

## 근관감염세균의 분포에 관한 연구

김승윤 · 최호영 · 박상혁 · 최기운\*  
 경희대학교 대학원 치의학과 치과보존학교실

## ABSTRACT

### DISTRIBUTION OF ORAL PATHOGENS IN INFECTIONS OF ENDODONTIC ORIGIN

Seung-Yoon Kim, Ho-Young Choi, Sang-Hyuk Park, Gi-Woon Choi\*

*Department of Conservative Dentistry, Division of Dentistry, Graduate School Kyung-Hee University.*

It has been documented that periodontopathic bacteria are also implicated in endodontic infections. 16S rDNA gene-directed PCR was to examine the prevalence of periodontopathic bacteria including *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*Aa*), *Prevotella intermedia* (*Pi*), *Prevotella nigrescens* (*Pn*), *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Porphyromonas endodontalis* (*Pe*), and *Treponema denticola* (*Td*) in the root canals of 36 endodontically infected teeth having apical lesions with or without clinical symptoms like pain, swelling, and fistula.

1. In 36 infected root canals, most frequently detected bacterial species was *Pg* (61.1%), followed by *Td* (52.8%) and *Pe* (38.9%).
2. Of 36 infected root canals, *Aa* was detected in 6 canals (16.7%) of the teeth, all of which showed clinical symptoms.
3. Of 36 infected root canals, *Pi* and *Pn* were found in 4 (13.9%) and 5 (33.3%), respectively. Notably, prevalence of *Pn* in the symptomatic teeth was 50.0%.
4. One of black-pigmented anaerobic bacteria (BPB) including *Pi*, *Pn*, *Pe*, and *Pg* was detected in all of the teeth that showed pain or especially swelling but not fistula. It was, however, found that prevalence of BPB in the asymptomatic teeth or the teeth with fistula was only 40%.
5. *Pe* and *Pg* were detected in the teeth regardless of the presence or absence of symptoms.
6. *Td* was detected in the teeth regardless of the presence or absence of symptoms.

High prevalence of BPB in the symptomatic teeth but low in the asymptomatic teeth suggests that BPB may play an important role in the pathogenesis of periapical lesions.

**Key words** : PCR, BPB, infection, clinical symptom, periapical lesion, root canal

## I. 서 론

치근단 병소를 동반하는 치수질환의 발생에 미생물이 중요한 역할을 하며, 대부분은 세균 감염에 의해 야기된다<sup>1)</sup>. 일반적으로 생활력이 있는 치수는 무균상태를 유지하지만 치수는 다양한 원인에 의해 세균 감염에 노출된다. 세균 감염이 아닌 또 다른 원인에 의해 치수가 파괴되면 치수가 괴

사되고 곧 세균감염이 활발히 일어난다<sup>2)</sup>. 세균에 감염되면 세균으로부터 유리되는 물질에 의해 조직의 파괴가 야기될 수 있고 동시에 이들 세균 물질이 인체의 방어기전을 자극함으로써 이차적으로 조직파괴가 심하게 유도될 수 있어 치근단 병소 형성에 중요한 원인으로 작용한다<sup>3)</sup>. 세균이 존재할 경우 치근단 병소가 지속될 수 있기 때문에 근관치료를 끝내기 전 근관으로부터 세균을 완전히 제거했는지 근관

치료의 성공을 좌우한다<sup>4)</sup>.

근관감염에서 세균의 분포는 매우 역동적으로 나타나 감염시간 또는 감염진행 경과에 따라 그 세균분포의 변화는 일정한 양상을 나타낸다. 즉 감염 초기에는 통성세균인 streptococci나 enterococci등이 주로 나타나지만 치수가 과사되면 근관이 보다 혐기적으로 변하며 치근단 부위에서는 혐기성 세균이 크게 증가한다<sup>2,5)</sup>. 1970년대 초반까지만 해도 초기감염균들만이 주로 배양 가능하여 이들 세균이 근관감염 시 중요한 원인균으로 인식되었다. 그러나 70년대 후반부터 세균배양법이 크게 발전하면서 근관감염과 연관되어 있는 중요 세균종이 새로이 밝혀졌다. 1976년, Sundqvist<sup>6)</sup>는 근관감염 시 혐기성 세균이 많이 발견되었고 이들 혐기성 세균이 근관감염 시에 중요한 역할을 할 것이라고 시사하였다.

과사치수조직 내에는 혐기성 세균이 전체 배양분리균의 70~95%를 차지하고 있다<sup>5,7,8)</sup>. 한편 진행된 감염근관 내에서 발견되는 세균의 종류는 극히 제한되어 있으며 이들 혐기성 세균의 대부분은 흑색의 집락을 형성하는 소위 "black-pigmented anaerobic rods"로 밝혀졌다. 이 중에서도 *Porphyromonas*와 *Prevotella*속(genus)에 속하는 세균이 대종을 이루고 있는 것으로 관찰되었다<sup>5,9,10)</sup>. 특히 *Porphyromonas endodontalis*는 근관감염과 관련된 부위에서만 발견되는 독특한 세균종으로 밝혀졌다<sup>11)</sup>. 일련의 많은 연구들은 *Porphyromonas gingivalis*와 *P. endodontalis*가 근관감염과 치근단 병소와 관련하여 나타나는 주요 세균종이라고 제시하고 있다<sup>5,9,12,13)</sup>. 즉 근관감염의 결과로 유발된 농양에서 이 두 세균이 중요한 역할을 하는 등<sup>5,8,10,13,14)</sup> *P. gingivalis*와 *P. endodontalis*의 근관 내 출현은 임상적 증상과 관련되어 중요한 의미를 갖는 것으로 알려져 있다. Sundqvist<sup>6)</sup>는 흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균은 동통을 동반하는 근관감염과 관련성이 있다고 최초로 보고하였다. 이후 많은 연구들이 *P. gingivalis*와 *P. endodontalis*는 근관감염과 치근단 치주염의 동통과 깊은 연관성이 있음을 입증하였다<sup>5,9,15-17)</sup>. 또한 이 두 세균은 급성감염과도 관련해서 나타나는 것으로 알려지고 있다<sup>5,9,14)</sup>. *P. gingivalis*와 *P. endodontalis*가 어떻게 급성, 동통성 근관 및 치근단 감염과 관련해서 나타나는지에 대한 학설은 정립되어 있지 않으나 Hahn 등<sup>18)</sup>과 Hashioka 등<sup>19)</sup>은 동통성 근관감염의 확산은 이들 세균이 생산하는 분해효소와 관련이 있을 것이라고 보고하였다. *Prevotella intermedia*와 *Prevotella nigrescens*는 감염근관에서 발견되는 흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균 중에서 큰 비중을 차지하는 것으로 보고되고 있다<sup>8,10)</sup>. 통증이 있는 근관의 64%에서 *Prevotella sp.*가 나타나고<sup>20,21)</sup> 근관감염으로 유래된 농양부위에서 *Porphyromonas*와 더불어 *Prevotella*가 발견되긴 하지만<sup>8)</sup> *Pr. intermedia*와 *Pr. nigrescens*는 임상 증상이 없는 근

관감염에서도 많이 발견되고 있어<sup>10,14)</sup> 근관감염에서 그 의미가 아직은 분명하지 않다.

