4	0.125	0.125	0.25	
107	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B691 (mitis group)	0.25	0.5	0.25	0.25	8	0.125	0.125	0.5	
107	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B693 (mitis group)	0.125	0.5	0.25	8	8	8	16	0.5	
93/94	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B668 (salivarius group)	0.25	1	0.25	0.125	2	0.125	0.125	0.25	
93/94	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B672 (salivarius group)	0.5	2	1	0.125	4	0.125	0.125	0.25	
93/95	<i>Streptococcus</i> sp. ChDC B673 (salivarius group)	0.5	4	1	0.25	8	0.25	0.125	0.25	

1, Penicillin G; 2, Amoxicillin; 3, Augmentin; 4, Tetracycline; 5, Ciprofloxacin; 6, Erythromycin; 7, Clindamycin; 8, Cefuroxime axetil.

IV. 총괄 및 고안

치근관 감염 병소에서 세균 배양법을 이용할 경우 일반적으로 2-13개 정도의 세균이 검출되는 것으로 보고 되고 있다(Khemaleelakul et al., 2002; Sundqvist, 1994; Le Goff et al., 1997). 본 연구 결과에서도 샘플에 따라 1-12 균주가 검출되었다. 이러한 결과를 비추어 볼 때 27개 치아의 치근관 감염 병소에서 세균배양법에 의해 평균 3.7개의 세균이 검출되었다. 이는 현재까지의 세균 배양 기술로는 구강 내 모든 세균을 배양할 수 없기 때문이고, 샘플의 회석과정에서 소실되는 것도 하나의 원인으로 생각된다. 최근 이러한 세균 배양법의 단점을 보완할 수 있는 16S rDNA libraries 제작 및 염기서열결정법에 의하여 치근관 감염 병소의 세균을 종 수준에서 검출한 결과물이 보고 되었다(Munson et al., 2002; Yoo et al., 2004). 치근관 감염 병소에서 세균 배양법과 16S rDNA libraries 제작 및 염기서열결정법을 모두 시행한 후 그 결과를 비교분석한 결과 세균 배양법에 의해 검출된 세균 종이 비교적 적었다. 하지만, 16S rDNA libraries 제작 및 염기서열결정법에 의해 검출되지 않았던 세균 종이 세균배양법에 의해 검출되기도 하였다. 또한, 16S rDNA libraries 제작 및 염기서열결정법은 비교적 많은 종류의 세균 종을 검출할 수 있는 장점이 있는 반면, 병인론 연구나 세균 종 또는 균주들의 특성 연구를 위해 살아있는 세균을 얻지 못한다는 단점이 있다. 따라서 본 연구에서는 치근관 감염 병소에 존재하는 세균들의 8종 항생제에 대한 감수성 조사를 하기 위하여 세균 배양법에 의해 치근관 감염 병소에서 세균을 검출하였다.

본 연구에 사용된 27개의 치근관 병소 샘플에는 Lee 등(2005)이 이용한 17 샘플이 포함되어 있다. 즉, -70℃ 냉동고에 보관된 샘플(15% glycerol 용액)을 급속히 해동시킨 다음 세균 배양을 시행하여 6 샘플로부터 14 균주를 더 배양하는 데 성공하였다 (Table 1). 또한 Blastn 검색을 다시 시행하여 세균 동정을 재 시도하였다. 세균의 16S rDNA 염기서열비교법을 통한 세균 종 수준에서의 동정 시, 표준균주의 16S rDNA 염기서열만이 비교 대상이 될 수 있지만, Lee 등(2005)에서는 이러한 원칙이 지켜지지 않았기 때문이다. 특히 16S rDNA 염기서열로는 명확히 종 수준으로 구별할 수 없는 경우에는 가장 가까운 두개의 종을 병기하였고, 세가지 이상의 종과 상동성이 같을 경

우에는 속명만을 명기하였다(Table 3).

