

치면세균막에서 분리한 뮤탄스 연쇄상구균 및 *Streptococcus anginosus*의 수종 항생제에 대한 감수성 조사

국중기^{1,3} · 임상수^{2,3} · 유소영^{1,3} · 황호길^{2,3*}

조선대학교 치과대학 ¹구강생화학교실, ²보존학교실, ³구강생물학연구소

ABSTRACT

ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY IN MUTANS STREPTOCOCCI AND *STREPTOCOCCUS ANGINOSUS* ISOLATED FROM DENTAL PLAQUE

Joong-Ki Kook^{1,3}, Sang-Soo Lim^{2,3}, So Young Yoo^{1,3}, Ho-Keel Hwang^{2,3*}

¹Department of Oral Biochemistry, ²Department of Conservative Dentistry,

³Oral Biology Research Institute, College of Dentistry, Chosun University

The aim of this study was to investigate the susceptibility of mutans streptococci (*S. mutans* and *S. sobrinus*) and *Streptococcus anginosus*, for seven antibiotics, penicillin G, amoxicillin, ciprofloxacin, cefuroxime, erythromycin, bacitracin, and vancomycin. The minimum inhibitory concentration (MIC) of seven antibiotics against 3 species (type strains) of mutans streptococci and *S. anginosus*, 10 strains (wild type) of *S. mutans*, 7 strains (wild type) of *S. sobrinus*, and 11 strains (wild type) of *S. anginosus*, were measured by broth dilution method. All of the type strains of mutans streptococci and *S. anginosus* had the same susceptibility for penicillin G, amoxicillin, cefuroxime and bacitracin. Type strain of *S. anginosus* was sensitive in ciprofloxacin, but those of mutans streptococci were not. All of the clinical isolates of mutans streptococci and *S. anginosus* had the same susceptibility for the seven antibiotics. Our data reveal that mutans streptococci and *S. anginosus* have similar antibiotic-resistant character. In addition, these results may offer the basic data to verify the antibiotic-resistant mechanism of mutans streptococci and *S. anginosus*. [J Kor Acad Cons Dent 29(5):462-469, 2004]

Key words : Antibiotics, Mutans streptococci, *S. anginosus*, Susceptibility

I. 서 론

연쇄상구균 (*Streptococcus*) 종들은 16S ribosomal RNA (rRNA) 유전자 핵산염기서열을 바탕으로 'angi-

nosus', 'mitis', 'mutans', 'salivarius', 'bovis' 및 'pyogenic' 그룹으로 나뉘지는 데¹⁾, *S. anginosus*는 여러 구강 내 감염성 병소에서 빈번하게 검출되고 있었다. 이러한 연쇄상구균들 중 치아우식증의 유발에 관여한다고 알려진 연쇄상구균을 총칭하여 뮤탄스 연쇄상구균 (mutans streptococci)이라고 하고, 사람에서 주로 분리되는 *S. mutans* 및 *S. sobrinus* 종과 동물에서 주로 분리되는 *S. downei*, *S. rattus*, 그리고 *S. cricetus* 등이 알려져 있다²⁾. 최근 이러한 5종의 뮤탄스 연쇄상구균을 dextranase 유전자 핵산염기서열을 바탕으로 중합효소연쇄반응 프라이머를 설계하고, 이들의 반응산물을 *HaeIII* 제한효소로 절단한 다음 이

* Corresponding author: Ho-Keel Hwang

Dept. of Conservative Dentistry, and Oral Biology
Research Institute, College of Dentistry, Chosun Univ.
375 Seo-suk Dong, Dong-Gu, Gwang-ju, Korea, 501-749
Tel : 82-62-220-3846 Fax : 82-62-232-9064
E-mail: rootcanal@hanmail.net

※ 이 논문은 2003년도 조선대학교 연구보조비(국중기) 지원에 의하여 연구되었음.