세균배양법이 발전하여 감염근관으로부터 350여종의 세균이 분리, 동정되었으나 현재 가능한 배양법으로는 배양이 까다로운 세균을 분리하고 동정하기에는 한계가 있어 실제 존재하는 세균의 0.001-15%만이 배양이 가능하다<sup>22-24)</sup>. 따라서 근관내 감염에 중요한 원인균종이 배양법에 의해서는 발견되지 않을 수 있으며, 이러한 배양법은 세균의 분리, 동정에 시간, 노력 및 비용이 많이 드는 단점이 있다. 이 같은 배양법을 보완, 보충하기 위해 1990년대 이후 다양한 분자유전학적기술, 즉 checkerboard DNA:DNA hybridization<sup>25)</sup>, real time-PCR<sup>26)</sup>, 16S rRNA(DNA)gene-directed PCR<sup>27,28)</sup>등을 이용한 동정법이 도입되어 그 동안 배양이 까다로워 쉽게 배양, 분리되지 못했거나 분리된 적이 없는 세균종이 발견됨으로써 근관감염에서 세균분포에 대한 새로운 식견을 갖게 되었다. 특히 16S rRNA gene-directed PCR은 세균종-특이 primer만 있어도 PCR방법으로 짧은 시간에 원하는 유전자의 특정부위를 다중 복사(multiple copies)가 가능하기 때문에 같은 세균이 시료 내에 25-50개 정도만 존재하더라도 검출이 가능하여<sup>29,30)</sup> 최근 근관감염을 비롯한 다양한 감염질환의 세균동정에 이용되고 있다. 16S rRNA는 모든 세균에 존재하고 있어 세균의 분류법에서 gold standard로 사용되고 있다. 16S rRNA 염기서열의 일부는 모든 세균에 공통적으로 존재하고 또 다른 일부는 세균종에 따라 독특하게 나타난다. 세균종마다 다른 이 부위를 PCR방법으로 증폭시킴으로써 배양할 필요없이 적은 양의 시료만으로도 동정이 가능하게 된다.

Conrads 등<sup>31)</sup>은 1997년 16S rDNA gene-directed PCR를 이용하여 치주질환환자에서만 발견되던 배양이 까다로운 *Bacteroides forsythus*를 처음으로 근관감염질환에서 발견하였다. 그 후 Goncalves와 Mouton<sup>32)</sup>도 감염근관에서 *B. forsythus*가 60% 전후의 이환율을 보인다고 보고하였다. 한편 또 다른 치주질환 원인균인 *Treponema denticola*도 16S rRNA gene-directed PCR방법을 통해 2000년 처음으로 Siqueira 등<sup>33)</sup>에 의해 52% 감염근관에서 검출하였다. 같은 PCR방법을 통해 *T. denticola*는 급성 periradicular abscess의 경우 50%의 이환율을 보이는 것으로 확인되어<sup>34,35)</sup> *T. denticola*는 근관감염 관련 질환의 발병기전에 중요한 역할을 하는 것으로 추측된다.

상기 시사한 바와 같이 16S rRNA gene-directed PCR 방법을 배양이 불가능했던 세균의 동정이 가능해지면서 최근 치주질환에서 발견되는 다양한 중요 원인균들이 모든 형태의 근관감염에서도 발견되는 것이 일반적인 사실로 받아들여짐으로써<sup>36)</sup> 근관감염 이해에 새로운 전기가 마련되고 있다. Socransky 등<sup>37)</sup>은 1998년 치주염의 심도와 연관성이 있으며 많은 경우 함께 나타나는 세균군을 "red complex"

라고 명명하였다. Rocas 등<sup>38)</sup>은 치근단 병변을 갖고 있는 괴사치수에서 “red complex”에 속하는 세균종이 1개 이상 발견되는 경우가 66%, “red complex”로 함께 나타나는 경우는 8%라고 보고하였다. 실제 Sunde 등<sup>39)</sup>은 치주술식과정이나 기타 자극으로 치주낭으로부터 시작된 일시적인 균혈증이 유도되고, 이로 인해 세균이 주변에 있는 증상이 없는 치근단 치주염 치아의 치근단 주변 조직에 침투할 수 있음을 관찰하였다. 반면, 근관감염이 치주염에 영향을 미칠 수 있는 것으로 나타나는 등<sup>40,41)</sup> 결과적으로 같은 세균이 치주질환과 근관감염에 밀접한 연관성을 갖고 나타날 수 있다는 가능성을 시사하고 있다.

극히 미량의 세균도 검출이 가능한 16S rRNA gene-directed PCR을 통해 근관감염시 세균분포와 임상적 의의에 관한 기존의 인식에 많은 변화와 함께 새로운 발견과 견해가 생겨나고 있다. 예를 들어 폐쇄성 치근단 병소에는 *P. endodontalis* 뿐만 아니라 다른 흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균도 나타나지 않는 것이 관찰되었다<sup>30)</sup>. 한편 *P. gingivalis*와 *P. endodontalis*의 임상증상과의 관련성에 관한 견해도 많은 변화가 있다. 즉, Baumgartner 등<sup>42)</sup>은 치근단 치주염을 동반한 치수괴사의 세균분포를 조사한 결과, 흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균은 임상적 징후나 증상과 연관성이 없다고 보고하였고, Fouad 등<sup>43)</sup>은 치수괴사 내 *P. gingivalis*의 출현은 임상증상과 뚜렷한 연관성이 없음을 관찰하였다. Rocas 등<sup>38)</sup>도 치근단 주변 병변을 갖는 치수괴사에서 발견되는 “red complex”는 단독 또는 함께 출현하는 여부와 관계없이 어느 특정 임상증상과 연관성이 없다고 보고하였다. 한편 Siqueira 등<sup>34,44)</sup>은 감염근관에서 *P. endodontalis*, *P. gingivalis*가 가장 많이 나타나고 특히 급성 치근단 농양에서는 *P. endodontalis*가 나타나는 경우는 70~80%, *P. gingivalis*는 40%가 나타나지만 급성 농양증상이 동반되지 않은 괴사치수에서도 발견하였기 때문에 이 두 세균과 임상증상 간에 뚜렷한 연관성은 찾기 어려운 것으로 생각된다. Machado 등<sup>45)</sup>도 *P. endodontalis*가 증상이 있는 치근단 농양에 많이 나타나지만 증상이 없는 치근단 병소에도 비교적 많이 나타나기 때문에, *P. endodontalis* 존재의 의미에 대한 면밀한 검토가 필요한 것으로 지적하였다. 한편 특징적으로 농양시료에서는 *P. gingivalis*가 언제나 *P. endodontalis*와 함께 나타나는 것으로 보고되고 있다<sup>34,44)</sup>.

브라질에서 감염근관을 대상으로 16S rRNA gene-directed PCR방법으로 조사한 결과 *T. denticola*는 임상증상과 연관성있게 나타나는 것은 아니지만 임상증상 유무에 관계없이 살펴봤을 때 42~52%의 높은 이환율을 보였다<sup>33-35)</sup>. 그러나 국내에서 감염근관을 조사한 Jung 등<sup>27)</sup>은 *T. denticola*가 전혀 검출되지 않은 반면, 새로운 treponemes이 나타난다고 보고하였다.

