

기성금관 수복어린이에서의 니켈내성균에 관한 연구

정셋별 · 이금호

경희대학교 치과대학 소아치과학교실

국문초록

소아의 유구치 수복에 흔히 사용하는 stainless steel crown은 주성분으로 70~90%의 니켈과 5~15%의 크롬을 함유하고 있다. 이 중 니켈 자체가 일으킬 수 있는 allergy반응이나 발암성등의 부작용이 성인에서는 활발하게 연구되고 있으며, 특히 니켈이 포함된 합금을 이용한 보철물 주변에 병원성이 있는 니켈내성 Enterococci가 존재한다는 보고가 있어 성인과는 구강환경이 다른 소아에서도 stainless steel crown 주변에 니켈내성균주가 존재하는지를 확인하고자 이 실험을 시행하였다. 유구치에 stainless steel crown(Anatom primary crown, Sankin)을 6개월 이상 장착한 환자 15명과 유구치 협면에 치아 우식증이 없는 환자 15명의 치은열구액에서 채취한 시료를 BHI 한천배지, 니켈배지 및 Bile-esculin azide(BEA) 한천 배지에 도말하였다. BEA 한천배지에서 자란 enterococci를 니켈내성정도를 확인하기위해 3, 5, 10, 30, 50mM 니켈배지에 접종한 후 성장상태를 관찰하였다. 실험군에서는 BHI 한천배지에서 507,350개의 균주가 분리되었으며, 이 중 니켈내성세균(3mM)은 53,864 균주였다. 대조군에서는 BHI 한천배지에서 414,590 균주가, 니켈내성세균(3mM)은 37,523 균주가 분리되었다. BEA 한천배지에서는 실험군의 경우 95개가 분리되었으며, 대조군에서는 20개의 균주만이 분리되었다. BHI 한천 배지에서 분리된 총 균주 수를 100으로 놓았을 때 3mM 니켈배지에서 분리된 균주는 실험군에서는 10.62%, 대조군에서는 9.05%를 차지하여 두 군간에 뚜렷한 차이는 없었으며, 3mM 니켈배지에서 자란 총 균주 수와 BEA 한천배지에서 배양된 enterococci를 3mM 니켈배지로 옮겨 배양했을 때와 비교하면, 실험군에서 0.13%, 대조군에서 0.03%로 모두 1%이하의 분포를 차지하였다.

주요어 : 기성금관, 니켈내성, enterococci

I. 서 론

유구치 수복에 가장 오래 사용되어 온 아말감은 저렴하고, 재료의 취급이 용이하며, 시간이 경과함에 따라 미세누출을 자가 봉쇄하는 효과가 있어 임상적으로 성공적인 수복물이나, 최근에는 아말감의 수는 독성이나 심미성의 문제로 복합레진이나 글래스 아이오노머 시멘트 등으로 대체되고 있으며, 특히 우식이 심하여 적절한 와동형성이 힘들고, 교환시기까지 유지가 불가능하거나 치수절단술 후의 치관파절 위험이 많은 경우에는 기성금관(stainless steel crown)의 사용이 추천되고 있다. Einwag와 Dunninger¹⁾은 여러 면에 아말감을 수복한 경우와 기성금관을 사용한 경우에 실패율을 비교하였는데, 수복 4.5년 후에 아말감 수복은 62.5%에서 실패하였으나 기성금관 수복은 10% 미만의 실패율을 나타내었다고 보고하였다. 이와 같이 높은 임상적인 성공률과 다양한 적응증으로 기성금관은 소아치과에서 흔히 사용하는 술식이 되었다. 기성금관은 70~90%의 니

켈과 5~15%의 크롬을 함유하고 있으며, 이 중 주성분인 니켈의 생체적합성에 대해 많은 논란이 있어 왔다²⁾. 니켈은 이미 독성물질로 분류되어 있으며, 특히 알러지반응과 발암성을 나타내는 것이 밝혀지고 있어 치과용 금속으로 사용하는 것을 재검토하고 있다^{3,4)}.

