

# 흡연자와 비흡연자간의 구강 내 세균 분포 및 항균제 감수성

정현자<sup>1</sup> · 김수정<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>대구보건대학 치위생과, <sup>2</sup>대구보건대학 임상병리과

## Distribution and Antimicrobial Susceptibility of Bacteria in the Oral Cavity of Smokers or Non-Smokers

Hyun-Ja Jeong<sup>1</sup> and Su Jung Kim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Dental Hygiene, Daegu Health College, Daegu 702-722, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Clinical Pathology, Daegu Health College, Daegu 702-722, Republic of Korea

(Received October 22, 2010/Accepted December 6, 2010)

It is well known that smoking as well as drinking is a factor of stomatopathy, however there are few investigations about comparison of oral flora between smokers and non-smokers. In this study, we isolated the oral flora of 30 smokers and 30 non-smokers and cultured them on blood agar plates. The isolated pathogenic microorganisms were tested for antibiotic susceptibility and resistance using the Kirby-Bauer antibiotic testing method. Each colony was stained using the Gram staining method and was identified by an automatic identifier, known as the VITEK system. We isolated 41 colonies from smokers' oral cavity, and they were sorted as 63% of Gram-positive cocci, 29% of Gram-negative cocci, 3% of Gram-positive bacilli, and 5% of Gram-negative bacilli by gram staining, whereas 38 colonies were isolated from non-smokers' oral cavity, and their proportions were 55% of Gram-positive cocci, 26% of Gram-negative cocci, 3% of Gram-positive bacilli, and 16% of Gram-negative bacilli. The VITEK system revealed specific distribution of bacteria species that *Streptococcus mutans* (6/41), *Gemella morillorum* (6/41), *Streptococcus oralis* (2/41), *Streptococcus pneumoniae* (1/41), *Staphylococcus aureus* (3/41), *Streptococcus anginosus* (1/41), *Streptococcus intermedius* (1/41), *Streptococcus uberis* (1/41), and *Streptococcus sanguinis* (1/41) in smokers oral cavity whereas *Streptococcus sanguinis* (8/38), *Staphylococcus aureus* (1/38), *Staphylococcus auricularis* (1/38), *Streptococcus uberis* (1/38), *Streptococcus intermedius* (1/38), *Streptococcus mutans* (1/38), and *Streptococcus oralis* (1/38) in those of non-smokers'. Three cases of *Staphylococcus aureus* from smokers produced Beta-lactamase and were identified methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA). However one case of *Staphylococcus aureus* from non-smoker did not produce Beta-lactamase and was sensitive to methicillin. In conclusion, the distribution of oral flora was different between smokers' and non-smokers' oral cavity, especially *Gemella morillorum* and MRSA were predominantly found in smoker's oral cavity. These results are useful in the treatment and prevention of patients with stomatopathy caused by smoking.

**Keywords:** antimicrobial susceptibility, non-smokers, oral cavity, smokers

우리나라 흡연인구는 보건가족부의 조사 결과, 20% 정도이며 흡연 시 발생하는 연기는 약 400여 가지의 화학 물질을 포함하고 있으며 주성분으로는 니코틴, 타르, 일산화탄소, 황화수소 및 암모니아 등으로 이루어져 있다(6). 흡연 시 다양한 화학 물질을 흡입함으로써 구강 내 치주염, 치아 우식, 궤양성 치주염, 치아 마모증 및 치아변색, 구취, 수술 후 창상치유 지연과 반흔형성, 그리고 백반증을 유발할 수 있으며, 더 나아가 구

강암으로도 발전한다(6, 18). 구강 내에 발생할 수 있는 생물학적 기전은 치아 우식증(Dental caries), 치주질환(Periodontal disease), 그리고 결손치(Missing teeth)로 나뉜다(17). 다른 연구에 따르면 흡연은 심각한 치주염과 매우 밀접하게 연관된 환경적 위험요소라고 보고하였다(14). 이런 세균성 질환은 다량의 Viridans *Streptococci*와 유산균이 구강 내에 남아있는 당 성분을 이용하여 산을 생성하고 생성된 산은 치아에 부착되어 무기물질을 용해 또는 탈회하여 치아조직을 파괴함으로써 발생한다(7). Viridans *Streptococci*은 4그룹으로 나누어지며

\* For correspondence. E-mail: sjkim@mail.dhc.ac.kr; Tel: +82-53-320-1303; Fax: +82-53-320-1450