들의 제한효소절편길이다양성을 전기영동으로 관찰하여 이들을 식별하는 방법이 개발되었다³⁾. 이러한 유전자형에 의한 류탄스 연쇄상구균의 분류이외에도 생화학적 검사에 의한 biotype (생물형)이나, 면역학적 방법을 이용한 serotype (혈청형)으로 류탄스 연쇄상구균을 분류하기도 한다. 현재까지 5가지 생물형 (I-V)과, 8가지 혈청형 (a-h)이 존재하는 것으로 알려져 있다. 또한, 류탄스 연쇄상구균들의 분리 및 동정에 있어서 다른 세균 종들에 비해 선택배지가 잘 발달되어 있는 실정이다. 류탄스 연쇄상구균을 선택적으로 배양하기 위한 여러 선택배지들이 소개되었다⁴⁻⁶⁾. 이들 중 가장 보편적으로 사용되고 있는 것은 mitis-salivarius sucrose bacitracin (MSB) 한천 평판 배지이다⁴⁾. 최근 조선대학교 치과보존학교실과 구강생화학학교실 연구팀은 한국인의 치면세균막에 존재하는 세균 중 류탄스 연쇄상구균에 대한 선택배지인 MSB 한천배지에서 성장할 수 있는 12 균주의 *S. anginosus* 종을 검출하였다⁷⁾. 이러한 발견은 아직까지 발표되지 않은 것이었다. MSB 한천 평판 배지에는 20%의 sucrose와 0.2 unit/ml (5.2 $\mu\text{g/ml}$) 농도의 bacitracin이 함유되어 있다. Bacitracin은 *Bacillus subtilis*에서 산출되는 폴리펩타이드의 혼합물로서 페니실린과 같은 thiazolidine핵을 가지고는 있으나 beta-lactam 환이 없는 구조를 갖는다. Bacitracin은 세균 세포벽 합성을 억제함으로써 항균작용을 하는데, 세포벽의 전단계 물질을 운반하는 lipid pyrophosphate carrier의 이용을 억제함으로써 세포벽 합성을 억제한다. 또한 MSB 한천 평판 배지의 기본이 되는 MS 배지에는 대부분의 그람 음성 간균과 연쇄상구균을 제외한 대부분의 그람 양성 세균의 성장을 억제시킬 수 있는 crystal violet과 potassium tellurite도 함유되어 있어 류탄스 연쇄상구균에 속하는 연쇄상구균과 몇몇 enterococci와 yeast를 제외한 대부분의 세균의 성장을 억제하는 것으로 보고되었다. 그러므로 완전한 류탄스 연쇄상구균에 대한 선택배지의 개발이 치아우식증에 관련된 세균의 연구에 있어서 매우 중요하리라 생각된다.

본 연구에서는 이전 연구에서 MSB 한천배지에서 검출된 류탄스 연쇄상구균들과 *S. anginosus* 균주들의 수중 항생제에 대한 감수성을 조사하고자 한다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 세균 및 세균 배양

본 연구에 사용된 류탄스 연쇄상구균 및 *S. anginosus* 균주들은 Table 1과 같다. 본 실험에 사용한 표준 균주 중 *S. anginosus* ATCC 700231과 *S. mutans* ATCC 27215는 ATCC (American Type Culture Collection, Rockville,

MD, USA)에서, *S. sobrinus* KCTC 3088, *S. downei* KCTC 3634, *S. rattus* KCTC 3655 및 *S. cricetus* KCTC 3640이었으며, 이들은 한국유전자은행 (Korean Collection for Type Culture, KCTC, Daejeon, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 임상에서 분리한 균주들은 조선대학교 치과대학 구강생화학학교실에서 분양받아 사용하였다. 이들 세균들은 20% 자당이 함유된 mitis salivarius-bacitracin (MSB; bacitracin 농도는 0.5 $\mu\text{g/ml}$) 한천 평판 배지에 도말하고, 이를 37℃의 Candle jar에서 48시간 배양하고, 생화학 검사 및 최소성장억제농도를 구하기 위하여 Todd Hewitt broth (TH broth, Difco, Lab., Detroit, MI, USA)에 접종하여 37℃ CO₂ 세균 배양기에서 배양하여 다음의 실험에 사용하였다.

2. 생화학 검사

*S. anginosus*와 류탄스 연쇄상구균 간의 생화학적 특성 차이를 알아보기 위하여, 류탄스 연쇄상구균의 생물형을 결정하기 위하여 이용되는 다음의 생화학 검사를 시행하였다. 이때 류탄스 연쇄상구균의 생물형 판정 기준 (Table 2)은 Shaklair와 Keene^{8,9)}의 방법을 따랐다.