최근 비리단스 연쇄상구균(viridans streptococci)은 16S rDNA 염기서열에 따라 5개의 균(mitis, salivarius, anginosus, mutans, bovis)으로 나뉘었다가(Kawamura et al., 1995), 다시 6개의 특징적인 생리학적 특성에 따라 mitis, mutans, anginosus, sanguinis, salivarius 균으로 다시 나뉘었다(Fackam 2002). 본 연구에서는 16S rDNA 염기서열에 따라 세균을 종 수준으로 동정하였기 때문에 Kawamura 등(1995)의 방법에 의해 연쇄상구균을 동정하였다. Kawamura 등(1995)의 보고에 의하면, mitis 균 연쇄상구균들 중, *S. mitis*, *S. pneumoniae*, *S. oralis* 및 *S. gordonii* 간의 16S rDNA 염기서열의 상동성이 99%이기 때문에 서로 구별하기가 어렵다. 또한 salivarius 균에 속하는 *S. salivarius*, *S. vestibularis* 와 *S. thermophilus*, anginosus 균에 속하는 *S. intermedia*와 *S. constellatus*도 이와 같은 경우이다. 그러므로 본 연구에서는 이들을 mitis 균 연쇄상구균, salivarius 균 연쇄상구균 혹은 *S. intermedia/constellatus*라고 명기 하였다.

본 연구에서 8종의 항생제에 대한 감수성 조사를 실시한 결과, 한 두 가지 항생제에 내성을 갖는 균주들보다는 4가지 이상의 항생제에 내성을 갖는 균주들이 대부분이었다. 또한, 여러 항생제에 내성을 갖는 균주들은 세균 종보다는 숙주에 따라 차이가 있는 것으로 조사되었다. 즉, 86번, 115번, 180번 샘플에서 검출된 균주들의 세균 종은 서로 차이가 있지만, 여러 항생제에 내성을 보였다(Table 5). 이러한 결과는 환자가 여러 항생제를 남용하였거나 오용한 결과로 발생할 수 있기 때문에 항생제를 처방할 때는 가능한 미생물학적 검사도 병행하는 것이 현명하리라 생각된다.

페니실린 계 항생제는 β -lactam 구조를 가지고 있으며, 세균의 세포막 성분인 peptidoglycan 합성에 관여하는 transpeptidases의 활성을 억제하여 항세균 작용을 갖는다(Waxman and Strominger, 1983). 본 연구 결과 항생제 내성 검사에 이용된 92균주들 중 29 균주가 페니실린 G에 내성을 갖은 데 반해, 아목시실린에는 51 균주가 내성을 보였다. 이러한 차이는 본 연구의 결과로는 알 수 없지만, 페니실린 G가 현재 임상에서는 거의 사용되지 않고 있기 때문에 상대적으로 아목시실린에 비해 내성을 보이는 균주가 적게 나타난 것으로 생각된다. 이는 각각의 균주가 β -lactam 구조를 갖는

페니실린 계 항생제에 대한 내성 기전의 차이가 있기 때문에 가능하리라 생각된다. 즉, 페니실린 계 항생제에 대한 내성 기전은 첫 번째 전술한 transpeptidase의 페니실린과 결합되는 부분의 돌연변이나 추가적으로 감수성이 떨어지는 새로운 transpeptidase를 생산하는 경우, 두 번째로는 β -lactamase를 생산해서 β -lactam 구조를 파괴시켜 항생제의 효능을 없애는 경우, 그람 음성 세균의 경우 세포외 막의 항생제에 대한 투과성을 감소시키거나, periplasm으로부터 항생제를 능동적으로 세포막으로 퍼내는 활성이 높은 경우(Wilke et al., 2005) 등이 존재하기 때문에 균주들이 어떤 기전을 가지고 있는지에 따라 그 효능에 차이가 있을 것으로 생각된다. 본 연구결과 포도상구균, 장내세균(*P. aeruginosa*, *Lactobacillus* sp. *E. infirmum*)에 속하는 균주들에서 페니실린 계 항생제에 대해 내성을 갖고 있었다. 이러한 내성 균주들 중, 페니실린 계 항생제의 β -lactam 구조를 파괴할 수 있는 균주들이 있을 경우 기존의 페니실린 계 항생제와 clavulanate, tazobactam과 sulbactam 등의 β -lactamase 억제제를 같이 투여하는 약물이 개발되어 사용되고 있다(Wang et al., 2002). 현재 임상에서 오그멘틴이라는 상품명으로 아목시실린과 clavulanic 산을 혼합한 약제가 사용되고 있다. 본 연구 결과 페니실린이나 아목시실린에 내성을 갖는 균주들 중 *P. denticola* ChDC B698을 제외한 대부분의 균주들이 오그멘틴에도 내성을 보였다. 이러한 β -lactamase 억제제에 대한 내성은 세균이 생산하는 β -lactamase의 돌연변이에 의해 억제제와의 결합력이 감소해서 획득되는 것으로 알려져 있다(Wang et al., 2002). 향후 연구에서 이들 페니실린 계 항생제에 내성을 갖는 균주들의 내성 기전에 대한 연구를 시행하고자 한다.