상기 사실들은 근관감염 세균의 분포 또는 이환율이 인종 또는 지역에 따라 달라질 수 있음을 시사하는 것으로 생각된다. 앞서 기술한 16S rRNA gene-directed PCR에 의한 감염근관 내 세균조사는 주로 브라질, 미국지역에 이루어진 데 반해 배양법에 의한 세균조사는 주로 북유럽국가 지역에서 이루어졌기 때문에 상반되는 결과의 원인이 조사방법 때문일 수도 있지만 인종, 지역 등에 의한 차이 때문이라는 가능성을 배제할 수 없다. 한편 배양법에 의해서 다양한 근관감염에서 자주 발견되던 *Pr. intermedia*나 *Pr. nigrescens*가 미국인을 대상으로한 치근단 치주염을 동반한 치수괴사치아 내에서는 높은 이환율(각각 36, 55%)을 보이지만 같은 미국인을 대상으로한 폐쇄성 치근단 주변 병소에서는 나타나지 않았었다<sup>30)</sup>. 그러나 브라질인을 대상으로 급성 periradicular abscess에서 채취한 농에서는 *Pr. intermedia*는 10%, *Pr. nigrescens*는 전혀 검출되지 않았다<sup>34,44)</sup>. 한편 Siqueira 등<sup>34)</sup>은 브라질인을 대상으로 또 하나의 중요한 치주질환 원인세균인 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*를 조사한 결과, 치근단 농양에서는 전혀 검출되지 않았으나 Norway인을 대상으로한 Sunde 등<sup>39)</sup>은 치근단 치주염에 *A. actinomycetemcomitans*가 60%의 이환율을 보인다고 보고하였다. 따라서, 국가, 지역, 및 인종의 차이와 함께 근관감염의 종류에 따라 세균이 다르게 나타날 수 있다는 기존의 사실은 그대로 유효할 수 있는 가능성은 남아있다.

이와 같이 특정세균의 출현과 근관감염의 연관성이 정립되지 않은 상황에서 한국인이란 새로운 집단을 대상으로 근관감염의 종류 또는 증상에 따른 중요 근관감염질환 원인균의 이환율을 조사하는 것은 매우 의미 있는 일이라고 생각된다.

이 연구는 치근단 병소를 갖고 있는 치아를 대상으로 종창이나 동통의 임상증상을 갖는 치의 유무에 따라 16S rDNA gene-directed PCR방법으로 *A. actinomycetemcomitans*, *Pr. intermedia*, *Pr. nigrescens*, *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *T. denticola*의 이환율을 조사하여 유의한 결과를 얻어 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 시료 채취

#### 1) 환자

경희대학교 치과대학 부속치과병원 보존과에 내원한 환자 중에서 문진, 촉진 및 방사선 촬영을 통해 치근단 병소를 갖고 있는 것으로 진단된 환자 중 전신질환이 없고 최근 3개월간 항생제 복용 또는 구강 내에서 항생, 항균물질의 국소도포 병력이 없는 환자를 선별하였다. 이들 환자에서 이전

에 근관치료를 받지 않은 치아를 대상으로 하여 22~59세 남자 14명, 18~65세 여자 22명 등 총 36명의 환자를 선택하였고 시료채취 당시 대상치아의 동통, 종창, 누공의 존재여부를 기록하였다.

2) 시료채취

36명 환자의 대상치아를 pumice로 세척하고 rubber dam을 장착하였다. 치아와 그 치아 주위를 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 세척하고, 다시 5% iodine tincture로 소독하고 나서 5% sodium thiosulfate 용액으로 iodine을 불활성화 시켰다. 그 후 소독된 bur로 개방와동을 형성한 다음 치수강을 제외한 치아와 rubber dam 부위를 위와 동일한 방법으로 세척하였다. 근관 내에 멸균된 생리식염수를 넘치지 않게 주입하고 근관 내에서 기구를 조작하면서 file이나 paper point로 근관 내용물을 묻혀 멸균된 인산완충생리식염수(PBS)에 옮긴 다음 DNA를 추출하기 위해 즉시 실험실에 수송하였다. 누공에서 시료를 채취할 경우에는 우선 구강점막을 2% chlorhexidine으로 소독한 다음 멸균된 주사기로 놓을 흡입하였다.

2. 16S rDNA gene-directed polymerase chain reaction (PCR)

1) DNA 추출

실험실로 수송된 시료가 함유된 PBS를 얼음 상에서 급냉시키고 나서 vortex로 진탕한 후 12,000×g로 4℃에서 10분간 원심분리하였다. 침전물을 lysis buffer (500 mM

Tris-Cl [pH 9.0], 20 mM EDTA [pH 8.0], 10 mM NaCl, 1% SDS [w/v] 100 μl와 Proteinase K (20 mg/ml) 10 μl를 넣고 37℃에서 1시간 배양하였다. 배양 후 동량의 P:C:I (phenol: chloroform: isoamyl alcohol)로 처리하고 12,000×g로 4℃에서 15분간 원심분리하였다. 상층액을 수집하여 0.3 M sodium acetate, 100% ethanol 2.5 volume을 첨가하고, 12,000×g로 4℃에서 15분간 원심분리하였다. 원침된 pellet을 다시 70% ethanol에 부유시킨 후 12,000×g로 4℃에서 15분간 원심분리하여 DNA pellet을 얻었다. DNA pellet은 50 μl 증류수에 용해시킨 후 사용 전까지 -70℃에 보관하였다.

2) Primer 제작

PCR에 사용하기 위해 *A. actinomycetemcomitans*, *Pr. intermedia*, *Pr. nigrescens*, *P. endodontalis*, *P. endodontalis*, *T. denticola*에 특이적으로 나타나는 16S rDNA유전자의 일부 염기서열을 기준으로 하여 각 세균종에 특이한 primer (바이오니아; 대전, 대한민국)를 제작하였다<sup>34)</sup>. 시료추출물 내 세균 DNA의 존재를 확인하기 위해 모든 세균에 존재하는 16S rDNA의 염기서열에 기초한 ubiquitous primer도 함께 제작하였다(Table 1).

3) 표준균주

추출한 시료 DNA를 사용하여 PCR 조건을 표준화를 위해 표준균주를 선택하여 사용하였다. 표준균주로는 *A. actinomycetemcomitans* Y4, *Pr. intermedia* ATCC 25611, *Pr. nigrescens* 9336 (ATCC 33563), *P.*

**Table 1.** PCR primer pairs used in this study for detection of putative endodontopathogens

Bacteria	Primer pairs (5' → 3')	bp of amplicon
Ubiquitous primer	GAT TAG ATA CCC TGG TAG TCC AC CCC GGG AAC GTA TTC ACC G	602
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	AAA CCC ATC TCT GAG TTC TTC TTC ATG CCA ACT TGA CGT TAA AT	557
<i>Pr. intermedia</i>	TTT GTT GGG GAG TAA AGC GGG TCA ACA TCT CTG TAT CCT GCG T	575
<i>Pr. nigrescens</i>	ATG AAA CAA AGG TTT TCC GGT AAG CCC ACG TCT CTG TGG GCT GCG A	804
<i>P. endodontalis</i>	GCT GCA GCT CAA CTG TAG TC CCG CTT CAT GTC ACC ATG TC	672
<i>P. gingivalis</i>	AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG ACT GTT AGC AAC TAC CGA TGT	404
<i>T. denticola</i>	TAA TAC CGA ATG TGC TCA TTT ACA T TCA AAG AAG CAT TCC CTC TTC TTC TTA	316

*endodontalis* ATCC 35406, *P. gingivalis* 2561, *T. denticola* ATCC 33521를 사용하였다. *A. actinomycetemcomitans* Y4는 TBSV배지를 사용하여 CO<sub>2</sub>배양기에서 배양하였다<sup>46)</sup>. *T. denticola*는 ATCC (American Type Culture Collection)에서 지시하는 대로 1494 modified NOS배지를 사용하였고, 나머지 세균은 yeast extract (5 mg/ml), hemin (5 µg/ml), vitamin K1 (0.2 µg/ml)이 첨가된 1/2-strength brain heart infusion broth (BHI; Difco, Detroit, MI, U.S.A)를 사용하여 모두 혐기적(10% H<sub>2</sub>, 10%CO<sub>2</sub>, 80% N<sub>2</sub>)으로 배양하였다. 배양 후 DNA는 위와 같은 방법으로 추출하였다.