Anginosus (*S. nginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*), Mitis (*S. oralis*, *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. sanguinis*, *S. parasanguis*), Salivarius (*S. vestibularis*, *S. salivarius*) 그리고 Mutans (*S. mutans*, *S. sorbinus*)로 구성되어 있으나 아직까지도 분류는 통일되어 있지 않다. Viridans Streptococci은 구강, 장관, 여성생식기의 상재균이나 면역이 약화된 환자에서는 균혈증 및 심내막염을 일으키는 것으로 알려져 있다(4, 17). 주로 구강 내에서만 분리되는 것으로 알려진 Viridans Streptococci가 임상에서 환자의 혈액배양에서도 빈번히 분리되고 있고 점차 내성을 획득한다고 보고하였다(16). 흡연으로 인해 숙주와 병원체간의 반응으로 세포 매개성 면역반응(Cell-mediated immune response) 및 체액성 면역반응을 저해하는 것으로 알려져 있다(15). 인체 내 면역반응의 저해는 다양한 질환을 유발할 수 있으며 구강 내에서는 바이러스성 질환으로 헤르페스 감염(Herpes infection), 만성 육아조직성 감염 질환인 결핵감염(*Mycobacterium tuberculosis*), 그리고 면역이 떨어진 사람에게 기회감염균으로 알려진 칸디다가 이상 증식하여 칸디다증(Candidiasis Moniliasis)을 유발하는 것으로 알려져 있기에 직접적으로 구강 환경을 악화시키는 흡연을 지속할 경우 구강 내 상재 효모균인 칸디다가 이상 증식하여 칸디다증을 일으킬 수 있고, 다양한 바이러스성 질환과 세균성 질환을 악화하는 것으로 알려져 있다(8, 11, 12).

흡연이 구강 내 환경을 악화하여 치아우식 및 치주질환을 유발한다는 보고는 있었으나 실험적 조사를 통한 논문은 매우 미비한 상태이기에 본 연구진은 정상인에서 지속적인 흡연을 통해 구강 내 환경이 악화되고 더 나아가 전반적인 면역력이 약화될 수 있는 흡연한 그룹과 전혀 흡연을 하지 않은 그룹으로 나누어 구강 내 세균의 분포를 조사 및 비교하고, 조사된 세균들 중 병원성을 유발할 수 있는 세균을 중심으로 항균제 감수성 검사를 하고자 한다. 그리고 항균제의 내성, 중간내성 및 감수성의 정도를 조사하여 향후 흡연자의 구강질환을 예방하고 치료하는데 기초자료로 제공하고자 한다.

## 대상 및 방법

### 대상

본 연구는 2010년 대구시 소재, D대학의 20대 초반의 남녀 학생을 대상으로 하였으며, 최근 6개월 이내 치과진료(스케일링 포함)를 받지 않은 학생을 대상으로 하였다. 흡연자는 적어도 5년 이상 현재 흡연을 하고 있는 학생 30명을 선택하였고 비흡연자는 전혀 흡연한 경험이 없는 학생 30명을 선택하였다.

### 흡연자와 비흡연자의 구강 내 세균의 분리 배양

멸균된 1회용 브러쉬를 이용하여 구강 내 하악 전치부 설측 부위와 상악 좌 우측 협측부위의 협점막에 있는 타액과 치아 사이의 치태(Dental plaque) 부위를 닦은 후 0.45% Saline 10 ml에 희석하고, 희석액 100 µl를 혈액한천배지(Becton, Dickinson and Company, USA)에 도말 배양하였다. 배양조건은 혐기적 상태를 유지하기 위해 Gaspak Anaerobe Container System

(Becton, Dickinson and Company)를 이용하여 35°C에서 48시간 배양하였다. 집락의 성상이 녹색을 띠는 α 용혈을 일으키는 그룹과 그 밖의 집락을 순수 분리 배양하고자 Brain heart infusion agar (Becton, Dickinson and Company)에 재배양하였다. 재 배양된 집락을 그람 염색을 실시하여 그람 양성균과 그람 음성균으로 분리하였다.

### 흡연자와 비흡연자의 구강 내 세균의 동정

순수 분리된 집락들을 이용하여 그람 염색을 실시한 후, 그람 양성균으로 확인된 집락들은 Catalase test를 실시하고, 순수 분리된 집락을 0.45% Saline에 OD값이 600 nm가 되도록 한 후 미생물 동정을 위해 고안된 Gram Positive Identification Card 내로 균액을 주입 후 35°C, 24시간 배양한다. Gram Positive Identification Card는 다양한 생화학적 반응을 일으키며 세균의 동정을 컴퓨터 내 데이터 베이스를 통해 확인한다. 이는 미생물 동정을 위한 자동화 기기인 VITEK System (Bio merieux, Marcy l'etoile, France)을 이용하였다(3, 9, 10). 표준 균주로는 *S. aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853을 사용하였다. 그람 음성균으로 확인된 집락은 Oxidase test를 실시한 후 Gram Negative Identification Card를 이용하여 그람 양성균과 동일한 방법으로 세균을 동정하였다.