에리트로마이신과 클린다마이신은 일반적으로 페니실린 계 항생제에 알레르기가 있거나 내성이 발생한 경우 사용된다. 에리트로마이신은 마크로리드 계(macrolides) 항생제이고, 클린다마이신은 리코사미드 계(licosamids) 항생제이다. 이들은 둘 다 단백질 합성을 억제하여 항균 작용을 갖는 것으로 알려져 있다. 본 연구 결과 페니실린 계 항생제에 내성을 보였던 균주들 중 일부는 에리트로마이신과 클린다마이신 모두에 내성을 보이는 균주(ChDC B636, ChDC657C B637, ChDC B654, ChDC B656, ChDC B707)들도 존재하였다. Jenssen 등(1987)은 세균의 *ermB* 유전자의 산물인 23S rRNA 메틸화 단백질은 마크로리드 계, 리코사미드 계 혹은 type B streptogramins 항생제가 라

이보솜에 결합되는 것을 차단하여 항생제 내성 기전을 갖는다고 보고하였다. 그러므로 본 연구에서 에리트로마이신과 클린다마이신에 모두 내성을 갖는 균주들의 내성 기전 연구를 위하여 *ermB* 유전자 존재를 중합효소연쇄반응법을 이용하여 향후 연구하고자 한다.

세프록심 아세틸은 제2세대 세파로스포린 계 항생제로, 일종의 β -lactam계 항생제이다. 일반적으로 페니실린 계 항생제처럼 항균 범위가 넓은 편이지만, 그람 음성 세균, *Pseudomonas* 및 장내 구균에는 비교적 효과가 적은 것으로 알려져 있다(Mandel and Sande, 1992). 본 연구 결과에서도 세프록심 아세틸에 대해 내성을 보이는 균주들은 *P. aeruginosa*, *Clostridium* sp. *P. nigrescens*, *Lactobacillus* sp. 등이 대부분이었다. 플로로퀴논 계(fluoroquinolones)에 속하는 사이프록사신은 일반적으로 메티실린-저항성(methicillin-resistant) *S. aureus*(MRSA)들과 혐기성세균에 대한 항균력이 미약하지만, 호기성 세균에 대한 항균력은 뛰어난 것으로 알려져 있다(Grossman, 1997; Cohen et al., 2003). 본 연구에서도 사이프록사신에 가장 많은 내성 균주가 있었지만, 세파로스포린 계 항생제인 세프록심 아세틸에 저항성을 보였던 균주들이 대부분 사이프록사신에 감수성을 보였다. 그러므로 치근관 질환에서와 같이 혐기성 세균과 호기성 세균이 상존하고, 페니실린 계 항생제에 내성을 갖는 균주가 병소에 존재할 경우에는 세파로스포린 계 항생제와 플로로퀴논 계 항생제를 병합 사용하는 것이 효과적일 것이라 생각된다.

본 연구결과 페니실린 계, 에리트로마이신 및 클린다마이신에 모두 내성을 갖는 균주들도 세프록심 아세틸이나 테트라사이클린에 감수성을 보였다. 테트라사이클린은 세균의 30S 리보솜에 결합하여 aminoacyl transfer ribonucleic acid가 50S 리보솜 단위체의 A-site와의 결합을 방해하여 단백질 합성을 억제하는 기능을 갖는 광범위 항생제이다. 하지만, 테트라사이클린 정균제이고 비교적 오랫동안 복용해야 하기 때문에 이에 대한 세균이 내성을 획득하는 확률이 높아진다. 하지만, 본 연구에서 치근관 감염 병소에서 검출된 세균들은 비교적 테트라사이클린에 대한 감수성(69%)이 높았다. 특히, 페니실린 계 항생제에 내성을 보였던 포도상구균들 중 두 균주(ChDC B730과 ChDC B641)를 제외하고는 효과적인 항균력을 보였다. 현재 테트라사이클린에 대한 내성 유

전자들이 많이 동정되고 있다(Lacroix and Walker, 1995; Villedieu et al., 2003). 그러므로 향후 연구에서 분자생물학적 방법을 이용하여 테트라사이클린에 내성을 갖는 균주들의 내성 기전을 연구하고자 한다.