#### 4) PCR

PCR을 시행하기 위해 시료 DNA 0.5 µl, 각각의 primer 1 µl (40 pmol/µl), 10× PCR buffer 5 µl, Taq DNA polymerase (5 unit/µl) 0.25 µl, dNTP (0.25 mM) 3 µl (ubiquitous, *A. actinomycetemcomitans*, *Pr. intermedia*, *Pr. nigrescens*) 또는 5 µl (*P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *T. denticola*), MgCl<sub>2</sub> (2 mM) 1 µl (ubiquitous, *Pr. nigrescens*) 또는 4 µl (*A. actinomycetemcomitans*, *Pr. intermedia*, *Pr. nigrescens*, *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *T. denticola*), 그리고 증류수를 첨가하여 총 50 µl의 반응혼합액을 조성하였다.

PCR 조건은 검출하려는 대상 세균종에 따라 다르게 설정하였다<sup>34)</sup>. *P. endodontalis*와 *P. gingivalis*는 95°C에서 2분간 변성, 다음 36 cycle의 PCR은 94°C에서 30초간 변성, primer의 결합을 위해 60°C에서 1분, 합성과정으로 72°C에서 2분간으로 처리하였고, 최종과정은 72°C 10분으로 설정하였다. *A. actinomycetemcomitans*, *Pr. intermedia*, *Pr. nigrescens*를 위해서 초기변성은 94°C에서 30초, 다음 36 cycle의 PCR은 95°C 30초, 55°C 1분, 72°C 2분, 최종적으로 72°C 10분으로 설정하였다. *T. denticola*와 ubiquitous primer를 위해서는 초기변성을 위해 95°C 2분, 다음 36 cycle의 PCR을 위해서 95°C 30초, 60°C 1분, 72°C 1분, 최종단계로 72°C 2분으로 설정한 다음 PCR을 시행하였다(GeneAmp PCR System 2400; Perkin-Elmer, Norwalk, CT, U.S.A).

#### 5) Agarose 전기영동

PCR로 얻은 산물 9 µl를 10× loading buffer와 혼합한 후 Tris-acetate-EDTA buffer로 제작한 1.5% agarose (electrophoresis grade; Gibco-BRL, Gaithersburg, MD, U.S.A) gel상에서 4 V/cm로 전기영동하였다. PCR 산물의 크기를 결정하기 위해 100 bp standard marker Invitrogen(Gibco-BRL, Carlsbad, CA, U.S.A)를 함께 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 gel은 ethidium bro-

mide (0.5 µg/ml)로 염색한 후 UV illuminator상에서 관찰한 다음 기록을 위해 사진촬영하였다.

### Ⅲ. 실험성적

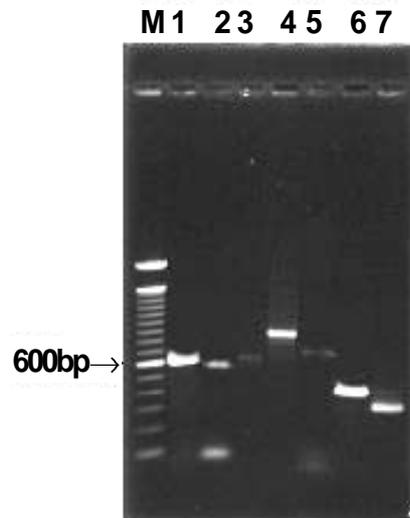
#### 1. 표준균주의 PCR 산물

Primer의 정확성과 효율성을 확인하기 위해 먼저 표준균주를 사용하여 PCR을 시행한 결과 Siqueira 등<sup>34)</sup>이 보고한 것처럼 ubiquitous는 602 bp, *A. actinomycetemcomitans* 557 bp, *Pr. intermedia* 575 bp, *Pr. nigrescens* 804 bp, *P. endodontalis* 672 bp, *P. gingivalis* 404 bp, *T. denticola* 316 bp로 나타남으로써(Fig. 1) 위의 primer를 사용하여 환자로부터 얻은 DNA시료에 대한 PCR을 진행시켰다.

#### 2. 치근단 병소를 동반한 감염근관의 세균이환율

##### 1) 전체 감염근관에서 각 세균의 이환율

치근단 병소를 갖고 있는 36명의 치아의 감염근관으로부터



**Fig. 1.** Electrophoresis results of PCR amplification of the control reference DNA of standard bacterial strains. Lanes: M, 100 bp molecular marker; 1, ubiquitous (602 bp); 2, *A. actinomycetemcomitans* (557 bp); 3, *Pr. intermedia* (575 bp); 4, *Pr. nigrescens* (804 bp); *P. endodontalis* (672 bp); *P. gingivalis* (404 bp); *T. denticola* (316 bp).

**Table 2.** Distribution of bacteria in infection with apical lesions.

Abbreviations: P, Pain; S, Swelling; AA, alveolar abscess; F, fistula; Aa, *A. actinomycetemcomitans*; Pi, *Pr. intermedia*; Pn, *Pr. nigrescens*; Pe, *P. endodontalis*; Pg, *P. gingivalis*; Td, *T. denticola*; \*:-denotes no symptom

Patient No.	Symptoms	Aa	Pi	Pn	Pe	Pg	Td
1	P,S	+	+	-	+	+	+
2	F	+	-	-	-	-	+
3	F	-	+	-	-	-	-
4	S	-	+	+	+	+	+
5	S	-	-	+	+	+	+
6	P,S	-	-	+	+	-	-
7	F	-	-	-	-	+	+
8	P,S,F	-	-	-	-	+	+
9	P,S,F	-	-	-	+	+	+
10	-	-	-	-	-	+	+
11	P	-	+	-	-	+	+
12	-	-	-	-	+	+	+
13	-	-	-	-	-	+	+
14	-	-	-	-	+	-	+
15	F	-	-	-	+	+	+
16	-	-	-	-	-	+	+
17	-	-	-	-	-	+	+
18	F	-	-	-	-	-	-
19	P,F	-	-	-	-	-	+
20	P,F	-	-	-	-	-	-
21	S	-	-	-	-	+	-
22	F	-	-	+	-	+	-
23	P	-	-	+	-	-	-
24	P	-	-	+	+	-	-
25	P,S	+	+	+	+	+	+
26	-	-	-	-	-	-	-
27	P	+	-	+	-	+	-
28	P	+	-	-	-	-	-
29	-	-	-	+	+	+	+
30	P,S	-	-	+	-	+	-
31	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	+	-	+	-
34	P,F	-	-	-	+	-	-
35	P,F	+	-	+	+	+	-
36	-	-	-	-	+	+	-
		6	15	12	14	22	19

터 얻은 시료의 DNA를 사용하여 16S rDNA gene-directed PCR를 시행하여 대상으로 지정한 세균을 검출함으로써 근관 내 각각의 세균 이환율을 조사하였다.

우선 환자 36명의 치근단 병소를 갖는 치아를 대상으로 하였을 경우, *A. actinomycetemcomitans*가 나타난 치아는 6개로 이환율이 16.7%, *Pr. intermedia*는 5개(13.9%), *Pr. nigrescens*는 12개(33.3%), *P. endodontalis*는 14개(38.9%), *P. gingivalis*는 22개(61.1%), *T. denticola*는 19개(52.8%)로 나타났다(Table 2).

