

● 한국인 급성 진행성 치주염 환자에서 분리된 black-pigmented Bacteroides에 대한 각종 항생제의 감수성에 관한 연구

손재운 · 손성희 · 이영희 · 정종평  
서울대학교 치과대학 치주과학교실

한국인 급성 진행성 치주염 환자의 치은연하치태에서 분리된 7종류의 black-pigmented Bacteroides의 각종 항생제에 대한 감수성 정도를 disc 감수성법을 통하여 검사하였던바, 급성 진행성 치주염에서 가장 중요한 병인균으로 연구되고 있는 B. gingivalis 5균주 모두는 Tetracycline과 Ampicillin에 대하여 가장 예민한 감수성을 나타내고 있으며 Penicillin에 대해서는 중등도의 감수성을 보이고 있는바, 이는 Genco(1981)의 실험에서 B. gingivalis가 Tetracycline에 감수성을 나타낸다는 결과와 동일하나, 이 균주가 Penicillin에 대해서는 중등도의 감수성을 보임으로써 Newman(1979)등, Genco(1981), Walker(1983)등 및 Sutter(1983)등의 실험과는 상이한 결과를 나타내고 있다.

B. Intermedius의 경우도 동일하게 Tetracycline 및 Ampicillin에 대해 높은 감수성을 보이나 Penicillin에 대해서는 약간의 감수성만을 보이고 있다.

또한 B. melaninogenicus의 경우 5균주중 2균주가 Penicillin에 대하여 내성을 나타내고 있으며 1균주가 Ampicillin에 대하여 내성을 보이고 있다. 또한 Tetracycline에 대해서는 2균주가 내성을 나타내고 있으며 Clindamycin에 대하여는 비교적 높은 감수성을 보이고 있는바 이는 B. melaninogenicus 균주가 모든 항생제에 감수성을 가진다는 Newman(1979) 등의 연구결과와는 상반된다. Newman(1979) 등은 실험에 사용된 B. melaninogenicus를 periodontal abscess 및 Papillon Lefevre Syndrom 환자에서 각각 1균주씩 뽑아 사용하였던 바 이러한 차이는 분리균주의 분리장소의 차이와의 관계를 생각할 수 있겠다. 또한 이 균주는 B. gingivalis나 B. intermedius와 동일하게 Gentamicin 및 Erythromycin에 내성을 보인다.

B. loeschii는 B. melaninogenicus와 동일한 양상으로 각종 항생제에 대해 감수성을 보이나 B. oralis의 경우 8균주 모두가 Tetracycline과 Erythromycin에는 오히려 내성을 보이고 있고 Penicillin에 대하여는 중등도의 감수성만을 보이고 있다. 그러나 이 균주에 대한 항생제 감수성 실험에 대한 결과가 구·미 각국의 문헌에서도 나타나고 있지 않으며 이 균주의 구·미인의 급성진행성 치주염에서의 발현 빈도가 B. gingivalis 및 B. intermedius에서 보다 적으며 내독소 및 기타 독성효과의 생산등이 특이하지 않기 때문에 B. gingivalis 및 B. intermedius 보다는 치주질환과의 관련에 대한 이해가 부족한 것으로 본다(Slots 1982).

그러나 Choi(1985)등의 연구에 의하면 이 균주는 한국인 치주질환에서 B. melaninogenicus와 동일한 발현 빈도를 보이는 바 이 균주에 대한 보다 많은 연구가 요구된다.

Tanner(1979), Socransky(1979), Zambone(1981) 및 Slots(1982) 등의 연구에 의해 급성 진행성 치주염의 원인균으로 중요시되고 있는 B. gingivalis 및 B. intermedius 균주는 disc법에 의한 항생제 감수성 연구결과, Tetracycline 및 Ampicillin에 대하여 공히 예민한 감수성을 나타내고 있는 바, 이는 Newman(1979) 등의 연구에서와 동일한 결과라고 보겠다.

그러나 이 disc법은 혐기성 세균의 성장이 느려서 항생제에 대한 세균억제대 측정이 용이하지 않으므로 현재는 흔히 사용치 않고 있다.

현재 많이 사용되는 방법인 broth dilution법과 broth disc법중 broth dilution법에 의한 세균성장 억제 최소용량 실험결과 Tetracycline은 0.25 내지 1ug/ml의 농도에서 모든 black-pigmented Bacteroi-

des 균주의 성장을 억제하는 좋은 결과를 나타내고 있는바 이는 Genco(1981)의 0.75ug/ml 및 Newman(1979) 등의 0.47ug/ml와 비슷한 결과이며 또한 Penicillin의 경우 세균 성장억제 최소용량이 2-4u/ml로써 이는 Newman(1979)등의 0.95u/ml 보다는 훨씬 많은 양으로 나타나고 있다. broth disc법에 의한 경우 B. gingivalis와 B. intermedius는 Penicillin 2u/ml 이하의 농도에서 완전성장이 억제되나 B. melaninogenicus와 B. oralis의 경우 32u/ml 이상에서도 성장억제가 나타나지 않는 바 이는 Newman(1979), Walker(1983) 및 Sutter(1983) 등의 실험결과와는 상이한 것으로 본 실험을 통하여 B. melaninogenicus 및 B. oralis 균주가  $\beta$ -lactamase의 분비와의 관계를 의미할 수도 있다.