2-1. 당 (mannitol, sorbitol, raffinose 및 melibiose) 분해능 실험

이는 세균이 배지 내에 포함되어 있는 특이 당질을 발효시킬 수 있는 능력을 알아보는 실험이다. Phenol red broth (Difco, Lab., Detroit, Mich. USA)에 mannitol, sorbitol, raffinose 및 melibiose가 각각 1% 포함되도록 넣고, 이를 통상적인 가압멸균한 다음 200 μl 씩 96-well plate에 넣은 다음 24시간 동안 TH broth에서 배양한 20 μl 의 세균 배양액을 각각의 well에 접종하고 이를 48 시간 동안 10% CO₂가 공급되는 37℃ 세균 배양기에서 배양하였다. 이때 노란색일 경우 양성 (+), 오렌지 색 또는 붉은 색을 띠는 경우 음성 (-)으로 판정하였다.

2-2. Arginine의 가수분해능

이는 arginine dihydrolase의 생성여부를 알아보는 실험이다. 먼저 TH broth에서 24시간 류탄스 연쇄상구균을 배양하고, 이들 세균배양액 20 μl 를 0.5% yeast extract, 0.5% tryptone, 0.2% K₂HPO₄, 0.05% dextrose, 0.3% L-arginine hydrochloride가 혼합된 배지 200 μl 에 접종하여 48 시간동안 10% CO₂가 공급되는 37℃ 세균 배양기에서 배양하였다. 여기에 20 μl 의 Nessler solution (5% KI, 2% HgCl₂, 1N NaOH)을 떨어뜨려 짙은 갈색을 띠면 양성 (+), 그렇지 않으면 음성 (-)으로 판정하였다.

Table 1. Bacteria strains used in this study

Species	strains	biotype	
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 27215	I	type strain
<i>S. mutans</i>	ChDC*YM1 (1211)**	I	clinical isolate
<i>S. mutans</i>	ChDC YM3 (2111)	I	clinical isolate
<i>S. mutans</i>	ChDC YM7 (3221)	I	clinical isolate
<i>S. mutans</i>	ChDC YM12 (5246)	I	clinical isolate
<i>S. mutans</i>	ChDC YM25 (14224)	I	clinical isolate
<i>S. mutans</i>	ChDC YM36 (20142)	I	clinical isolate
<i>S. mutans</i>	ChDC YM45 (27117)	I	clinical isolate
<i>S. mutans</i>	ChDC YM69 (41211)	I	clinical isolate
<i>S. mutans</i>	ChDC YM70 (42236)	I	clinical isolate
<i>S. mutans</i>	ChDC YM99 (63211)	I	clinical isolate
<i>Streptococcus sobrinus</i>	KCTC 3088	IV	type strain
<i>S. sobrinus</i>	ChDC YS1 (1111)	IV	clinical isolate
<i>S. sobrinus</i>	ChDC YS2 (57215)	IV	clinical isolate
<i>S. sobrinus</i>	ChDC YS13 (58121)	IV	clinical isolate
<i>S. sobrinus</i>	ChDC YS4 (59242)	IV	clinical isolate
<i>S. sobrinus</i>	ChDC YS6 (40125)	IV	clinical isolate
<i>S. sobrinus</i>	ChDC YS8 (45111)	IV	clinical isolate
<i>S. sobrinus</i>	ChDC YS12 (45135)	IV	clinical isolate
<i>Streptococcus anginosus</i>	ATCC 700231	-	type strain
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA1 (01141)	-	clinical isolate
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA2 (01241)	-	clinical isolate
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA3 (02231)	-	clinical isolate
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA4 (04112)	-	clinical isolate
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA5 (04131)	-	clinical isolate
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA6 (37246)	-	clinical isolate
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA7 (43211)	-	clinical isolate
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA8 (43241)	-	clinical isolate
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA9 (51241)	-	clinical isolate
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA10 (53115)	-	clinical isolate
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA11 (53215-2)	-	clinical isolate
<i>S. anginosus</i>	ChDC YA12 (62111)	-	clinical isolate

*Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

()**Older-name

Table 2. Interpretive table for biotyping of mutans streptococci^{8,9)}

Biotype	Fermentation				Deamination of Arginine
	Mannitol*	Sorbitol	Raffinose	Melibiose	
I	+	+	+	+	-
II	+	+	+	+	+
III	-	+	+	+	-
IV	+	±	-	-	-
V	+	+	+	-	-

*Aerobically at 37°C for 48 h.