### 흡연자와 비흡연자의 구강 내 세균의 항균제 감수성 검사

분리 동정된 세균 중 그람 양성균과 그람 음성균으로 나누어 항균제 감수성 검사를 실시하였다. 그람 양성균 중 Viridans Streptococci는 치과 시술 시 예방적 항생제 투여의 권장용법에 근거를 두고 Ampicillin, Clindamycin, Cefazolin, Penicillin, Tetracycline에 대한 항균제 감수성 검사를 실시하였다(13). 검사방법으로는 Clindamycin, Cefazolin, Tetracycline은 disk diffusion법을 실시하였고, Ampicillin, Penicillin은 액체희석법과 항균제에 대한 최소억제농도를 알 수 있는 E-test (PDM Episilometer; AB Biodisk, Solna, Sweden)을 실시하였다(16). 그 밖의 그람 양성균인 *S. aureus*는 Gram Positive Susceptibility Card를 이용하여 항균제 감수성 검사를 실시하였고 항균제 종류는 Cephalothin, Ciprofloxacin, Clindamycin, Erythromycin, Gentamicin, Habekacin, Linezolid, Nitrofurantoin, Oxacillin MIC, Penicillin-G, Rifampin, Teicoplanin, Tetracycline, Trimeth-sulfa, Vancomycin, Beta-lactamase이다. 그람 음성균들은 Gram Negative Susceptibility Card를 이용하였고 항균제 종류로는 Amikacin, Ampicillin, Ampicillin/Sulbactam, Aztreonam, Cefepim, Ceftazidime, Ceftriaxone, Cephalothin, Ciprofloxacin, Gentamicin, Imipenem, Piperacillin, Piperacillin/Tazobactam, Ticarcillin/CA, Tobramycin, Trimeth-fula이며 항균제 감수성 검사 결과는 2010년 Clinical and Laboratory Standards Institute Guideline으로 정의하였다.

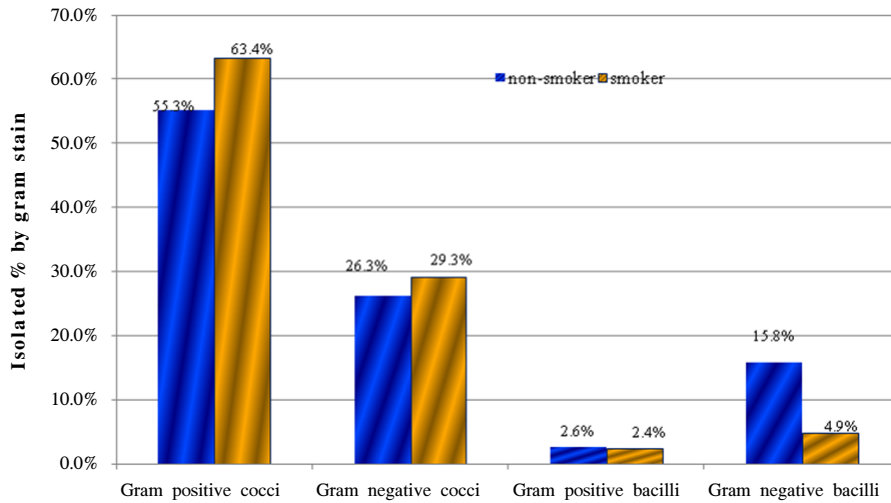


Fig. 1. Proportion of microorganisms isolated from oral cavity between smoker and non-smoker. Porportion of the Gram-positive (+/-) or Gram-negative (+/-) organisms classified by Gram stain. Samples were collected on June, 2010.

## 결과

### 흡연자와 비흡연자간의 구강 내 세균 분포

흡연자와 비흡연자의 구강 내 하악 전치부 설측면, 상악 좌, 우측 협측면의 타액과 인근 부위 치아와 치아 사이의 치태부분을 채취하여 혈액천배지에 접종한 후 혐기적 조건하에서 35°C, 48시간 배양하였다. 배양된 집락의 성상에 따라 분리한 후 그람 염색한 결과, 흡연자에서 세균으로 염색된 것은 총 41개이며, 그람 염색 분리율은 그람 양성 구균 63%, 그람 음성 구균 29%, 그람 양성 간균 3%, 그리고 그람 음성 간균 5%로 나타났고, 비흡연자에서는 총 38개로 나타났으며 분리율은 그람 양성 구균 55%, 그람 음성 구균 26%, 그람 양성 간균 3%, 그리고 그람 음성 간균 16%로 나타냈다(Fig. 1). 두 집단 모두에서 그람 양성 구균이 많이 검출되었고, 특이하게 비흡연자에서는 흡연자보다 그람 음성 간균이 많이 검출되었다.