니켈의 알러지반응에 대한 연구로 Wood⁵⁾는 점막에 접촉성 구내염(contact stomatitis)이 나타난다고 하였으며, Brendlinger 등⁶⁾은 구강 점막염증을 제외한 전신적인 피부염이 나타난다고 하였다. Barton⁷⁾은 니켈로 인해 호흡기계에 암이 유발될 수 있다고 하였다. 인체에 직접적으로 영향을 주는 이와 같은 유해성 이외에, 니켈은 인간에게 간접적으로 영향을 끼치는 환경적 요인으로도 문제가 제기되고 있는데⁸⁾, 생태계 내에서는 니켈광산이나 니켈을 원료로 사용하는 산업체가 위치한 공업지대의 오수, 토양에서 니켈내성을 나타내는 미생물이 보고되었다⁹⁾. 이들은 *Alcaligenes*¹⁰⁾, *Klebsiella*¹¹⁾, *Escherichia*¹²⁾, *Enterobacter*¹²⁾, enterococci¹³⁾ 등으로, 특히 enterococci는

1970년 Kalina¹⁴⁾가 장에 존재하는 연쇄구균인 *Streptococcus faecalis*와 *Streptococcus faecium*을 enterococcus로 분리시키면서 enterococci에 대한 연구가 활발하게 진행되어 왔다. enterococci는 위장관과 비뇨기관에 존재하는 정상세균총으로¹⁵⁾, 과거에는 병원성이 낮은 세균으로 여겨졌으나 최근에는 심내막염, 패혈증 같은 심각한 감염을 일으키는 것으로 평가되고 있으며^{16,17)}, 이러한 패혈증으로 인해 이차적으로 요도관감염이나 복부감염이 나타난다^{18,19)}. 특히 미국의 National Nosocomial Infections Survey²⁰⁾에서는 enterococci를 병원성 획득감염의 주요한 원인균이라고 하였으며, 장기 입원환자나 노인에게서 주로 감염을 일으킨다고 하였다. 최근 채 등²¹⁾도 니켈이 포함된 합금을 이용한 보철물 주위에 병원성이 있는 니켈 내성 enterococci가 존재한다고 보고한 바 있다. 니켈에 내성이 있는 enterococci가 구강 내 존재함에 따라 면역력이 저하된 노인이나 전신질환이 있는 환자에서 이차적인 세균성 심내막염이나 요로감염 등에 이환될 수 있는 가능성이 있다. 이에 니켈이 주성분인 stainless steel crown(이하 기성금관으로 표기)의 사용이 많은 소아에서도 기성금관 주변에 니켈 내성균주가 존재하는지를 확인하고, 특히 면역이 저하되었거나 전신질환이 있는 환자에게 영향을 줄 수 있는 니켈에 내성이 있는 enterococci가 나타나는지 알기위해 이 실험을 시행하였다.

II. 실험재료 및 방법

경희대학교 치과대학 부속병원 소아치과에 내원한 3~8세 사이의 환자 중 유구치에 기성금관(Anatom primary crown, Sankin Manufacture Co., Japan)을 6개월 이상 장착한 환자들을 대상으로 무작위로 15명의 환자를 실험군으로 선택하여 이들로부터 균주를 채취하였다. 기성금관이 장착된 협측 치은 열구 내로 멸균된 paper point를 저항이 약간 느껴질 정도로 삽입한 후 20초간 치은 열구액을 흡수하게 하였다. 치은 열구

액을 흡수한 paper point를 Brain-heart-infusion(BHI; Difco, U.S.A.) 액체배지에 넣어 충분히 섞어주고, 이를 세균 원액으로 하여 원액 및 10배로 단계희석한 것을 100μl 씩 BHI 한천배지에 도말하였다. 동시에 nickel chloride (NiCl₂·6H₂O)를 최종농도가 3mM이 되도록 첨가한 BHI 한천배지에 접종하여 니켈에 내성이 있는 세균이 나타나는지 관찰하였다. 또한 enterococci를 선택적으로 분리하기 위해 Bile esculin azide(BEA; Difco, U.S.A.) 한천배지에 접종하여 enterococci의 존재여부를 관찰하였다. 접종 후 배지를 37°C에서 혐기배양기(Forma Scientific, Anaerobic system, California, USA)를 이용하여 배양한 후 성장한 균주 수를 확인하였다.