2) 누공을 형성한 감염근관에서 각 세균의 이환율

누공을 형성한 감염근관의 치아 12개를 중심으로 살펴보면, 6개 대상 세균종이 하나도 나타나지 않은 치아가 2개(16.7%)였고, 한 세균종만 나타난 치아는 3개(25.0%), 2개 세균종이 나타난 치아는 4개(33.3%), 3개의 세균종이 나타난 치아는 2개(16.7%), 4개의 세균종이 나타난 치아는 1개(8.3%)로 나타났다. 5개 이상의 세균종이 나타나는 치아는 없는 것으로 관찰되었다(Table 3).

세균종별로 *A. actinomycetemcomitans*가 나타난 치아가 2개(16.7%), *Pr. intermedia* 1개(8.3%), *Pr. nigrescens* 2개(16.7%), *P. endodontalis* 4개(33.3%)였고, *P. gingivalis*와 *T. denticola*가 각각 6개, 이환율 50.0%로 가장 높게 나타났다.

**Table 3.** Distribution of bacteria in fistula\*: Samples were obtained through the opening of the fistula, whereas the others from the infected the root canals.

Patient No.	Symptoms	Aa	Pi	Pn	Pe	Pg	Td
2	F	+	-	-	-	-	+
3	F	-	+	-	-	-	-
7	F	-	-	-	-	+	+
8*	P,S,F	-	-	-	-	+	+
9	P,S,F	-	-	-	+	+	+
15	F	-	-	-	+	+	+
18	F	-	-	-	-	-	-
19*	P,F	-	-	-	-	-	+
20	P,F	-	-	-	-	-	-
22	F	-	-	+	-	+	-
34*	P,F	-	-	-	+	-	-
35	P,F	+	-	+	+	+	-
		12	2	1	2	4	6

**Table 4.** Distribution of bacteria in necrotic root canal sample of apical lesions, having symptoms of pain and/or swelling

Patient No.	Symptoms	Aa	Pi	Pn	Pe	Pg	Td
1	P,S	+	+	-	+	+	+
4	S	-	+	+	+	+	+
5	S	-	-	+	+	+	+
6	P,S	-	-	+	+	-	+
8	P,S,F	-	-	-	-	+	+
9	P,S,F	-	-	-	+	+	+
11	P	-	+	-	-	+	+
19	P,F	-	-	-	-	-	+
20	P,F	-	-	-	-	-	-
21	S	-	-	-	-	+	-
23	P	-	-	+	-	-	-
24	P	-	-	+	+	-	-
25	P,S	+	+	+	+	+	+
27	P	+	-	+	-	+	-
28	P	+	-	-	-	-	-
30	P,S	-	-	+	-	+	-
34	P,F	-	-	-	+	-	-
35	P,F	+	-	+	+	+	-
18		5	4	9	9	11	9

3) 동통 또는 종창을 동반한 감염근관에서 각 세균의 이환율

동통, 종창 또는 동통과 종창을 함께 동반한 감염근관의 치아 18개를 중심으로 살펴보면, 6개 대상 세균종이 하나도 나타나지 않은 치아가 1개(5.6%), 1개 세균종이 나타난 치아가 5개(27.8%), 2개의 세균종이 나타난 치아가 3개(16.7%), 3개의 세균종이 나타난 치아는 4개(22.2%), 4개의 세균종이 나타난 치아는 2개(11.1%), 5개의 세균종이 나타난 치아는 2개(11.1%), 그리고 6개 세균종 모두 나타난 치아도 1개(5.6%) 있었다(Table 4).

세균종별로 *A. actinomycetemcomitans*가 5개 치아에서 검출되었고(22.8%), *Pr. intermedia* 4개(22.2%), *Pr. nigrescens*, *P. endodontalis*, *T. denticola*는 각각 9개 치아에서(50.0%), *P. gingivalis*는 가장 많이 발견되어 11개 치아로 이환율이 61.1%였다.

4) 임상적 증상이 없는 감염 근관에서 각 세균의 이환율  
동통이나 종창, 누공 같은 증상이 없는 감염근관의 치아 12개를 조사한 결과 6개 세균종이 하나도 나타나지 않은 치

**Table 5.** Distribution of bacteria in necrotic root canal samples of apical lesions without clinical symptoms

Patient No.	Aa	Pi	Pn	Pe	Pg	Td
10	-	-	-	-	+	+
12	-	-	-	+	+	+
13	-	-	-	-	+	+
14	-	-	-	+	-	+
16	-	-	-	-	+	+
17	-	-	-	-	+	+
26	-	-	-	-	-	-
29	-	-	+	+	+	+
31	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-
33	-	-	+	-	+	-
36	-	-	-	+	+	-
12	0	0	2	4	8	7

아가 3개(25.0%), 1개만 나타난 치아는 없었고 2개 세균종이 나타난 치아가 7개(58.3%), 3개 세균종이 나타나는 치아는 1개(8.3%), 4개 세균종이 나타나는 치아는 1개(8.3%)였다. 그러나 5개 이상의 세균종이 나타나는 치아는 없었다(Table 5).

세균종별로 조사해 보면, *A. actinomycetemcomitans*와 *Pr. intermedia*는 어느 것에서도 검출되지 않았고 *Pr. nigrescens*는 2개 치아(16.7%), *P. endodontalis*는 4개(33.3%), *P. gingivalis*는 8개(66.7%), *T. denticola*는 7개 치아(58.3%)에서 나타났다.

#### IV. 총괄 및 고안

최근 배양법으로 분리해 내기가 힘들거나 불가능한 미생물들을 분자생물학적 방법으로 검출해 내려는 노력이 급격하게 증가하고 있고, 그 결과, 질병과 특정 미생물의 연관성에 대한 새로운 이해와 견해가 가능해지고 있다. 특히 PCR 방법은 찾고자 하는 세균의 특이 염기서열만 알고 있으면 적은 양의 시료로도 대상세균의 유전자를 증폭시킴으로써 쉽게 원하는 대상세균의 존재여부, 즉 검출과 동정이 가능하여 근관감염질환 연구에도 많이 이용되고 있다.

이와 같이 감도높은 PCR방법을 사용하여 감염근관 내에 나타나는 세균의 이환율을 조사한 결과 치주질환에서 흔히 발견되는 중요 세균들, 즉 *P. gingivalis*, *T. denticola* 등이 감염근관 속에도 나타나고 있다는 사실이 계속 보고되고 있다<sup>33-36,37</sup>.

특정 질환에서 어떤 특정 세균이 관여하고 있는지를 밝혀내는 것은 예방과 치료측면에서 매우 중요하다. 마찬가지로 이들 치주질환 원인균들이 어떤 특이성을 갖고 어떤 종류의 근관감염 질환에 연관성을 갖고 나타나는지를 밝혀내는 것은 매우 중요한 일이라고 판단된다. 그러나 아직까지의 조사결과 만으로는 특정 근관감염질환과 특정 세균종의 연관성을 결론짓기는 어려운 것으로 판단된다. 이와 같은 결과는 인종 또는 지역간에 독특하게 나타나는 세균분포의 차이 때문일 것으로 생각된다. 예를 들어 *T. denticola*는 브라질인의 감염근관에서 임상증상과 관계없이 약 50%전후의 이환율을 보였지만<sup>33,35</sup> 치근단 치주염이 있는 감염근관을 조사한 한국의 Jung 등<sup>27</sup> 연구에서는 *T. denticola*가 전혀 검출되지 않았다고 보고되었다. 어쩌면 근관감염의 종류에 따라 특성의 세균종이 나타나는 것은 아닐 것이라는 견해를 밝힌 최근 일련의 조사결과들<sup>30,33-35,38,42-45</sup>이 사실일 가능성을 배제할 수 없을 것으로 생각된다.