### 흡연자와 비흡연자간의 구강 내 세균 동정

그람 염색 후 그람 양성으로 염색된 균 집락은 미생물 동정을 위해 미생물 자동화 동정기기인 VITEK system을 이용하였고 그 중 Gram Positive Identification Card를 이용하여 그람 양성균을 동정하였으며, 흡연자에서는 총 구균 26개와 간균 1개를 동정하였으며 그 결과, *S. mutans* (6), *Gemella morillorum* (6), *S. oralis* (2), *S. pneumoniae* (1), *S. aureus* (3), *S. anginosus* (1), *S. intermedius* (1), *S. uberis* (1), *S. sanguinis* (1)로 나타났으나 구균 26개중 22개만 동정되었고 간균 1개는 동정되지 않았다. 비흡연자에서는 총 구균 21개와 간균 1개를 동정하였으며 그 결과, *S. sanguinis* (8), *S. aureus* (1), *S. auricularis* (1), *S. uberis* (1), *S. intermedius* (1), *S. mutans* (1), *S. oralis* (1)로 동정되었으나 구균 21개 중 14개만 동정되었고 간균은 동정되지 않았다(Table 1). 흡연자와 비흡연자간의 세균 종의 분포에는 별차이가 없으나 흡연자에서 *S. mutans*와 *Gemella*

*morillorum*가 우세하게 검출되었고, 비흡연자에서는 *S. sanguinis* (8)가 우세하게 검출되었다. Gram Negative Identification Card를 이용하여 그람 음성균을 동정한 결과, 흡연자에서는 그람 음성 간균 2개를 동정한 결과 *K. pneumoniae*, *Pasteurella pneumotrpica*로 나타났고, 비흡연자에서는 그람 음성 간균 6개를 동정한 결과 *K. pneumoniae* (2), *Citrobacter koseri* (1), *Pasteurella multocida* (1), *Flavimonas oryzihabitans* (1), *Pantoea* spp. (1)이 동정되었다(Table 1). 그람 음성세균에서는 흡연자와 비흡연자간의 큰 차이점은 발견할 수 없었다.

### 흡연자와 비흡연자간의 구강 내 세균의 항균제 감수성 검사

그람 양성균 중 Viridans Streptococci은 구강, 장관, 여성생식기의 상재균이나 면역이 약화된 환자에서는 균혈증 및 심내막염을 일으키는 것으로 알려져 있으며 주로 구강 내에서만 분리되는 것으로 알려져 있고 혈액천배지상에서 알파용혈을 일으키며 녹색환을 형성하고 현재 4개의 그룹으로 나뉘지나 분류는 통일되어있지 않다(17). Viridans Streptococci은 Ampicillin, Clindamycin, Cefazolin, Penicillin, Tetracycline에 대한 항균제 감수성 검사를 실시한 결과, 흡연자에서는 Ampicillin에 22%가 내성, 중간내성이 18%이며 감수성이 60%이다. Clindamycin에는 내성이 30%이고 중간내성이 15%이며 감수성이 55%이었다. Cefazolin에는 내성이 25%, 중간내성이 10%이며 감수성이 65%이었고 Penicillin에서는 내성이 35%이며 감수성이 65%이다. Tetracycline에는 내성 15%, 중간내성 30%이며 감수성이 55%이었다. 비흡연자에서는 Ampicillin에 14.8%가 내성, 중간내성이 7.4%이며 감수성이 77.8%이다. Clindamycin에는 내성이 33.3%이고 감수성이 66.7%이었다. Cefazolin에는 내성이 3.7%, 중간내성이 3.7%이며 감수성이 92.6%이었고 Penicillin에는 내성이 14.8%, 중간내성이 7.4%이며 감수성이 77.8%이다. Tetracycline에는 내성 7.4%, 중간내성 3.7%이며 감수성이 88.9%이었다(Table 2). 그람 양성균

**Table 1.** Identification of microorganisms isolated from oral cavity between smoker and non-smoker using the VITEK system

Source	Identification	Disease
Smoker	<i>Streptococcus mutans</i>	Dental caries, Gingivitis
	<i>Gemella morillorum</i>	Endocarditis
	<i>Streptococcus oralis</i>	Opportunistic pathogens
	<i>Streptococcus pneumonia</i>	Pneumonia, Otitis
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Septic arthritis, endocarditis, Pneumonia
	<i>Streptococcus anginosus</i>	Endocarditis, Gingivitis
	<i>Streptococcus intermedius</i>	Endocarditis, abscesses
	<i>Streptococcus uberis</i>	Bovine mastitis
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Endocarditis
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	Pneumonia
	<i>Pasteurella pneumotrpica</i>	Bacteremia
Non-smoker	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Dental caries, Endocarditis
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Septic arthritis, endocarditis, Pneumonia
	<i>Staphylococcus auricularis</i>	Opportunistic pathogens
	<i>Streptococcus uberis</i>	Opportunistic pathogens
	<i>Streptococcus intermedius</i>	Opportunistic pathogens
	<i>Streptococcus mutans</i>	Dental caries, Gingivitis
	<i>Streptococcus oralis</i>	Opportunistic pathogens
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	Opportunistic pathogens, Pneumonia
	<i>Citrobacter koseri</i>	Opportunistic pathogens
	<i>Pasteurella multocida</i>	Opportunistic pathogens
	<i>Pantoea</i> spp.	Opportunistic pathogens
	<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	Peritoneal infection