3. 항생제 감수성 실험

본 실험에서는 penicillin G, amoxicillin, ciprofloxacin, cefuroxime, erythromycin, bacitracin 및 vancomycin 등 총 7개의 항생제를 씨그마사 (Sigma, St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 여러 항생제에 대한 최소 억제농도 (minimal inhibitory concentration; MIC)는 Murray와 Jorgensen¹⁰⁾의 방법에 따라 액체 배지 희석법으로 측정하였다. 이를 간략히 설명하면, 각각의 항생제의 농도가 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.12, 0 $\mu\text{g/ml}$ 되도록 조절된 0.1 ml의 액체배지에, 450 nm의 파장에 대한 흡광도 (A_{450})가 0.05로 일정하게 현탁된 세균배양액을 각

각 0.1 ml씩 접종하고, 이를 각각의 세균에 최적의 성장 조건에서 48시간 배양한 후 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정한 결과 음성대조군인 세균을 넣지 않은 배지의 흡광도 값과 비교하여 MIC 값으로 결정하였다. 이때 양성대조군으로는 항생제를 넣지 않고 세균 배양액으로 하였다. 이때 항생제에 대한 각각의 세균 균주들의 민감도는 Table 3을 기준으로, 민감도를 결정하였다.

III. 연구결과

1. *S. anginosus*의 당분해능 검사 및 arginine 가수분해반응

20% 자당이 함유된 MSB agar 배지에서 자라난 *S. anginosus*의 뮤탄스 연쇄상구균의 생물형을 결정하는 데 이용되는 생화학 검사를 실시한 결과, 11균주는 뮤탄스 연쇄상구균과 상이한 결과를 보였지만, ChDC YA6균주는 생물형 제IV형과 같은 특성을 갖는 것으로 나타났다 (Table 4). Mannitol을 이용할 수 있는 균주는 ChDC YA2, ChDC YA4 및 ChDC YA6이었으며, Sorbitol을 발효시킬 수 있는 균주는 ChDC YA4였고, Raffinose를 에너지원으로 이용할 수 있는 균주는 ChDC YA3과 ChDC YA4였다. 본 연구에 이용된 대부분의 *S. anginosus* 균주들 중 ChDC YA6 및 ChDC YA7 두 균주를 제외하고, 나머지 모든 균주들은 arginine을 탈아민화시킬 수 있는 능력을 갖고 있었다.

Table 3. Interpretive standards for dilution susceptibility testing¹¹⁾

Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Penicillin G	≤ 0.12	0.25-2	≥ 4
Ampicillin	≤ 0.12	0.25-2	≥ 4
Ciprofloxacin	≤ 1	2	≥ 4
Cefuroxime axetil	≤ 4	8-16	≥ 32
Erythromycin	≤ 0.5	1-4	≥ 8
Bacitracin			≥ 4
Vancomycin	≤ 8		≥ 16

Table 4. Biochemical test of *S. anginosus* isolated on MSB agar

Strain	Fermentation				Deamination of Arginine
	Mannitol*	Sorbitol	Raffinose	Melibiose	
ChDC** YA1	-	-	-	-	+
ChDC YA2	+	-	-	-	+
ChDC YA3	-	-	+	-	+
ChDC YA4	+	+	+	-	+
ChDC YA5	-	-	-	-	+
ChDC YA7	-	-	-	-	-
ChDC YA8	-	-	-	-	+
ChDC YA9	-	-	-	-	+
ChDC YA10	-	-	-	-	+
ChDC YA11	-	-	-	-	+
ChDC YA12	-	-	-	-	+

*Aerobically at 37°C for 48 h.

**Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University

2. 뮤탄스 연쇄상구균 및 *S. anginosus* 균주들의 항생제에 대한 최소성장억제농도

한국인의 구강 내에서 분리 동정된 뮤탄스 연쇄상구균과 *S. anginosus*의 표준 균주 및 임상 분류 균주들의 7종의 항생제에 대한 최소성장억제농도를 구한 결과 (Table 5),

뮤탄스 연쇄상구균의 표준균주들은 penicillin G, amoxicillin 및 cefuroxime에 감수성을 보였고, ciprofloxacin과 bacitracin에 내성을 보였다. *S. anginosus* ATCC 700231 균주들은 뮤탄스 연쇄상구균 표준균주들과 같이 penicillin G, amoxicillin에 감수성을 보였지만, ciprofloxacin에 감수성을, erythromycin에는 내성을 보였

Table 5. Minimum inhibitory concentration of antibiotics against mutans streptococci and *S. anginosus*