이 연구는 16S rDNA 유전자의 세균종-특이 염기서열을 기초로 제작한 primer로 PCR을 시행함으로써 치근단 병소를 동반한 감염근관 내에 존재하는 *A. actinomycetemcomitans*, *Pr. intermedia*, *Pr. nigrescens*, *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *T. denticola*의 이환율을 조사하였다. 임상증상과 상관없이 전체 36개 치아를 놓고 살펴보았을 때 *P. gingivalis*가 22개로 이환율은 61.1%로 나타났고, 그 다음이 *T. denticola*로 19개(52.8%), *P. endodontalis*가 14개(38.9%), *Pr. nigrescens* 12개(33.3%), *A. actinomycetemcomitans* 6개(16.7%), *Pr. intermedia* 5개(13.9%)의 순이었다. Siqueira 등<sup>44</sup>이 감염근관의 세균 이환율을 조사했을 때 *P. gingivalis*는 27.8%, *P. endodontalis*가 42.6%, *Pr. intermedia*가 10%로 나타났다. 특별히 치근단 농양을 조사했을 경우는<sup>34</sup> *P. endodontalis*가 70%, *P. gingivalis*가 40%로 나타난 것과 비교하면 본 연구에서는 *P. gingivalis*가 상대적으로 높게 나타났다. 한편 Siqueira<sup>34</sup> 등은 *A. actinomycetemcomitans*와 *Pr. nigrescens*가 농양에서는 발견되지 않는다고 보고하였고, 이와 같은 차이는 농양시료가 아마도 본 연구의 시료와 세균이환율에서 실제 차이를 보이기 때문인 것으로 생각된다. 반면 Machado 등<sup>45</sup>이 임상증상과 상관없이 감염근관에 나타나는 *P. endodontalis*의 이환율은 39.5%라고 보고한 결과와는 일치하고 있다.

*T. denticola*는 임상증상의 존재유무와 관계없이 거의 일정하게 50%전후하는 이환율을 보이고 있으며<sup>33-35</sup>, 이 이환율은 본 연구의 것(52.8%)과 거의 일치하는 것으로 나타났다. *T. denticola*는 이전의 배양법에 기초한 분포조사에서는 거의 검출되지 않았으나 최근 분자생물학적, 유전학적 방법을 이용하여 발견되면서 증상과 관련되어 있을 수 있다는 새로운 가능성 때문에 주목을 받고 있다. *T. denticola*는

증상에 관계없이 어느 곳에서도 나타나지만<sup>33,35</sup>, 특별히 중요한 근관감염의 세균인 *P. gingivalis*와 강하게 응집반응을 하여<sup>47</sup> 인접한 상태에서 상호 필요한 영양분을 공급하는 공생관계를 이루고 있다<sup>48</sup>. 이와 같은 이유로 치주염 이환부위에서는 *T. denticola*가 언제나 *P. gingivalis*와 같이 나타나는 것으로 보고되고 있다<sup>49</sup>. 두 세균은 같은 "red complex"에 속하는 *B. forsythus*와 더불어 다양한 단백질을 분해하는 trypsin-like activity를 갖는 유일한 구강세균인데<sup>50</sup>, 이 두 세균으로부터 생산되는 trypsin-like activity가 상승적으로 작용하여 심각한 조직파괴를 유도할 수 있을 것으로 추측된다<sup>51</sup>. 이번 연구에서 *T. denticola*와 *P. gingivalis*가 단독 또는 함께 나타나는 총 26개의 감염근관 중에서 두 세균종이 같이 검출되는 경우는 15개로 약 58%로 나타났다. 두 세균이 같이 나타났을 때 치수 또는 치근단 조직에서 어떤 영향을 미쳤는지는 앞으로 연구에서 밝혀야 할 과제라고 생각된다.

36개 감염근관에서 흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균이 나타나지 않았던 8개의 치아를 살펴보면 임상증상이 없는 치아가 3개, 누공을 형성한 치아가 2개, 동통이 있지만 누공이 형성되어 있는 치아가 2개였고, 동통이 있는 치아지만 이들 혐기성 간균이 나타나지 않은 경우가 1개 있었다 (Table 2, 3, 5). 반대로 말해 누공없이 동통이나 종창(특히 종창)이 있는 치근단 병소의 감염근관에는 거의 대부분(12개중 11개) 흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균이 존재하고 있다. Table 3에서 보듯이 동통이나 종창없이 누공만 존재할 경우 흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균이 전혀 나타나지 않은 경우는 6개중 2개 치아였고(33.3%), 누공이 형성되어 있더라도 동통만 존재 시에는 이들 혐기성 간균이 나타나지 않는 경우가 4개 중 2개(50%)로 총 10개 중 4개(40.0%)로 나타났다. 이전에 누공을 대상으로 실시한 세균분포조사연구가 없었기 때문에 비교할 수는 없지만 이 연구의 결과는 누공에 대한 이해를 돕는데 도움을 줄 수 있을 것으로 생각한다. 즉, 누공이 있더라도 동통 또는 종창이 있을 때 누공의 농 시료를 채취했을 때가 감염근관을 통해 시료를 채취했을 때보다 세균의 종류가 대체로 적게 나타났다. 따라서 완전히 농이 형성되고 진행되어 누공이 형성될 때에는 흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균이 없거나 아니면 적어도 전반적으로 세균종류가 적어지는 것으로 생각된다. 따라서 농이 형성되면서 종창 형성 시까지, 그리고 그로 인한 통증이 나타날 때까지 이들 혐기성 세균이 관여하고, 그 속에서 존재하지만 농양이 완전히 성숙되어 농이 배출되기 시작하는 시기를 전후해서는 이들 혐기성 간균이 다른 세균들과 마찬가지로 사멸되고 있는 것이 아닌가 하는 추측도 가능한 것으로 판단된다. 이 추측은 앞으로 많은 연구 및 조사를 통해 밝혀져야겠지만 현재까지의 견해로는 흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균은 동통, 종창등과

같은 임상증상과 연관성이 있다는 과거 배양법에 기초한 세균 분포조사 결과<sup>6)</sup>와 일치하고 있다.

흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균 중에서도 *P. endodontalis*와 *P. gingivalis*는 동통, 종창, 누 등과 같은 임상증상, 급성감염과 관련이 깊은 세균종이라고 보고되어 왔다<sup>5,8-10,12-17)</sup>. 그러나 최근 16S rDNA(RNA)gene-directed PCR의 결과에 따르면 이들 세균의 관련성에 관한 의미가 축소되고 있는 경향이 나타나고 있다<sup>34,38,42-45)</sup>. 이 연구에서도 누공이 형성되지 않고 동통이나 종창을 보인 12개 감염근관에서 *P. endodontalis*나 *P. gingivalis*가 나타난 경우는 11개로 91.7%였고, 둘 다 나오는 경우는 4개로 33.3%였다(Table 4). 반면 임상적 증상이 전혀 없는 12개의 감염근관 중에서 두 세균종 중 하나만이라도 나올 경우는 9개로 75.0%, 둘 다 나올 경우는 3개(25.0%)로 임상 증상이 있는 감염근관과 비교해 차이가 거의 없었다. 아마도 16S rDNA gene directed PCR은 감도가 높아 시료 내 분포비율이 적더라도 검출이 가능하기 때문에 증상이 없는 시료에서 이들 세균의 분포는 적더라도 PCR에 의해 증폭됨으로써 검출이 가능하기 때문에 이환율은 증상이 있는 시료와 큰 차이를 보이지 못하는 것인지는 모르다.