BEA 한천배지에서 분리된 enterococci 균주를 멸균된 목봉(wood stick)을 이용하여 3, 5, 10, 30, 50mM니켈배지에 각각 직접 도말하고, 혐기성 조건하에서 배양하여 enterococci의 성장여부를 관찰하였다.

대조군으로는 3~8세 사이의 환자 중 치은 열구액을 채취할 유구치 협면에 치아우식증이나 수복물이 없는 환자 15명을 선택하여 동일한 방법으로 실험을 시행하여 그 결과를 실험군과 비교, 분석하였다.

III. 결 과

기성금관이 장착된 치아의 치은 열구액에서 채취한 시료를 일반 세균 배양배지인 BHI 한천배지에서 배양하였을 때 총 507,350개의 균주가 성장하였으며, BHI 한천배지와 동시에 접종한 3mM 니켈배지에서는 53,864개의 균주가 생존하여 기성금관 주변의 세균 중 니켈 내성균주는 10.62%를 차지하였다 (Table 1, Fig. 1). 개인별로 보았을 때 니켈 내성균주는 BHI 한천배지에서 성장한 세균 수 대비 최저 1.1%에서 최고 43.4%를 나타내었다. 또 BEA 한천배지에서 성장한 enterococci는 모두 95개였다. 대조군에서는 BHI 한천배지에서

Table 1. Bacterial isolates from patients wearing SS crown

Sample	BHI	3mM Ni	BEA
E 1	2,350	156	0
E 2	78,000	7,910	13
E 3	12,000	3,065	0
E 4	26,000	8,100	27
E 5	65,000	11,420	28
E 6	89,000	2,100	0
E 7	80,200	890	5
E 8	5,850	1,090	2
E 9	56,400	4,821	0
E 10	5,600	1,679	1
E 11	19,600	8,500	6
E 12	5,900	563	2
E 13	14,800	1,360	3
E 14	31,900	960	0
E 15	14,750	1,250	8
Sum	507,350	53,864	95

Table 2. Bacterial isolates from individuals without SS crown

Sample	BHI	3mM Ni	BEA
C 1	48,000	6,040	2
C 2	76,000	4,400	0
C 3	18,240	548	3
C 4	19,150	1,870	0
C 5	7,300	892	0
C 6	21,200	6,280	0
C 7	4,400	1,214	0
C 8	1,450	336	0
C 9	59,200	4,355	4
C 10	31,650	2,624	8
C 11	6,600	445	0
C 12	20,750	5,700	0
C 13	76,200	1,748	2
C 14	16,750	914	0
C 15	7,700	157	1
Sum	414,590	37,523	20

BEA : Bile esculin azide agar medium

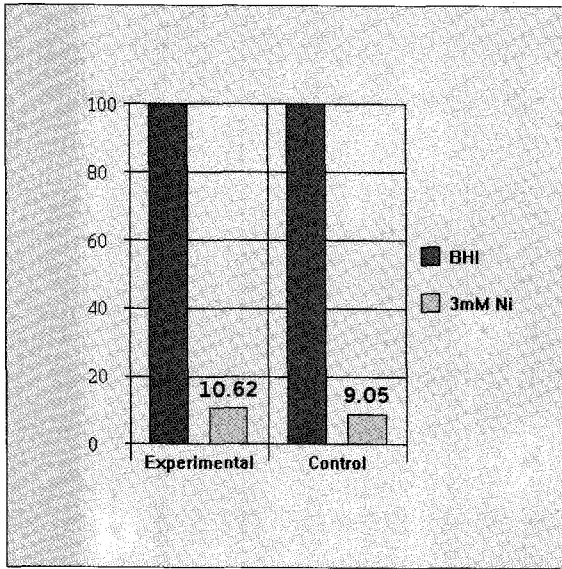


Fig. 1. Comparison of Ni-resistant bacterial isolates

Table 3. Ni-resistance of the bacterial isolates from patients wearing SS crown:

Sample	BEA	3mM Ni	5mM Ni	10mM Ni	30mM Ni	50mM Ni
E 1	0	0	0	0	0	0
E 2	13	1	1	0	0	0
E 3	0	0	0	0	0	0
E 4	27	27	26	19	3	0
E 5	28	25	21	14	3	1
E 6	0	0	0	0	0	0
E 7	5	4	3	0	0	0
E 8	2	1	1	0	0	0
E 9	0	0	0	0	0	0
E 10	1	0	0	0	0	0
E 11	6	6	5	0	0	0
E 12	2	0	0	0	0	0
E 13	3	3	3	1	0	0
E 14	0	0	0	0	0	0
E 15	8	1	1	0	0	0
Sum	95	68	61	34	6	1

growth on bile esculin azide agar (Experimental)

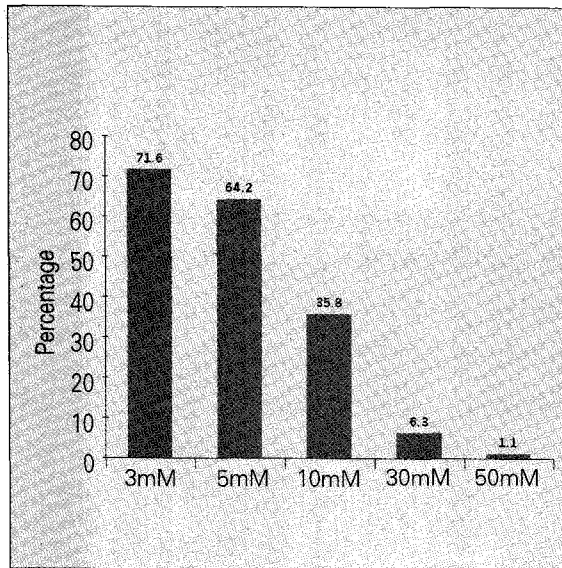


Fig. 2. Enterococci in nickel-containing media(Experimental)

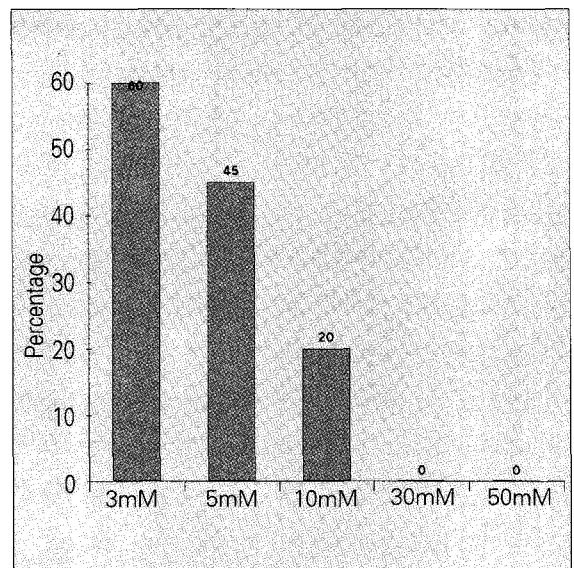


Fig. 3. Enterococci in nickel-containing media(Control)

414,590개의 균주가 성장하였으며, 3mM 니켈배지에서 생존한 니켈 내성균주는 37,523개 균주로 9.05%였으며 (Table 2, Fig. 1), 개인별로는 최저 2.0%에서 최고 29.6%까지 니켈 내성균이 나타났다. BEA 한천배지에서는 20개의 enterococci가 성장하였다.