이상의 연구 결과를 종합할 때, 27명의 치근관 질환 병소에서 분리 동정된 균주들 중 연쇄상구균과 방선균이 가장 높은 빈도로 검출되었으며, 이들에 대한 8종의 항생제에 대한 감수성 조사를 한 결과, 특정 항생제에만 내성을 갖는 경우보다는 여러 항생제에 동시에 내성을 보이는 경우가 많았지만, 모든 항생제에 내성을 갖는 균주는 없었다. 그러므로 근관치료 영역에서 항생제를 투여할 필요가 있을 경우 미생물학적 검사 및 항생제 검사를 병행하는 것이 필요하리라 생각된다.

V. 결론

본 연구는 치근관 감염병소에서 세균을 분리 및 동정하고, 8가지 항생제들에 대한 분리균주들의 감수성을 조사하기 위하여 실시하였다. 세균에 감염된 27개 치아의 괴사된 치근부 치수조직을 바비드 브로치나 페이퍼 포인트를 이용하여 무균적으로 채취하고, 혈액한천배지에 샘플을 도말하여 37°C 혐기성 배양기에서 2-5일 동안 배양하였다. 혈액한천배지에서 자라난 세균은 16S rRNA 유전자(rDNA) 염기서열 결정법을 이용하여 종 수준으로 동정하고, 8가지 항생제에 대한 감수성을 최소성장억제농도 측정법으로 검사한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 27개 치아의 치근관 감염병소로부터 101개의 균주를 분리 동정한 결과, *Streptococcus* spp.(29.7%)와 *Actinomyces* spp. (21.8%)가 가장 많이 검출되었다.
2. 8종의 항생제에 대한 92 균주들의 감수성을 검사한 결과, 클린다마이신에 80(87.0%) 균주, 세프록심 아세틸과 테트라사이클린에 69(75.0%) 균주, 오그멘틴에 66(71.7%) 균주, 페니실린 G에 63(68.5%) 균주, 에리트로마이신에 61(66.3%) 균주, 아목시실린에 41(44.6%) 균주, 그리고 시플록사신에 29(31.5%) 균주들이 감수성을 보였다.
4. 이러한 8가지 항생제에 대한 균주들의 감수성 양상은 세균 종의 종류보다는 분리된 균주의 숙주에 따라 차이가 있었다.

이러한 연구결과를 종합할 때, 본 연구 결과 분리 및 동정된 세균들은 세균의 독립인자를 동정하거나 세균-숙주간 상호작용 등의 병인론 연구에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 또한 분리된 세균에 대한 항생제 감수성 조사 결과는 임상에서 치근관 감염 질환 치료의 보조적 목적으로 투여 시, 적절한 항생제 처방을 위한 기초 자료로 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 치근관 감염질환의 치료에 항생제가 필요할 경우 항생제 감수성검사를 병행하는 것이 효과적임을 시사한다.

참 고 문 헌

1. Andreasen FM. Transient apical breakdown and its relation to color and sensibility changes after luxation injuries to teeth. *Endod Dent Traumatol.* 1986;2(1):9-19.
2. Bergenholtz G. Micro-organisms from necrotic pulp of traumatized teeth. *Odontol Revy.* 1974;25(4):347-58.
3. Cohen MA, Embil JM, Canosa T. Osteomyelitis of the maxilla caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003, 61(3):387-90.
4. Facklam R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(4):613-30.
5. Grossman RF. The role of fluoroquinolones in respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother.* 1997;40(Suppl A):59-62.
6. Jensen WD, Thakker-Varia S, Dubin DT, Weinstein MP. Prevalence of macrolides-lincosamides-streptogramin B resistance and erm gene classes among clinical strains of staphylococci and streptococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1987;31(6):883-8.
7. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RI. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965 Sep;20:340-9.
8. Kantz WE, Henry CA. Isolation and classification of anaerobic bacteria from intact pulp chambers of non-vital teeth in man. *Arch Oral Biol.* 1974;19(1):91-6.
9. Kawamura Y, Hou XG, Sultana F, Miura H, Ezaki T. Determination of 16S rRNA sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and phylogenetic relationships among members of the genus *Streptococcus*. *Int J Syst Bacteriol.* 1995;45(2):406-8. Erratum in: *Int J Syst Bacteriol* 1995;45(4):882.
10. Khemaleelakul S, Baumgartner JC, Pruksakorn S. Identification of bacteria in