또한 Clindamycin 및 Erythromycin은 Newman(1979) 등의 연구결과에서는 각각 0.31 및 0.06ug/ml 농도에서 세균성장 억제효과가 나타났으나 본 실험에서 broth dilution 법에서는 공히 4-16ug/ml, Broth disc 법에서의 6.4ug/ml 및 23-24ug/ml와는 커다란 차이를 보였다.

그러나 Erythromycin의 세균성장 억제 최소용량은 Sutter(1983)등의 연구에서 나타난 0.13- >128 ug/ml와는 일치되나 Clindamycin의 경우 Sutter 등의 결과 0.06-0.5ug/ml와는 큰 차이를 보였다. 이는 한국인 black-pigmented Bacteroides가 Clindamycin에는 감수성을 나타내지 않고 있다는 결과이며 이러한 결과는 disc법, broth dilution법 및 broth disc법에 의해 증명된 결과라고 보겠다.

또한 broth dilution법에 의한 세균성장억제 최소용량 검사후 실시된 살균 최소용량에 대한 실험결과 Tetracycline에서만 8-64ug/ml의 범위에서 살균효과를 보이고 있을뿐 Penicillin, Erythromycin 및 Clindamycin은 64-128ug/ml의 농도에서 살균효과가 나타나고 있다.

이 결과는 Newman(1979)등의 연구에서 나타난 결과와 현저한 차이를 보이는 바 그 원인규명에 대한 연구가 요구된다.

상기의 3가지 실험결과를 분석 비교할 때 Tetracycline은 모든 혐기성 세균의 성장억제에 유효하다고 보며 Pencillin은 B. gingivalis, B. intermedius에는 유효하나 B. melaninogenicus에는 내성을 보이고 있으며 또한 이 균주들은 Gentamicin, Cefoxitin, Erythromycin 및 Clindamycin에는 예민한 감수성을 보이지 않고 오히려 내성을 보이는 것이 주목할 만한 사실인 바 치주질환의 치료에 상기의 결과가 유효하다고 보겠다.

본 실험에 사용된 disc법, broth dilution법 및 broth disc법에 의한 실험결과 disc법에 의한 결과와 broth dilution법 및 broth disc법에 의한 결과와는 많은 부분에서 일치되고 있는바 disc법을 혐기성 세균 항생제 감수성 검사를 위하여 보다 예민하게 발전시키면 유효한 결과를 모을 수 있다고 기대된다.

또한 사용된 7종류의 Bacteroides는 혐기성 조건하에서 모든 조작이 이루어져야 되므로 이에 따른 조작상의 어려움 때문에 이들 균주에 대한 항생제 감수성 검사연구가 현재 활발히 진행되고 있지 못하고 있는 바 이들 혐기성 세균균주를 이용한 항생제 감수성 검사방법의 개발 및 기술의 표준화가 요구되며 이에 따른 결과분석의 표준치가 보다 정확히 만들어져야 한다고 생각된다. 또한 in vitro 항생제 감수성 연구와 더불어 최근 중요시되고 있는 항생제의 혈중 및 치은열구 삼출액 내의 농도 그리고 이들의 치태세균성장억제 효과에 대한 연구가 진행되고 있다(Gordon 1981; Walker 1981). 또한 각종 항생제의 치주낭내 주입에 따른 효과에 대한 연구가 활발히 진행되는 바(Goodson 1983) 이러한 제반연구는 항생제의 전신투여에 따른 부작용을 줄이고 국소치주낭내의 원인세균들의 성장억제 및 제거에 이용되리라고 생각된다.

## Antibiotic susceptibility of black-pigmented bacteroidies isolated from subgingival plaque of Korean rapidly progressive periodontitis

Jae Woon Son, Seong Heui Son, Young Hee Lee, Cong Pyoung Chung

Dept. of Periodontology, School of Dentistry, Seoul National University

For the study of antibiotic susceptibility of black-pigmented *Bacteroides* isolated from subgingival plaque to Korean rapidly progressive periodontitis, a total of 30 bacterial strains were tested for their susceptibilities to 8 antimicrobial agents.

1. For the antibiotic disc method, 5 strains of *B. gingivalis*, 3 strains of *B. intermedius*, 5 strains of *B. melaninogenicus*, 6 strains of *B. loeschii*, 8 strains of *B. oralis*, 2 strains of *B. socranskii*, and 1 strains of *B. corporis* were tested with 8 antimicrobial agents which comprised Penicillin, Ampicillin, Gentamicin, Tetracycline, Cefoxitin, Clindamycin, Erythromycin and Lincomycin.