BEA 한천배지에서 자란 enterococci의 니켈내성을 확인하기 위해 니켈농도를 높여가면서 배양하였을 때 실험군에서는 3mM 니켈배지에서 총 95개의 enterococci 중 68개(71.6%)가 생존하였으며, 5mM에서는 61개(64.2%), 10mM에서는 34개(35.8%), 30mM에서는 6개(6.3%), 50mM에서는 1개(1.1%)의 균주가 나타났다 (Table. 3, Fig. 2). 이 결과에서 처

럼 니켈의 농도를 조금씩 높였을 때 그 수가 감소하기는 하였으나 최고 농도인 50mM 니켈배지에서도 생존하는 균주가 관찰되었다. 대조군에서는 BEA 한천배지에서 분리된 총 20개의 enterococci 중 3mM 니켈배지에서 12개(60%)의 균주만 성장하는 것이 관찰되었으며, 니켈의 농도를 높여가면서 배양하였을 때 10mM 이상 농도에서 생존한 enterococci는 없었다 (Table 4, Fig. 3). 실험군에서 3mM 니켈배지에서 자란 총 균수(53,864개)와 BEA 한천배지에서 배양된 enterococci를 3mM 니켈배지로 옮겨 배양했을 때(68개)와 비교하면 3mM 니켈배지에서 성장한 enterococci는 0.13%를 차지하였으며, 대조군에서는 3mM 니켈배지에서 성장한 enterococci(12개)

Table 4. Ni-resistance of the bacterial isolates from individual without SS crown

Sample	BEA	3mM Ni	5mM Ni	10mM Ni	30mM Ni	50mM Ni
C 1	2	2	2	2	0	0
C 2	0	0	0	0	0	0
C 3	3	3	3	0	0	0
C 4	0	0	0	0	0	0
C 5	0	0	0	0	0	0
C 6	0	0	0	0	0	0
C 7	0	0	0	0	0	0
C 8	0	0	0	0	0	0
C 9	4	2	2	1	0	0
C 10	8	2	0	0	0	0
C 11	0	0	0	0	0	0
C 12	0	0	0	0	0	0
C 13	2	2	1	0	0	0
C 14	0	0	0	0	0	0
C 15	1	1	1	1	0	0
Sum	20	12	9	4	0	0

growth on bile esculin azide agar (Control)

가 니켈내성 세균(37,523개) 중 0.03%의 분포를 나타내었다.

IV. 총괄 및 고안

유구치의 금관수복에는 기공실에서 제작한 주조금관에 의한 방법과 시판되는 기성금관에 의한 방법이 있는데, 유치의 해부학적 특성, 비용, 기공조작 등을 고려하여 주로 기성금관에 의한 방법이 사용된다. 기성금관 수복은 주조금관에 비해 치질의 삭제량이 적고 치관의 근원심 길이의 회복을 쉽게 할 수 있으며, 유치의 해부학적 형태와 저작기능의 회복을 용이하게 할 수 있다²²⁾. 또한 니켈-크롬합금은 항복강도와 탄성계수가 높아 기성금관을 얇게 제작할 수 있으며²³⁾, 이의 높은 탄성을 이용하여 유지력을 얻으므로 임상치관의 길이가 짧고, 우식으로 치관의 파괴가 심하여 주조금관으로 유지력을 얻기가 어려운 유구치에서 유용하며, 제작과 조정이 간편하고 지대치 삭제 후 즉시 수복할 수 있어 어린이의 치과치료에 적합한 방법이다²⁴⁾. 기성금관은 광범위한 우식병소가 있어 아말감 수복을 유지할 지지가 부족한 경우, 상아질 형성부전증이나 법랑질 형성부전증과 같은 선천성 기형을 가진 치아와 잔존하는 치관부위의 치질이 파절될 위험이 많은 치수절단술 후의 유치에서 흔히 사용되며, 고정식 간격유지 장치의 지대치로 사용한다²²⁾. 이와 같이 소아치과 영역에서 다양한 목적으로 사용하는 기성금관은 Humphrey²⁵⁾가 1950년에 최초로 72%의 철, 18%의 크롬, 8%의 니켈, 0.8~2%의 탄소로 구성된 chrome steel crown을 처음 도입한 이래, 최근에는 70~90%의 니켈과 5~15%의 크롬으로 구성된 nickel steel crown을 널리 사용하고 있다. 본 실험에서 사용한 기성금관(Anatom primary crown, Sankin Manufacture Co., Japan)은 니켈 89.9%, 크롬 5.5%, 구리 4.54% 및 0.06%의 은이 함유된 것으로 니켈의 함량이 성인에