이 연구에서 *Prevotella*속 세균종 중에서 *Pr. intermedia*와 *Pr. nigrescens*는 예상보다 적게 나타났다. 특히 *Pr. intermedia*는 전체적으로 36개 감염근관 중 5개에 불과했다. 반면, *Pr. nigrescens*도 많이 나타나지는 않았지만 (33.3%) 임상증상이 없는 곳에서는 16.7%, 임상증상이 있는 곳에서는 50.0%의 이환율을 보였다(Table 4, 5). *Pr. intermedia*는 *Pr. nigrescens*에 비해 치주질환에서 더 큰 의미를 갖고 있는 것으로 보고되고 있다<sup>29)</sup>. 이전 연구에서는 이 두 세균의 존재나 역할 자체가 근관감염에서는 미약한 것으로 보고되고 있기 때문에 본 연구에서 *Pr. nigrescens*가 임상증상과 연관하여 의미있게 나타나는 것이 추세인지를 확인하기 위해서는 보다 많은 감염근관을 대상으로 이환율 조사가 시행되어야 할 것이다.

*A. actinomycetemcomitans*는 36개 감염근관 중에서 5개(13.9%)에서만 발견됐지만 5개 모두 임상증상이 있는 감염근관에서만 나타났다. Siqueira 등<sup>34)</sup>은 *A. actinomycetemcomitans*가 치근단 농양에서는 나타나지 않는다고 하였으나 Sunde 등<sup>39)</sup>은 치근단 치주염에서 60%의 이환율을 보인다고 보고하였다. *A. actinomycetemcomitans*는 유년형 치주염(또는 조기발생 치주염) 그리고 만성 치주염에서도 중요한 세균으로 알려졌으나 최근 배양법의 개선과 검출방법의 눈부신 발전으로 인해 타종 세균이 검출되는 비율이 늘어나면서 혐기성 세균들의 의미성이 상대적으로 커지고 있다. 만성 치주염뿐만 아니라 조기발생 치주염에서도 *A. actinomycetemcomitans*는 연관성이 없는 것으로 인식되고 있어<sup>52)</sup> 치주, 근관감염질환이 연관되어 있다는 관점에

서 볼 때<sup>39-41)</sup>, 전체 감염근관에서 *A. actinomycetemcomitans*이 차지하는 의미는 크지 않을 것으로 판단된다.

이상으로 16S rDNA gene-directed PCR을 통한 치근단 병소를 동반한 감염근관의 세균 이환율을 조사했을 때 최근에 시행된 같은 PCR방법을 이용해서 보고한 결과들과 비슷하게 나타나 16S rDNA gene-directed PCR은 근관감염 시 세균의 이환율을 조사하는데 매우 유용하게 사용될 수 있는 것으로 생각된다. 그러나 아직까지는 같은 방법으로 조사한 연구결과들 사이에 아직도 일치하지 않는 부분들이 있기 때문에 보다 광범위한 조사연구가 필요하고 인종 또는 지역에 따른 차이에 대해서도 고려가 있어야 할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

경희대학교 치과대학 부속치과병원 보존과에 내원한 환자에서 치근단 병소를 지닌 22~59세 남자 14명, 18~65세 여자 22명 등 총 36명의 근관감염치아를 동통, 종창, 누공 등의 임상증상에 따라 *A. actinomycetemcomitans*, *Pr. intermedia*, *Pr. nigrescens*, *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *T. denticola*의 이환율을 16S rDNA gene-directed PCR방법으로 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다:

1. 36개 감염근관에서 가장 높은 이환율을 보인 세균종은 *P. gingivalis*로 61.1%, 그 다음이 *T. denticola*(52.8%), 그리고 *P. endodontalis*(38.9%)의 순이었다.
2. *A. actinomycetemcomitans*는 16.7%의 이환율을 보였으며 모두 임상증상이 동반된 치근단 병소의 감염근관에서만 발견되었다.
3. *Pr. intermedia*와 *Pr. nigrescens*의 이환율은 각각 13.9, 33.3%가 나타났다. *Pr. nigrescens*는 임상증상이 있는 감염근관 중에서는 50.0%의 이환율을 보였다.
4. 누공이 없는 상태에서 동통, 특히 종창이 있는 감염근관은 모두 1개 이상의 흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균(*Pr. intermedia*, *Pr. nigrescens*, *P. endodontalis*, *P. gingivalis*)이 나타났다. 반면 임상증상이 없거나 또는 누공이 동반된 경우에 혐기성 세균은 40%에서만 관찰되었다.
5. *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, 및 *T. denticola*는 임상의 유무와 관계없이 비슷한 이환율로 검출되었다.

이상의 결과로 미루어 치주질환에서 중요하게 나타나는 세균들이 근관감염 시에도 나타나며 특히 흑색집락형성 Gram음성 혐기성 간균은 동통 특히 종창과 깊은 관련성 있는 것으로 나타났다. 그러나 조사한 세균종 중에서 임상증상과 연관성이 분명히 나타나는 세균종은 없었다.