- acute endodontic infections and their antimicrobial susceptibility. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(6):746-55.
11. Lacroix J-M, Walker CB. Detection and incidence of tetracycline resistance determinant *tet(M)* in the microflora associated with adult periodontitis. *J Periodontol* 1995;66(2):102-8.
 12. Lane DJ, Pace B, Olsen GJ, Stahl DA, Sogin ML, Pace NR. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985;82(20):6955-9.
 13. Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. *Oral Microbiol Immunol.* 1997;12(5):318-22.
 14. Lee Y-J, Kim M-K, Hwang H-K, Kook J-K. Isolation and identification of bacteria from the root canal of the teeth diagnosed as the acute pulpitis and acute periapical abscess. *J Kor Acad Cons Dent* 2005;30(5):409-22.
 15. Mandel GL, Sande MA. Antimicrobial agents. p. 1085. *In* Gilman AF, Rall TW, Nies AS, Taylor P. (ed.), *The pharmacological basis of therapeutics.* Vol. 2, 1st ed. 1992. McGraw-Hill, INC. Singapore. Singapore.
 16. Munson MA, Pitt-Ford T, Chong B, Weightman A, Wade WG. Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections. *J Dent Res.* 2002;81(11):761-6. Erratum in: *J Dent Res.* 2003;82(1):69. *J Dent Res.* 2003;82(3):247.
 17. Murray PR, Jorgensen JH. Quantitative susceptibility test methods in major united states medical center. *Antimicrobial agent and chemotherapy.* 1981;20(1):66-70.
 18. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004;15(6):348-81.
 19. National Committee for Clinical Laboratory standards. 2000. Method for dilution antimicrobial susceptibility testing of bacteria that grow aerobically, 5th ed.

- Approved standard M7-A5. National Committee for Clinical Laboratory standards, Wayne, Pa.
20. National Committee for Clinical Laboratory standards. 2001. Methods for Methodfor antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. 5th ed. Approved standard M11-A5. National Committee for Clinical Laboratory standards, Wayne, Pa.
 21. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol.* 2001, 183(12):3770-83.
 22. Solomon C, Chalfin H, Kellert M, Weseley P. The endodontic-periodontal lesion: a rational approach to treatment. *J Am Dent Assoc.* 1995;126(4):473-9.
 23. Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;78(4):522-30.
 24. Villedieu A, Diaz-Torres ML, Hunt N, McNab R, Spratt DA, Wilson M, Mullany P. Prevalence of tetracycline resistance genes in oral bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(3):878-82.
 25. Wang X, Minasov G, Shoichet BK. The structural bases of antibiotic resistance in the clinically derived mutant beta-lactamases TEM-30, TEM-32, and TEM-34. *J Biol Chem.* 2002;277(35):32149-56.
 26. Waxman DJ, Strominger JL. Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of beta-lactam antibiotics. *Annu Rev Biochem.* 1983;52:825-69.
 27. Wilke MS, Lovering AL, Strynadka NC. Beta-lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Curr Opin Microbiol.* 2005 Oct;8(5):525-33.
 28. Wittgow WC Jr, Sabiston CB Jr. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. *J Endod.* 1975;1(5):168-71.
 29. Yoo SY, Kim M-K, Kim H-S, Hwang H-K, Kim P-S, Lim S-Y, Oh S-H, Min J-B, Kook J-K. Identification of bacteria from periapical abscess using 16S rDNA clone libraries. *Kor J Microbiol Biotechnol* 2004;32(2):195-198.