서 이용하는 주조용 보철합금의 65~80%보다 높다.

치과영역에서 니켈을 함유하는 합금의 사용이 점차 증가함에 따라 니켈의 생체적합성과 구강 내에서 치과용 장치로부터 니켈이온의 유리등으로 인한 생물학적인 안전성에 관한 의문이 증가되어 왔다^{2,4,26,27)}. 니켈은 접촉성 알러지를 유발하는 가장 흔한 원인 중의 하나로 알려져 있으며²⁸⁾, 니켈을 함유한 장신구, 단추, 지퍼 등과 접촉할 경우 쉽게 알러지가 일어날 수 있다^{28,29)}. 니켈 알러지는 여성에게서 더 높은 빈도로 나타나며, 여자의 10%에서, 남자에서는 1% 미만으로 경험한 것으로 보고되고 있다²⁾. 니켈에 대한 알러지 반응은 점점 증가하는 추세로 Kanerva 등³⁰⁾은 이탈리아에서 1967년에 실시한 patch test에서는 여성의 3.9%에서 니켈 알러지가 나타났으나 1988년에는 31.9%로 증가했다고 하였다. Allenby와 Goowin³¹⁾은 patch test에서 양성반응을 보이는 니켈의 한계농도는 112ppm (0.05% nickel sulfate)라 하였으며, Covington 등³²⁾은 1회 복용으로 알러지 반응을 나타낼 수 있는 니켈의 양은 0.6~2.5mg이라고 하였다. Feasby 등³³⁾은 700명의 어린이를 대상으로 니켈에 대한 patch test(2.5% nickel sulfate gel)를 한 결과 기성금관, band-loop 형태의 간격유지장치, lingual arch 등의 니켈을 포함한 장치를 한 어린이에서 더 높은 양성반응을 나타내었다고 하였으며, 특히 실험대상자 중 다른 구강 내 장치에 비해 니켈의 함량이 높은 nickel-chromium crown(72% nickel)을 장착한 어린이에서 양성반응이 매우 많이 나타났다고 보고하였다. Park과 Shearer³⁴⁾은 니켈을 포함한 합금을 구강 내 사용시 나타나는 알러지 반응으로 환자는 금속성의 맛, 타액분비의 증감, 점막자극 및 구강 일부 또는 전체의 작열감 등의 주관적인 증상을 호소한다고 하였으며, Magnusson 등³⁵⁾은 구강 내 알러지 반응의 이런 증상들은 산성음식을 섭취하거나, 불결한 구강위생, 이갈이와 심신상태가 악화되었을 경우 주로 나타난다고 하였다.

니켈의 발암성에 대해서는 nickel carbonyl, nickel subsulfide, nickel sulfide 등의 니켈복합체가 발암성을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 니켈의 잠복기는 22년이고, 주 표적기관은 폐이다³⁶⁾. 또 분진형태의 니켈을 흡입하였을 경우 비강과 폐 조직에 암을 유발할 수 있으므로²⁾, 치과의사나 치기공사의 경우가 금속을 다룰 때 반드시 마스크를 착용하고 고속흡입기를 사용하여 니켈의 공기 중 농도를 제한농도이하로 유지하여야 한다⁴⁾. 미국에서는 작업장 내에서 니켈의 공기 중 농도가 일주일에 10~40시간 사이에 15 μ g/m³을 넘어서는 안 된다고 규정하고 있다²⁷⁾. 그러나 인간에서의 니켈이 함유된 치과용 합금의 사용과 발암성간의 상관관계에 대해서는 알려진 바 없다.