중 *S. aureus*는 Gram Positive Susceptibility Card를 이용하여 항균제 감수성 검사를 실시하였고 항균제 감수성 검사 결과는 2010년 Clinical and Laboratory Standards Institute Guideline에 따라 정의하였다. 흡연자에서 분리된 3균주의 *S. aureus*는 3균주 중 2균주에서 Oxacillin 내성을 나타냄으로 MRSA로 판독되었고 Cephalothin에 3균주 중 2균주에서 내성을 나타냈고 1균주에서 감수성을 나타냈으며 Ciprofloxacin에는 3균주 중 2균주에서 중간내성을 나타냈고 1균주에서 감수성을 나타냈으며 Penicillin-G에 모두 내성을 나타냈으며 3균주 모두 Beta-lactamase 양성으로 나타났다. 비흡연자에서 분리된 1균주의 *S. aureus*는 Ciprofloxacin에만 중간내성을 가지며 다른 항균제에서는 모두 감수성을 나타냈다(Table 3). 그람 음성균들은 Gram

Negative Susceptibility Card를 이용하였고 흡연자에서 분리된 그람 음성균은 *K. pneumoniae*와 *P. pneumotrpica*이며 *K. pneumoniae*는 사용한 항균제 중 Ampicillin만 내성을 나타냈고 이를 제외한 모든 항균제에 감수성을 나타냈으며, *P. pneumotrpica*는 Aztreonam과 Cefepim에 내성을 나타냈고 다른 항균제에는 감수성을 나타냈다. 비흡연자에서 분리된 그람 음성균 중 *K. pneumoniae*는 2균주에서 분리되었으며 항균제 감수성 검사에서 모든 항균제에 감수성을 나타냈고 *C. koseri*는 Ampicillin에 내성을 나타냈으며 Ampicillin/Sulbactam과 Cephalothin에 중간내성을 나타냈고 *P. multocida*와 *F. oryzihabitans*에서는 Aztreonam과 Cefepim에 내성을 나타냈다. 그리고 *Pantoea* spp.는 사용한 항균제 모두에 감수성을 나타냈다(Table 4).

**Table 2.** Antimicrobial susceptibilities of Viridans *Streptococci* by disk diffusion method or E-test (PDM Episilometer; AB Biodisk, Solna)

Antibiotics (µg)	Non-smoker			Smoker		
	Antimicrobial susceptibility			Antimicrobial susceptibility		
	R (%)	I (%)	S (%)	R (%)	I (%)	S (%)
Ampicillin (5 µg)	14.8	7.4	77.8	22	18	60
Cefazolin (15 µg)	3.7	3.7	92.6	25	10	65
Penicillin (5 µg)	14.8	7.4	77.8	35	0	65
Tetracycline (15 µg)	7.4	3.7	88.9	15	30	55
Clindamycin (2 µg)	33.3	0	66.7	30	15	55

R, resistant; I, intermediate; S, susceptible

**Table 3.** Antimicrobial susceptibilities of *S. aureus* by disk diffusion method

Antibiotics ( $\mu\text{g}$ )	Smoker						Non-smoker	
	1 strain		2 strain		3 strain		4 strain	
	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	Instrument	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	Instrument	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	Instrument	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )	Instrument
Cephalothin	$\geq 32$	R	$\leq 2$	S	$\geq 32$	R	$\leq 2$	S
Ciprofloxacin	2	I	$\leq 0.5$	S	2	I	2	I
Clindamycin	$\leq 0.5$	S	$\leq 0.5$	S	$\leq 0.5$	S	$\leq 0.5$	S
Erythromycin	$\leq 0.5$	S	$\leq 0.5$	S	$\leq 0.5$	S	$\leq 0.5$	S
Gentamicin	$\leq 2$	S	$\leq 2$	S	$\leq 2$	S	$\leq 2$	S
Habekacin	$\leq 4$	S	$\leq 4$	S	$\leq 4$	S	$\leq 4$	S
Linezolid	$\leq 2$	S	$\leq 2$	S	4	S	$\leq 2$	S
Nitrofurantoin	$\leq 32$	S	$\leq 32$	S	$\leq 32$	S	$\leq 32$	S
Oxacillin MIC	$\geq 8$	R	$\leq 0.5$	S	4	R	2	S
Penicillin-G	$\geq 16$	R	$\geq 16$	R	$\geq 16$	R	0.06	S
Rifampin	$\leq 0.25$	S	$\leq 0.25$	S	$\leq 0.25$	S	$\leq 0.25$	S
Teicoplanin	$\leq 2$	S	$\leq 2$	S	8	S	$\leq 2$	S
Tetracycline	$\leq 1$	S	$\leq 1$	S	$\leq 1$	S	$\leq 1$	S
Trimeth-sulfa	$\leq 10$	S	$\leq 10$	S	40	S	$\leq 10$	S
Vancomycin	2	S	$\leq 0.5$	S	2	S	2	S
Beta-lactamase		+		+		+		-