Strains	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)						
	PEN ¹	AMX ²	CIP ³	CMX ⁴	ERY ⁵	BAC ⁶	VAN ⁷
<i>S. anginosus</i>							
ATCC 700231	≤ 0.12	≤ 0.12	1	≤ 0.5	16	> 64	4
ChDC YA1	≤ 0.12	≤ 0.12	2	≤ 0.5	≤ 0.5	64	32
ChDC YA2	≤ 0.12	≤ 0.12	16	≤ 0.5	≤ 0.5	> 64	32
ChDC YA3	≤ 0.12	≤ 0.12	4	≤ 0.5	≤ 0.5	> 64	32
ChDC YA4	≤ 0.12	≤ 0.12	4	≤ 0.5	1	> 64	16
ChDC YA5	≤ 0.12	≤ 0.12	4	≤ 0.5	≤ 0.5	64	32
ChDC YA6	≤ 0.12	≤ 0.12	4	≤ 0.5	≤ 0.5	> 64	16
ChDC YA7	≤ 0.12	≤ 0.12	2	≤ 0.5	≤ 0.5	64	16
ChDC YA8	≤ 0.12	≤ 0.12	2	≤ 0.5	≤ 0.5	> 64	16
ChDC YA9	≤ 0.12	≤ 0.12	0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	> 64	32
ChDC YA10	≤ 0.12	≤ 0.12	4	≤ 0.5	≤ 0.5	> 64	16
ChDC YA11	≤ 0.12	≤ 0.12	4	≤ 0.5	1	> 64	16
ChDC YA12	≤ 0.12	≤ 0.12	4	≤ 0.5	≤ 0.5	> 64	16
<i>S. mutans</i>							
ATCC 27215	≤ 0.12	≤ 0.12	8	≤ 0.5	1	> 64	32
ChDC YM1	≤ 0.12	≤ 0.12	2	≤ 0.5	1	> 64	16
ChDC YM3	≤ 0.12	≤ 0.12	2	≤ 0.5	1	> 64	8
ChDC YM7	≤ 0.12	≤ 0.12	1	≤ 0.5	0.5	> 64	32
ChDC YM12	≤ 0.12	≤ 0.12	2	≤ 0.5	1	> 64	32
ChDC YM25	> 64	> 64	0.5	16	> 64	> 64	> 64
ChDC YM36	≤ 0.12	≤ 0.12	8	1	≤ 0.5	> 64	> 64
ChDC YM45	≤ 0.12	≤ 0.12	8	≤ 0.5	1	64	16
ChDC YM69	≤ 0.12	≤ 0.12	4	≤ 0.5	1	> 64	32
ChDC YM70	≤ 0.12	≤ 0.12	8	≤ 0.5	1	> 64	64
ChDC YM99	≤ 0.12	≤ 0.12	8	≤ 0.5	1	> 64	16
<i>S. sobrinus</i>							
KCTC 3088	≤ 0.12	≤ 0.12	16	≤ 0.5	≤ 0.5	64	8
ChDC YS1	≤ 0.12	≤ 0.12	8	≤ 0.5	1	> 64	8
ChDC YS2	≤ 0.12	≤ 0.12	2	≤ 0.5	≤ 0.5	32	8
ChDC YS13	≤ 0.12	≤ 0.12	4	1	≤ 0.5	> 64	64
ChDC YS4	≤ 0.12	≤ 0.12	4	≤ 0.5	≤ 0.5	16	16
ChDC YS6	≤ 0.12	≤ 0.12	16	≤ 0.5	≤ 0.5	64	16
ChDC YS8	≤ 0.12	≤ 0.12	16	≤ 0.5	≤ 0.5	64	16
ChDC YS12	≤ 0.12	≤ 0.12	8	≤ 0.5	≤ 0.5	> 64	16

¹Penicillin G, ²Amoxicillin, ³Ciprofloxacin, ⁴Cefuroxime, ⁵Erythromycin, ⁶Bacitracin, ⁷Vancomycin

다. *S. anginosus*의 경우 표준균주와는 달리 한국인에서 분리된 임상균주들은 erythromycin에 감수성을 보였다. 그러나 ciprofloxacin에 대한 내성 정도는 균주에 따라 달랐다. 한국인에서 분리 동정된 *S. mutans* 임상균주의 경우 *S. mutans* ChDC YM25 균주를 제외한 모든 균주가 penicillin G, amoxicillin, cefuroxime 및 erythromycin에서 감수성을 갖었다. 하지만, ciprofloxacin과 vancomycin에 대해서는 균주에 따라 감수성을 갖는 균주와 내성을 갖은 균주가 존재하였다. *S. sobrinus*의 경우도 임상 분리 균주들은 *S. mutans*와 같이 penicillin G, amoxicillin, cefuroxime 및 erythromycin에서 감수성을 갖었다. 또한, *S. sobrinus* ChDC YS2를 제외하고는 ciprofloxacin에 내성을 갖었고, ChDC YS2도 중간정도의 내성을 보였다.