Tai 등²⁸⁾은 인공적인 구강 환경 내에서 니켈이 함유된 금속간, 니켈 함유 금속과 도재, 니켈 함유 금속과 자연치의 교합관계를 설정하여 1년간의 저작운동 후에 유리되는 니켈이온의 양을 측정된 결과, 니켈 함유 금속과 도재의 관계에서 가장 많은 양의 니켈이온이 유리되었다고 하였다. 또 인공타액 내에서 1년간의 저작운동 후 20ml의 시료에서 채취된 니켈이온의 양은 하루에 금관 하나 당 최저 39ppb에서 최고 130ppb로, 이것은

만약 하루에 1 l의 침을 삼키는 경우 30 μ g에서 100 μ g의 니켈을 같이 섭취하게 되는 것을 의미한다고 하였다. 이는 하루에 음식물을 통해 섭취하는 니켈의 양인 300~600 μ g과 비교할 때 그리 큰 비중을 차지하지 않는다. 본 연구에서는 니켈-크롬합금으로 제작된 기성금관 주변의 치은 열구액을 실험군으로 사용하였고, 대조군으로 협면에 치아우식증이나 수복물이 없는 유구치의 치은열구액을 채취하여 니켈에 내성이 있는 세균이 있는가를 분석하였다. 연구 결과에서 보여준 바와 같이 BHI배지에서 자란 총 균주에 대한 3mM 니켈배지에서 자란 균주의 비율은 실험군에서는 10.62%, 대조군에서는 9.05%로 뚜렷한 차이 없게 나타났다. 물론 기성금관 주변에 있는 치은 열구액에서의 니켈의 분포가 자연치 주변의 것보다 높겠지만, 정상적으로 치은 열구액 내에 존재하는 니켈의 농도와 큰 차이가 없는 것으로 생각되며, 따라서 각 군의 니켈 내성균의 분포 차이가 없게 결과가 나타난 것으로 판단된다.

채 등²¹⁾은 니켈-크롬 합금 보철물을 장착한 환자의 치은 열구액에서 채취한 시료에서 니켈 내성을 가진 균주가 발견되었으며, 103개 시료에서 분리된 균주를 니켈의 농도를 높여가면서 배양하여 60mM 니켈 배지에서도 생존한 15균주를 생화학적 방법으로 동정한 결과, 13균주의 *Enterococcus faecalis*와 각각 1균주씩의 *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter gingivae*가 나타났다고 보고하였다. 니켈 내성을 나타낸 균주 중 많은 분포를 차지한 *Enterococcus faecalis*는 group D streptococci 균으로 주로 피부, 상기도, 위장관, 비뇨생식기관에 존재하는 정상 세균총으로²⁵⁾, 요도감염¹⁸⁾, 담도감염¹⁸⁾을 일으키며, 패혈증¹⁷⁾, 심내막염¹⁶⁾, 창상감염¹⁹⁾, 위장관감염³⁸⁾의 원인균이다. 특히 노인이나 전신쇠약 환자, 점막이나 상피조직의 이상이 있는 환자, 항생제 치료로 정상 세균의 균형이 파괴된 환자에서 감염을 일으킨다¹⁵⁾. 또 미국의 National Nosocomial Infections Survey에서는 *E. coli*에 이어 병원성 획득감염의 주된 원인균이라고 하였으며, 병원 장기입원환자에서 심내막염이나 패혈증 같은 심각한 질환을 일으킨다고 하였다³⁹⁾. Enterococci에 의한 병원성 획득감염은 치료가 매우 힘든데, 이는 enterococci가 penicillin, aminoglycoside, cephalosporin, streptomycin 등의 많은 항생제에 대해 내성을 가지기 때문이다¹⁵⁾.