R, resistant; I, intermediate; S, susceptible

## 고찰

구강 내 상재균총은 타액, 연령, 숙주의 방어능력, 구강위생 관리 정도, 치아 상태, 탄수화물 섭취 등에 의해 영향을 받을 수 있다(6). 구강을 직접적으로 자극하는 것 중 흡연이 있으며, 흡연으로 인해 타액분비가 감소되며, 구강건조증을 일으킬 수 있기에 본 연구진은 흡연자와 비흡연자간의 구강 내 세균의 분포를 통해 구강 내 세균의 변화를 조사하였다. 연구대상자는 적어도 5년 이상 흡연한 자와 전혀 흡연을 경험하지 않은 비흡연자를 대상으로 하였다. 구강 내 치태부위와 타액을 채취하여 세균을 분류한 결과, 흡연자에서는 비흡연자에 비해 그람 양성 구균이 약 8% 정도 많이 검출되었고, 그람 음성 구균은 약 11% 정도 적게 검출되었다. 이는 흡연으로 인해 구강 내 미생물의 분포량에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 조사되었다. Ahn이 발표한 자료에 의하면, 치과 치료 시 이용되는 방사선 조사는 구강내부를 자극하여 구강 균총의 변화를 가져오며, 특히 *S. mutans*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* spp. 및 *Candida* 등은 증가하는 반면, *S. sanguinis*, *Neisseria* spp. 및 *Fusobacterium* spp.는 감소하였으며, 이런 변화는 방사선조사로 인해 구강건조증이 심화되며, 점차 치태의 축적이 증가됨으로써 세균의 전체적인 수는 일정하나 세균 구성에는 변화를 초래함을 보고하였다(1, 2).

본 연구에서는 외부자극 중 하나인 흡연이 구강 균총의 변화에 어떠한 영향을 나타내는지를 조사하고자 그람 염색을 실시하여 분류하고 동정하였다. 흡연자와 비흡연자의 구강 내 동정된 세균을 살펴본 결과 흡연자에서 치아우식을 일으키는 *S. mutans*가 많이 검출되었고, 비흡연자에서는 *S. mutans*에 길항작용을 나타내는 *S. sanguinis*가 많이 검출되었다. 치아우식과 *S. mutans*/*S. sanguinis*의 상관관계를 조사한 자료에 의하면,

구강 환경악화로 인해 치아우식 유발균인 *S. mutans*가 우세하게 분포하는 반면, *S. sanguinis*는 감소하는 것으로 보고되었다(5). 이는 흡연으로 인해 구강 내 환경이 악화되면 치아 우식과 직접적 관련이 있는 *S. mutans*가 *S. sanguinis*에 비해 많이 검출됨을 확인하였다. 구강에서 분리되는 세균 중 *Viridans streptococci*는 Ampicillin, Clindamycin, Cefazolin, Penicillin, Tetracycline에 대한 항균제 감수성 검사를 흡연자와 비흡연자로 나누어 실시하였다. 그 결과, 비흡연자에 비해 흡연자에서 항균제 내성율이 약간 높게 나타났다. Uh 등이 환자혈액에서 분리된 *Viridans Streptococci*의 항균제 감수성에 대해 조사한 결과를 본 연구진의 구강 내 분리된 *Viridans Streptococci*의 항균제 감수성과 비교하였으며 그 결과, Penicillin은 내성(중간내성 포함)이 35%와 35.6%, 감수성이 65%, 64.4%이었으며, Clindamycin은 내성(중간내성 포함)이 35%, 24.4%이고 감수성이 65%, 75.6%이며, Cephem 계열은 내성이 35%, 11.1%이며 감수성이 65%, 88.9%이었다(16). Penicillin은 구강과 혈액에서의 항균제 감수성이 비슷하였으나 Clindamycin과 Cephem 계열은 내성율에 10% 이상 차이가 나타났다. 구강에서 분리한 *Viridans Streptococci*는 환자혈액으로부터 분리한 것에 비해 항균제 내성율은 다소 낮게 나타났다. 구강 내에서 분리된 *Viridans Streptococci*은 항균제를 투여 받은 환자 혈액에서 분리된 *Viridans Streptococci*에 비해 항균제를 접할 기회가 적었기 때문에 항균제 내성 획득율이 낮은 것으로 생각된다. 흡연자에서 분리한 *S. aureus* 3균주 중에서 2균주에서 MRSA 로 확인되었으며, 3균주 모두 Beta lactam 계열 항균제에 내성을 나타내는 Beta-lactamase라는 효소를 생성하는 균주로 확인되었다. 흡연자에서 호흡기 질환 중 폐렴을 유발하는 *S. pneumoniae*가 1균주 검출되었다. 그람 음성으로 동정된 결과, 흡연자와 비흡연자에서는 *K. pneumoniae*, *P. pneumotrpica*, *C.*