Five strains of *B. gingivalis* were sensitive to Ampicillin and Tetracycline, intermediate to Cefoxitin, Penicillin and Lincomycin, and resistant to Gentamicin, Erythromycin and Clindamycin.

Three strains of *B. intermedius* were sensitive to Ampicillin and Tetracycline, slightly sensitive to Cefoxitin, intermediate to Penicillin, Lincomycin and Clindamycin and resistant to Gentamicin and Erythromycin.

Five Strains of *B. melaninogenicus* were sensitive to Ampicillin, Cefoxitin and Clindamycin, and intermediate to Penicillin, Tetracycline, and Lincomycin, and resistant to Gentamicin.

Six strains of *B. loeschii* were sensitive to Ampicillin and resistant to Erythromycin and Clindamycin.

Eight Strains of *B. oralis* were intermediate to all kinds of antibiotics expect Tetracycline and Erythromycin.

2. From the study of determination of the minimal inhibitory concentration(MIC) by broth dilution method, The MIC of Tetracycline to 10 of the black-pigmented *Bacteroides* were between 0.25 to 1 ug/ml and the MIC of Penicillin were between 2 to 4 u/ml.

The MIC of Clindamycin and Erythromycin were varieties between 4 to 16 ug/ml.

3. From the study of minimal bactericidal concentration(MBC) to 10 of the black-pigmented *Bacteroides*, Tetracycline were variety from 8 to 64ug/ml for 10 different kinds of black-pigmented *Bacteroides*.

The minimal bactericidal concentration of Penicillin, Clindamycin and Erythromycin were between 64 to 128 ug/ml.

4. From the study of broth disc method, the MIC of Penicillin to *B. gingivalis*, *B. intermedius*, *B. loeschii*, *B. socranskii* was under  $\mu$ /ml, but over  $\mu$ /ml to *B. melaninogenicus* and *B. oralis*. This results suggested that *B. melaninogenicus* and *B. oralis* should produced  $\beta$ -lactamase and obtained resistance to Penicillin.

These results suggested that Tetracycline is the most effective antibiotics for the inhibition of the growth on the black-pigmented *Bacteroides* and Penicillin is effective to *B. gingivalis*, *B. interme-*

dius, *B. loeschii* and *B. socranskii*, but ineffective to *B. melaninogenicus* and *B. oralis*. Further study should be needed for the investigation of the production of  $\beta$ -lactamase and other enzyme to clarify on the mechanism of bacterial resistance.

## The proportions of black-pigmented bacteroides strains in subgingival plaque from patients with rapidly progressive periodontitis

Joo Yong Choi, Seong Heui Son, Young Hee Lee, Chong Pyoun Chung

Dept. of Periodontology, School of Dentistry, Seoul National University

White et al(1981) reported in their experimental study that the mean anaerobic viable count ranged from  $2.06 \times 10^6$  (GI\*=0) to  $2.09 \times 10^7$  cells (GI=3).

In this study, the mean anaerobic count of healthy control revealed  $2.73 \times 10^6$  and R. P. P. patients showed  $1.06 \times 10^7$ .

The mean anaerobic viable count data between White's and this study did not reveal any differences.

In this study, the mean anaerobic count of R. P. P. patients were almost 4 times higher than those of healthy control and mean SBI of patients with R. P. P. was 3, but in White's report, GI=3 was almost 10 times higher than those of GI=0.

The differences between those two data may be caused by sample selection technique or the condition of sample sites.

Ohta et al(1984) reported in their study of young advanced periodontitis that anaerobic bacteria comprised 78.8% from total count and black-pigmented *Bacteroides* was composed of 43.3% among total bacterial counts.

In our R. P. P. patients, anaerobic bacteria comprised 87.5% and black-pigmented comprised 33.2% from total bacterial count. The proportion of black-pigmented *Bacteroides* to total bacterial count in Ohta's data revealed higher than those of ours.

These results might be caused by the sample size and the differences between criteria of sample selection between Ohta's (N=5) and ours (N=17).

The one consistent results among White(1981), Ohta(1984) and ours were revealed that anaerobic bacteria were composed of around of 80% from total microflora of rapidly progressive periodontitis plaque and black-pigmented *Bacteroides* constitute a major part of the subgingival microbiota in sample sites with severe inflammation to compare with healthy sites.

In this study, the distribution of black-pigmented *Bacteroides* in rapidly progressive periodontitis showed that *B. gingivalis* was composed of one-quarter of total identified black-pigmented *Bacteroides* and *B. intermedius* was one-third of total identified black-pigmented *Bacteroides*.

The proportion of *B. gingivalis* was 4.29% and *B. intermedius* was 5.22% among total bacterial count and these data showed quite different from Ohta's and White's. The discrepancy of our data to compare with other's might be caused by the differences between criteria of sample selection.

As shown in table of this data, one-half of black-pigmented *Bacteroides* could not identified by biochemical test, further investigation is needed for identifying more completely.