IV. 총괄 및 고안

본 연구에서 한국인의 구강에서 분리 동정된 뮤탄스 연쇄상구균과 *S. anginosus* 균주와 각각의 표준균주에 대한 7종의 항생제에 대한 최소성장억제농도를 구한 결과 각각의 항생제에 대한 반응이 뮤탄스 연쇄상구균과 *S. anginosus* 균주들 간에 서로 비슷함을 알 수 있었다. 특히, penicillin과 amoxicillin, cefuroxime, bacitracin에 대한 감수성은 *S. mutans* ChDC YM25 균주를 제외하고는 모두 동일하였다. 이러한 결과는 Băncescu 등¹²⁾이 구강 및 악안면 감염 병소에서 *anginosus* 그룹의 연쇄상구균을 검출하고, 이들의 여러 항생제에 대한 내성 검사를 실시한 결과 대부분의 beta-lactam antibiotic에 대하여 감수성을 보였다는 보고와 일치하였다. 하지만, Băncescu 등¹²⁾의 보고에서 vancomycin에 대해 모든 세균이 감수성을 보였다고 보고하였지만, 본 연구의 결과 한국인 구강에서 분리 동정된 모든 *S. anginosus* 균주들은 vancomycin에 내성을 보였다 (Table 5). 이는 vancomycin에 감수성을 갖는 *S. anginosus*가 분리된 사람의 구강 내에는 다른 종의 그람양성 세균들도 vancomycin에 내성을 가질 수 있다는 것을 암시한다. 왜냐하면, 일반적으로 세균의 염색체 유전자 변이나, plasmids^{13,14)} 또는 transposons¹⁵⁾에 매개되는 내성 유전자가 다른 세균 종에 전달될 수 있기 때문이다. 특정 항생제에 대한 내성유전자에는 beta-lactamase¹⁶⁻¹⁹⁾나, aminoglycoside acetyltransferase^{20,21)}와 같은 효소나, 세포 내로 유입된 항생제 (리보솜의 단백질 생성을 저해하는 tetracycline이나 macrolide이나 DNA gyrase의 활성을 억제하는 quinolone계)를 능동적으로 세포 외로 유출하여 내성을 획득하는 다제내성 펌프 (multidrug resistance pump, MDR) 단백질 등이 있다²²⁻²⁴⁾. 본 연구에서 *S. mutans*

ChDC YM25 균주의 경우 ciprofloxacin을 제외한 모든 항생제에 대해 내성을 보였는데, 본 연구결과만으로는 어떠한 기전으로 그러한 현상을 보이는지 알 수는 없지만, 다제내성 펌프 유전자에 의한 것일 수 있고, 이들 유전자들이 conjugation plasmids나 transposons에 의해 여러 세균 종에 transfer되었을 가능성이 있는 것으로 사료된다. 이러한 내성 기전을 증명하기 위하여, 차후에 다제내성 펌프 유전자의 존재 유무를 분자생물학적 방법 (중합효소연쇄반응법)으로 알아보고자 한다.

최근 Siqueira 등²⁵⁾은 *S. anginosus*가 치근관 병소의 12%에서 검출됨을 보고하여 치근관 감염과의 관련성이 있음을 보고하였다. 이와 더불어서 *S. anginosus*가 두경부 및 목의 squamous cell carcinoma의 발생 및 진행에 영향을 미칠 것이라는 보고도 있었다^{26,27)}. 그리고 김 등²⁸⁾의 보고에 의하면, 발치와에 발생한 악골골수염 병소 부위에서도 *S. anginosus*가 분리 동정되었다. 이러한 연구결과들을 종합해 볼 때, *S. anginosus*는 구강 내 여러 감염성 질환 및 암종의 발생 및 진행 과정에서 연관이 있을 것으로 사료되며, 이를 증명하는 연구가 차후에 진행되어야 할 것으로 생각된다. 그러기 위해서 먼저 여러 구강 내 감염성 질환 및 암종에서 *S. anginosus*의 검출을 위한 신속하고 정확한 방법이 개발되어야 할 것이고, 이를 바탕으로 역학조사를 시행하고, 각 병소에서 *S. anginosus* 균주를 분리 동정하여 실험실 및 동물 실험을 통한 병인론 연구가 이루어져야 할 것이다.