Table 4. Antimicrobial susceptibilities of Gram-negative bacteria by disk diffusion method

Antibiotics ( $\mu\text{g}$ )	Smoker				Non-Smoker											
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Pasteurella pneumotripica</i>		<i>Citrobacter koseri</i>		<i>Pasteurella multocida</i>		<i>Flavimonas oryzihabitans</i>		<i>Pantoea spp.</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Instrument	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Instrument	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Instrument	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Instrument	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Instrument	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Instrument	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Instrument	MIC ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Instrument
Amikacin	<=2	S	<=2	S	<=2	S	<=2	S	<=2	S	<=2	S	<=2	S	<=2	S
Ampicillin	>=32	R	<=0.25	S	<=0.25	S	<=0.25	S	<=0.25	S	<=0.25	S	<=0.25	S	<=0.25	S
Ampicillin/ Sulbactam	<=4	S	<=4	S	16	I	<=4	S	<=4	S	<=4	S	8	S	<=4	S
Aztreonam	<=8	S	>=32	R	<=8	S	>=32	R	>=32	R	<=8	S	<=8	S	<=8	S
Cefepim	<=8	S	>=32	R	<=4	S	>=32	R	>=32	R	<=8	S	<=8	S	<=8	S
Ceftazidime	<=4	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S
Ceftriaxone	<=2	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S
Cephalothin	<=8	S	<=8	S	16	I	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S
Ciprofloxacin	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S
Gentamicin	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S
Imipenem	<=4	S	<=4	S	<=4	S	<=4	S	<=4	S	<=4	S	<=4	S	<=4	S
Piperacillin	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S
Piperacillin/ Tazobactam	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S	<=8	S
Ticarcillin/CA	<=16	S	<=16	S	<=16	S	<=16	S	<=16	S	<=16	S	<=16	S	<=16	S
Tobramycin	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S	<=0.5	S
Trimeth-fulfa	<=10	S	<=10	S	<=10	S	<=10	S	<=10	S	<=10	S	<=10	S	<=10	S

R, resistant; I, intermediate; S, susceptible

*koseri*, *P. multocida*, *F. oryzihabitans*, *Pantoea* spp.이 동정되었으며, 검출된 균 중에서는 큰 차이를 발견할 수 없었고, 비흡연자에서의 *K. pneumoniae*는 상재 균종으로 분포할 수 있으나, 정상인에 비해 호흡기 질환 발병율이 높은 흡연자에서의 폐렴유발세균은 질병으로 전환가능성을 잠재하고 있다. 이는 구강 내 세균의 항균제 내성획득경로는 알 수 없으나 흡연으로 인해 다양한 호흡기 감염이 유발될 경우 항균제 선택에 있어서 상당한 어려움을 초래하게 될 것이고 흡연자에서 분리된 황색포도구균인 *S. aureus*는 항균제 내성 획득으로 MRSA 및 Beta-lactamase라는 효소를 생성하는 균주로 확인되었다. 흡연자와 비흡연자간의 세균분포에는 큰 변화가 없지만 이런 세균 중 병원성을 가진 세균과 항균제 내성을 획득한 세균들은 흡연과 더불어 구강 내 환경을 악화 시킬 수 있고 더 나아가 인체 내 상재하는 세균들도 악화된 환경으로 인해 항균제 내성과 병원성을 획득하여 심각한 질환으로 전이될 수 있다. 지속적인 흡연은 구강을 직접적으로 자극하고 비흡연자에 비해 구강질환을 유발할 수 있는 세균이 우세하게 나타날 수 있기에 흡연이 구강질환을 악화시키는 원인임을 시사한다.

## 적요

흡연은 음주와 더불어 치과질환을 유발하는 원인인자로 알려져 있으나, 흡연자와 비흡연자간의 구강 내 분포하는 미생물을 조사한 연구는 현재 매우 미비한 상태이다. 본 연구에서는 흡연자 30명, 비흡연자 30명으로 나누어 구강 내 분포하는 세균을 분리하고 혈액천천배지에서 배양하였다. 분리된 병원성 세균은 Kirby-Bauer 항생제 감수성 검사 방법으로 항생제에 대한 감수성 및 내성을 검사하였다. 각각의 콜로니는 그람 염색을 하였고 자동 동정기인 VITEK을 이용하여 동정하였다. 그람 염색법을 이용한 결과 흡연자의 구강에서는 총 41개 균주가 분리되었고, 그 중 그람 양성 구균 63%, 그람 음성 구균 29%, 그람 양성 간균 3%, 그람 음성 간균 5%가 나타났고, 비흡연자의 구강에서는 총 38개 균주가 분리되었고 그 중 그람 양성 구균 55%, 그람 음성 구균 26%, 그람 양성 간균 3%, 그람 음성 간균 16%가 나타났다. VITEK system을 이용하여 세균의 특이적 분포를 조사한 결과 흡연자의 구강에서는 *Streptococcus mutans* (6/41), *Gemella morillorum* (6/41), *Streptococcus oralis* (2/41), *Streptococcus pneumoniae* (1/41), *Staphylococcus aureus* (3/41), *Streptococcus anginosus* (1/41), *Streptococcus intermedius* (1/41), *Streptococcus uberis* (1/41), and *Streptococcus sanguinis* (1/41) 반면 비흡연자의 구강에서는 *Streptococcus sanguinis* (8/38), *Staphylococcus aureus* (1/38), *Staphylococcus auricularis* (1/38), *Streptococcus uberis* (1/38), *Streptococcus intermedius* (1/38), *Streptococcus mutans* (1/38), and *Streptococcus oralis* (1/38)로 나타났다. 3명의 흡연자에서 분리된 *S. aureus*는 Beta-lactamase를 분비하는 MRSA로 동정된 반면 비흡연자 한 명에서 분리된 *S. aureus*는 Beta-lactamase를 분비하지 않고 methicilin에 감수성을 보였다. 흡연자와 비흡연자의 상재균은 다른 분포를 보였고 특히