## REFERENCE

1. Miller W.D. : Microorganisms of the human mouth. Philadelphia, S.S. White Dental Co., 1890.
2. Dahlen G. and Moller A.J.R.: Microbiology of endodontic infections. In J. Slots and M.A. Taubman (eds.), Contemporary oral microbiology and immunology, St. Louis, Mosby-Year Book, Inc., p.444-475. 1992.
3. Kettering J.D. and Torabinejad M.: Microbiology and immunology. In S. Cohen and R.C. Burns (eds.), Pathways of the pulp, St. Louis, Mosby-Year Book, Inc., p.363-376. 1994.
4. Sjogren U, et. al.: Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*, 30:297-306, 1997.
5. Haapasalo M.: Black-pigmented Gram-negative anaerobes in endodontic infections. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 6:213-218, 1993.
6. Sundqvist G.: Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Thesis. Umea University, Odontology, Dissertation No. 7, 1976.
7. Kobayashi T., Hayash, A., Yoshikawa R., Okuda K. and Hara K.: The microbial flora from root canals and periodontal pockets of non-vital teeth associated with advanced periodontitis. *Int Endod J*, 23:100-106, 1990.
8. Van Winkelhoff A.J., Carlee A.W. and de Graaff J.: *Bacteroides endodontalis* and other black-pigmented *Bacteroides* species in odontogenic abscesses. *Infect Immun*, 49:494-497, 1985.
9. Haapasalo M.: *Bacteroides* spp. in dental root canal infections. *Endod Dent Traumatol*, 5:1-10, 1989.
10. Sundqvist G., Johansson E. and Sjogren U.: Prevalence of black-pigmented *Bacteroides* species in root canal infections. *J Endod*, 15:13-19, 1989.
11. Tanner A. and Stillman N.: Oral and dental infections with anaerobic bacteria: clinical features, predominant pathogens, and treatment. *Clin Infect Dis*, 16(Suppl. 4):S304-S309, 1993.
12. Baumgarten J.C. and Falkler W.A. Jr.: Reactivity of IgG from explant cultures of periapical lesions with implicated microorganisms. *J Endod*, 17:207-212, 1991.
13. Tanner A. and Stillman N.: Oral and dental infections with anaerobic bacteria: clinical features, predominant pathogens and treatment. *Clin Infect Dis*, 16(Suppl.) :S304-S309, 1993.
14. Haapasalo M., Ranta H., Ranta K. and Shah H.: Black-pigmented *Bacteroides* spp. in human apical periodontitis. *Infect Immun*, 53:149-153, 1986.
15. Chen H.: The correlation of black-pigmented *Bacteroides* spp. to symptoms associated with apical periodontitis. *Chung-Hua Kou Chiang i Hsueh Chinese J Stomatol*, 20:70-72, 1991.
16. Griffiee M.B., Patterson S.S., Miller C.H., Kafrawy A.H. and Newton C.W.: The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 50:457-461, 1980.
17. Yoshida M., Fukushima H., Yamamoto K., Ogawa K., Toda T. and Sagawa H.: Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals with periapical lesions. *J Endod*, 13:24-28, 1987.
18. Hahn C.-L., Falkler W.A. Jr. and Minah G.E.: Correlation between thermal sensitivity and microorganisms isolated from deep carious dentin. *J Endod*, 19:26-30, 1993.
19. Hashioka K., Suzuki K., Yoshida T., Nakane A., Horiba N. and Nakamura H.: Relationship between clinical symptoms and enzyme-producing bacteria isolated from infected root canals. *J Endod*, 20:75-77, 1994.
20. Gomes B.P., Drucker D.B. and Lilley J.D.: Associations of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int Endod J*, 27:291-298, 1994.
21. Gomes B.P., Lilley J.D. and Drucker D.B.: Clinical significance of dental root canal microflora. *J Dent*, 24:47-55, 1996.
22. Olsen G.J.: Microbial ecology. Variation among the masses. *Nature*, 345:20, 1990.
23. Ward D.M., Weller R. and Bateson M.M.: 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature*, 345:63-65, 1990.
24. Amann R.I., Ludwig W. and Schleife K.H.: Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev*, 59:143-169, 1995.
25. Siqueira J.F.Jr., Rocas I.N., Souto R., de Uzeda M. and Colombo A.P.: Checkerboard DNA-DNA hybridization analysis of endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 89:744-748, 2000.
26. Martin F.E., Nadkarni M.A., Jacques N.A. and Hunter N.: Quantitative microbiological study of human carious dentine by culture and real-time PCR: association of anaerobes with histopathological changes in chronic pulpitis. *J Clin Microbiol*, 40:1698-1704, 2002.
27. Jung I.Y., Choi B., Kum K.Y., Yoo Y.J., Yoon T.C., Lee S.J. and Lee C.Y.: Identification of oral spirochetes at the species level and their association with other bacteria in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 92:329-334, 2001.
28. Baumgartner J.C., Watts C.M. and Xia T.: Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *J Endod*, 26:695-698, 2000.
29. Ashimoto A., Chen C., Bakker I. and Slots J.: Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol*, 11:266-273, 1996.
30. Bogen G. and Slots J.: Black-pigmented anaerobic rods in closed periapical lesions. *Int Endod J*, 32:204-210, 1999.
31. Conrads G., Gharbia S.E., Gulabivala K., Lampert F. and Shah H.N.: The use of a 16S rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. *J Endod*, 23:433-438, 1997.
32. Goncalves R.B. and Mouton C.: Molecular detection of *Bacteroides forsythus* in infected root canals. *J Endod*, 25:336-340, 1999.
33. Siqueira J.F.Jr., Rocas I.N., Favieri A. and Santos K.R.: Detection of *Treponema denticola* in endodontic infections by 16S rRNA gene-directed polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol*, 15:335-337, 2000.
34. Siqueira J.F.Jr., Rjas I.N., Oliveira J.C. and Santos K.R.: Detection of putative oral pathogens in acute periradicular abscesses by 16S rDNA-directed poly-

- merase chain reaction. *J Endod*, 27:164-7, 2001.
35. Siqueira J.F.Jr., Rocas I.N., Favieri A., Oliveira J.C. and Santos K.R.: Polymerase chain reaction detection of *Treponema denticola* in endodontic infections within root canals. *Int Endod J*, 34:280-284, 2001.
  36. Rupf S., Kannengiesser S., Merte K., Pfister W., Sigusch B. and Eschrich K.: Comparison of profiles of key periodontal pathogens in periodontium and endodontium. *Endod Dent Traumatol*, 16:269-275, 2000.
  37. Socransky S.S., Jaffajee A.D., Cugini M.A., Smith C. and Kent R.L.Jr.: Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, 25:134-144, 1998.
  38. Rocas I.N., Siqueira J.F.Jr., Santos K.R. and Coelho A.M.: "Red complex" (*Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Treponema denticola*) in endodontic infections: a molecular approach. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 91:468-471, 2001.
  39. Sunde P.T., Tronstad L., Eribe E.R., Lind P.O. and Olsen I.: Assessment of periradicular microbiota by DNA-DNA hybridization. *Endod Dent Traumatol*, 16:191-196, 2000.
  40. Jansson L., Ehnevid H., Blomlof L., Weintraub A. and Lindskog S.: Endodontic pathogens in periodontal disease augmentation. *J Clin Periodontol*, 22:598-602, 1995.
  41. Jansson L., Ehnevid H., Lindskog S. and Blomlof L.: The influence of endodontic infection on progression of marginal bone loss in periodontitis. *J Clin Periodontol*, 22:729-734, 1995.
  42. Baumgartner J.C., Watkins B.J., Bae K.S. and Xia T.: Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. *J Endod*, 25:413-415, 1999.
  43. Fouad A.F., Barry J., Caimano M., Clawson M., Zhu Q., Carver R., Hazlett K. and Radolf J.D.: PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. *J Clin Microbiol*, 40:3223-3231, 2002.
  44. Siqueira J.F.Jr., Rocas I.N., Oliveira J.C. and Santos K.R.: Molecular detection of black-pigmented bacteria in infections of endodontic origin. *J Endod*, 27:563-566, 2001.
  45. Machado de Oliveira J.C., Siqueira J.F.Jr., Alves G.B., Hirata R.Jr. and Andrade A.F.: Detection of *Porphyromonas endodontalis* in infected root canals by 16S rRNA gene-directed polymerase chain reaction. *J Endod*, 26:729-732, 2000.
  46. Slots J.: Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol*, 15:606-609, 1982.
  47. Grenier D.: Demonstration of a bimodal coaggregation reaction between *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *Oral Microbiol Immunol*, 7:280-284, 1992.
  48. Grenier D.: Nutritional interactions between two suspected periodontopathogens, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*, 60:5298-5301, 1992.
  49. Simonson L.G., McMahon K.T., Childers D.W. and Morton H.E.: Bacterial synergy of *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in a multinational population. *Oral Microbiol Immunol*, 7:111-112, 1992.
  50. Loesche W.J., Bretz W.A., Kerschensteiner D., Stoll J., Socransky S.S., Hujoel P. and Lopatin D.E.: Development of a diagnostic test for anaerobic periodontal infections based on plaque hydrolysis of benzoyl-DL-arginine-naphthylamide. *J Clin Microbiol*, 28:1551-1559, 1990.
  51. Kesavalu L., Holt S.C. and Ebersole J.L.: Virulence of a polymicrobial complex, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis*, in a murine model. *Oral Microbiol Immunol*, 13:373-373, 1998.
  52. Loesche W.J. and Grossman N.S.: Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev*, 14:727-752, 2001.

---

## 최 기 윤

경희대학교 치과대학, 교수

서울특별시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 치과대학 보존학교실

Tel : 02)958-9336

E-mail : gwchoi@khu.ac.kr