이상의 결과를 종합할 때, 본 연구에서는 *S. anginosus*와 뮤탄스 연쇄상구균 세균들 간의 항생제 내성에 대한 특성이 비슷함을 알 수 있었고, 이러한 결과를 바탕으로 차후 뮤탄스 연쇄상구균에 대한 선택배지 개발 또는 이들 세균들의 항생제 내성 기전을 연구하는 기초 자료로 활용 가능하리라 생각된다.

V. 결 론

뮤탄스 연쇄상구균을 선택적으로 배양할 수 있다고 알려진 20% 자당이 함유된 MSB 한천배지에서 분리 동정된 뮤탄스 연쇄상구균 및 *S. anginosus* 균주들의 7종 항생제 (penicillin G, amoxicillin, ciprofloxacin, cefuroxime, erythromycin, bacitracin, vancomycin)에 대한 감수성을 조사하여 다음과 같은 연구결과를 얻었다.

1. 뮤탄스 연쇄상구균과 *S. anginosus*의 표준균주들은 penicillin G, amoxicillin, cefuroxime 및 bacitracin에 대한 감수성은 같았다. 하지만, ciprofloxacin에는 뮤탄스 연쇄상구균은 내성을 갖었고, *S. anginosus* 표준균주는 감수성을 보였다.

2. 뮤탄스 연쇄상구균과 *S. anginosus*의 임상분리균주들의 7종 항생제에 대한 내성유무를 조사한 결과, 이들 두 세균 중을 선택적으로 분리 배양하는 데 사용할 수 있는 항생제는 없는 것으로 조사되었다.

이상의 결과를 종합할 때, 본 연구에서는 뮤탄스 연쇄상구균과 *S. anginosus* 균주들 간의 항생제 내성에 대한 특성이 비슷함을 알 수 있었고, 이러한 결과를 바탕으로 차후 뮤탄스 연쇄상구균에 대한 선택배지 개발 또는 이들 세균들의 항생제 내성 기전을 연구하는 기초 자료로 활용 가능하리라 생각된다.