*G. morillorum*와 MRSA가 흡연자의 구강에서 흔히 발견됨을 알 수 있었다. 이러한 결과들은 흡연자의 구강질환을 예방 및 치료에 유용할 것으로 사료된다.

## 참고문헌

- Ahn, K.D., G.T. Kim, Y.S. Choi, and E.H. Whang. 2007. Effect of irradiation on the *Streptococcus mutans*. *Korean J. Oral Maxillofac. Radiol.* 37, 35-43.
- Brown, L.R., S. Dreizen, S. Handler, and D.A. Johnston. 1975. Effect of radiation-induced xerostoma on human oral microflora. *J. Dental Res.* 54, 740-750.
- Choi, G.W., W.Y. Jang, J.W. Lee, and S.J. Kim. 2010. Micro-organism contamination from wearing one-day disposable contact lenses according to wearing time. *Korean J. Microbiol.* 46, 152-156.
- Cho, E.H. and N.Y. Lee. 2003. Clinical significance of viridans *Streptococcal bacteremia*. *Korean J. Lab. Med.* 23, 246-250.
- Ge, Y., P.W. Caufield, G.S. Fisch, and Y. Li. 2008. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* colonization correlated with caries experience in children. *Caries Res.* 42, 444-448.
- Han, G.S. 2007. Periodontal status in smokers and the effects of professional periodontal care. Hanyang university Doctor of health education degree.
- Jeon, E.H., J.H. Han, and T.Y. Ahn. 2007. Comparison of bacterial composition between human saliva and dental unit water system. *J. Microbiol.* 45, 1-5.
- Kim, O.J. 2010. Oral Candidiasis. *J. Korean Dental Association.* 48, 355-364.
- Kim, S.J. 2009. Identification and distribution of the pathogenic microorganisms isolated from edible ice in North Area of Daegu, Korea. *Korean J. Microbiol.* 45, 86-90.
- Kwon, J.L and J.S. Park. 2002. Comparison of automated systems for identification of *Vibrio* species. *Korean J. Microbiol.* 38, 62-66.
- Lee, S.A., S.Y. Yoo, K.S. Kay, and J.K. Kook. 2004. Detection of hepatitis B virus and *Mycobacterium tuberculosis* in Korean dental patients. *J. Microbiol.* 42, 239-242.
- Lee, S.S. and S.K. Lee. 2010. Herpes infection. *J. Korean Dental Association* 48, 365-370.
- Nam, J.H. 2010. Considerations in dental management and medication for the medically compromised patients. *J. Korean Dental Association* 48, 27-37.
- Page, R.C. and J.D. Beck. 1997. Risk assessment for periodontal diseases. *Int. Dent. J.* 47, 61-87.
- Sliopen, I., J. Van Damme, M. Van Essche, G. Loozen, M. Quirynen, and W. Teughels. 2009. Microbial interactions influence inflammatory host cell responses. *J. Dent. Res.* 88, 1026-1030.
- Uh, Y., G.Y. Hwang, I.H. Jang, K.J. Yoon, and H.Y. Kim. 2002. Antimicrobial susceptibilities of viridans Streptococci isolated from blood cultures during recent period. *J. Lab. Med. Quality Assurance* 24, 225-230.
- Yoo, S.Y., P.S. Kim, H.K. Hwang, S.H. Lim, K.W. Kim, S.J. Choe, B.M. Min, and J.K. Kook. 2005. Identification of non-mutans Streptococci organisms in dental plaques recovering on mitis-salivarius bacitracin agar medium. *J. Microbiol.* 43, 204-208.
- van Winkelhoff, A.J., C.J. Bosch-Tijhof, E.G. Winkel, and W.A. van der Reijden. 2001. Smoking affects the subgingival microflora in periodontitis. *J. Periodontol.* 72, 666-671.