참고문헌

1. Ruoff KL, Whiley RA, Beighton D. *Streptococcus*. In: Murray ER, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC and Tenover RH (Eds.), Manual of CLINICAL MICROBIOLOGY, 7th Ed. ASM press. Washington, p283-296, 1999.
2. Whiley RA, Beighton D. Current classification of the oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol* 13:195-216, 1998.
3. Igarashi T, Ichikawa K, Yamamoto A, Goto N. Identification of mutans streptococcal species by the PCR products of the dex genes. *J Microbiol Methods* 46:99-105, 2001.
4. Gold OG, Jordan HV, van Houte J. A selective medium for the isolation of *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol* 18:1357-1364, 1973.
5. Little WA, Korts DC, Thomson LA, Bowen WH. Comparative recovery of *Streptococcus mutans* on ten isolation media. *J Clin Microbiol* 5(6):578-583, 1977.
6. Tanzer JM, Borjesson AC, Laskowski L, Kurasz AB, Testa M. Glucose-sucrose-potassium tellurite-bacitracin agar, an alternative to mitis salivarius- bacitracin agar for enumeration of *Streptococcus mutans*. *J Clin Microbiol* 20(4):653-659, 1984.
7. Kim PS, Hwang HK, Kim H-S, Lim S-A, Kang HY, Yoo SY, Kook J-K. Identification of non-mutans streptococci growing on Mitis-Salivarius Bacitracin agar medium. *J Dent Res* 82(Special issue B):B-351, 2003.
8. Shklair IL, Keene HJ. A biochemical scheme for the separation of the five varieties of *Streptococcus mutans*. *Archs Oral Biol* 19:1079-1081, 1974.
9. Shklair IL, Keene HJ. Biochemical characterization and distribution of *Streptococcus mutans* in three diverse populations. In: Stiles HM, Loesche WJ, O'Brien TC (Eds.), Microbial aspects of dental caries. Information Retrieval Inc., Washington, D.D. p201-210, 1976.
10. Murray PR, Jorgensen JH. Quantitative susceptibility test methods in major united states medical center. *Antimicrob Agents Chemother* 20(1):66-70, 1981.
11. Jorgensen JH, Turnidge JD, Washington A. Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. In: Murray ER, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (Eds.), Manual of CLINICAL MICROBIOLOGY, 7th Ed. ASM press. Washington, p1526-1543, 1999.
12. Băncescu G, Skaug N, Dumitriu S, Băncescu A. Antimicrobial susceptibility of some streptococci strains of anginosus group isolated from oral and maxillofacial infections. *Roum Arch Microbiol Immunol* 58(1):57-63, 1999.
13. Horii T, Arakawa Y, Ohta M, Ichiyama S, Wacharotayankun R, Kato N. Plasmid-mediated AmpC-type beta-lactamase isolated from *Klebsiella pneumoniae* confers resistance to broad-spectrum beta-lactams, including moxalactam. *Antimicrob Agents Chemother* 37(5):984-990, 1993.
14. Cloeckeaert A, Baucheron S, Flaujac G, Schwarz S, Kehrenberg C, Martel JL, Chaslus-Dancla E. Plasmid-mediated florfenicol resistance encoded by the *floR* gene in *Escherichia coli* isolated from cattle. *Antimicrob Agents Chemother* 44(10):2858-2860, 2000.
15. Simjee S, White DG, McDermott PF, Wagner DD, Zervos MJ, Donabedian SM, English LL, Hayes JR, Walker RD. Characterization of *Tn1546* in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from canine urinary tract infections: evidence of gene exchange between human and animal enterococci. *J Clin Microbiol* 40(12):4659-4665, 2002.
16. Bauernfeind A, Wagner S, Jungwirth R, Schneider I, Meyer D. A novel class C beta-lactamase(FOX-2) in *Escherichia coli* conferring resistance to cephamycins. *Antimicrob Agents Chemother* 41(9):2041-2046, 1997.
17. Nelson EC, Elisha BG. Molecular basis of AmpC hyperproduction in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 43(4):957-959, 1999.
18. Bonnet R, Chanal C, Ageron E, Sirot D, De Champs C, Grimont P, Sirot J. Inducible AmpC beta-lactamase of a new member Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 46(10):3316-3319, 2002.
19. Petrosino JF, Pendleton AR, Weiner JH, Rosenberg SM. Chromosomal system for studying AmpC-mediated beta-lactam resistance mutation in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 46(5):1535-1539, 2002.
20. Noguchi N, Emura A, Matsuyama H, O'Hara K, Sasatsu M, Kono M. Nucleotide sequence and characterization of erythromycin resistance determinant that encodes macrolide 2'-phosphotransferase I in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 39(10):2359-2363, 1995.
21. van Bostel RA, van de Klundert JA. Expression of the *Pseudomonas aeruginosa* gentamicin resistance gene *aacC3* in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 42(12):3173-3178, 1998.
22. Gotoh N, Tsujimoto H, Poole K, Yamagishi J, Nishino T. The outer membrane protein OprM of *Pseudomonas aeruginosa* is encoded by oprK of the mexA-mexB-oprK multidrug resistance operon. *Antimicrob Agents Chemother* 39(11):2567-2569, 1995.
23. Mitchell BA, Brown MH, Skurray RA. QacA multidrug efflux pump from *Staphylococcus aureus*: comparative analysis of resistance to diamidines, biguanidines, and guanilylhydrazones. *Antimicrob Agents Chemother* 42(2):475-477, 1998.
24. Kaatz GW, Seo SM, O'Brien L, Wahiduzzaman M, Foster TJ. Evidence for the existence of a multidrug efflux transporter distinct from NorA in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 44(5):1404-1406, 2000.
25. Siqueira JF, Rocas IN, Moraes SR, Santos KR. Direct

- amplification of rRNA gene sequences for identification of selected oral pathogens in root canal infections. *Int Endod J* 35(4):345-351, 2002.
26. Tateda M, Shiga K, Saijo S, Sone M, Hori T, Yokoyama J, Matsuura K, Takasaka T, Miyagi T. *Streptococcus anginosus* in head and neck squamous cell carcinoma: implication in carcinogenesis. *Int J Mol Med* 6(6):699-703, 2000.
27. Shiga K, Tateda M, Saijo S, Hori T, Sato I, Tateno H, Matsuura K, Takasaka T, Miyagi T. Presence of *Streptococcus* infection in extra-oropharyngeal head and neck squamous cell carcinoma and its implication in carcinogenesis. *Oncol Rep* 8(2):245-248, 2001.
28. 김미성, 김수관, 정해만, 김생곤, 국중기, 김미광, 김화숙, 유소영. 분자생물학적 기법을 이용한 악골골수염 병소의 세균 동정. *대한구강악안면외과학회* 29(1):48-55, 2003.