구강 내에서 enterococci는 정상 성인의 치은열구 내에서 7.2%가 나타나며, 타액 내 1.3%가 존재한다⁴⁰⁾. 또 우식증이 상아질까지 진행되었거나⁴⁰⁾, 감염된 근관⁴¹⁾ 및 치태⁴²⁾에서 흔히 나타나며, 치과치료 후 발생하는 세균성 심내막염에 중요한 원인균이다. McGowan⁴³⁾은 감염원이 규명된 4821명의 세균성 심내막염 환자를 대상으로 조사한 결과 이 중 13.2%의 환자에서 발치, 치주수술 등의 치과치료 후 세균성 심내막염이 나타났다고 보고하였다. Campbell 등⁴⁴⁾은 1950년부터 1975년까지 25년 동안 치과치료 후 세균성 심내막염에 이환된 환자 346명을 대상으로 조사한 결과 단지 8명에서 enterococci가 원인균으로 나타났다고 하였다. 이외에 세균성 심내막염이 enterococci에 의해 나타나는 빈도에 관한 보고로는 Parker와 Ball¹³⁾이 5~15%에서, Lebovics와 Baker⁴⁶⁾는 6%에서 나타난다고

하였다. 또 남성의 경우 60세 이상에서 주로 발생하며, 여성은 40세 이전에 나타난다고 한다. McCrary 등⁴⁷⁾은 0.1% peptone-saline solution 5ml로 구강을 세정한 후 이 용액을 분석한 결과 22명의 치주질환 환자 중 4.5%에서, 18명의 medically-physically compromised 환자의 27.8%에서 enterococci가 나타났음을 보고하여 전신질환 환자에서 치과치료 후 획득성 감염이 나타날 수 있음을 경고하였다. Smyth 등⁴⁸⁾은 Trinity대학의 미생물학 교실원, 치과환자, 혈액투석환자와 혈액투석실 기사를 대상으로 치태 내 enterococci의 존재 유무를 조사한 결과 5~20%의 빈도로 유의성 있는 차이는 없었으나, 입원 중인 혈액투석 환자와 그들의 투석기사의 경우 외래의 혈액투석 환자와 기사에 비해 치태 내의 enterococci의 발현 빈도가 더 높다고 보고하였다.

본 연구에서는 치은열구액 내에 enterococci가 존재하는지를 알기 위해 치은열구액에서 채취한 시료를 BEA 한천배지에 접종하여 enterococci의 성장 여부를 관찰하였다. Enterococci는 실험군에서 95균주, 대조군에서 20균주가 성장하여 실험군에서 더 많이 나타났음을 알 수 있으나, Table 1, 2에서 보는 것처럼 BEA 한천배지와 동시에 접종한 BHI 배지에서 가장 많은 경우 89,000 균주가, 가장 적은 경우 1,450 균주가 배양되어 개인간의 차이가 너무 커서 통계상의 의의를 찾기는 어렵다. 이런 차이는 20초간의 동일한 시간동안 시료를 채취하였음에도 불구하고 시료 채취시의 오차와 개인에 따라 치은 열구액의 차이가 크고, 구강 내 세균 수의 차이도 크기 때문인 것으로 판단된다.

BEA 한천배지에서 배양된 enterococci가 니켈 내성이 있는지를 알기 위해 다시 3mM 니켈 배지에 옮겨 배양하였을 때, 3mM 니켈 배지에서 자란 니켈 내성 균주와 BEA 한천배지에서 성장한 니켈 내성 enterococci를 비교하면 실험군에서는 0.13%, 대조군에서는 0.03%의 결과를 얻었다. 단지 이 결과만을 가지고 비교하면 실험군과 대조군에서 약 4배의 차이가 있지만, 3mM 니켈 배지에서 자란 니켈 내성균 전체와 비교하면 두 군 모두 니켈 내성 enterococci가 1% 미만으로 매우 적은 분포를 나타내었다. 3mM 니켈배지에 enterococci를 접종할 때 동시에 5, 10, 30, 50mM 니켈배지에도 도달한 결과 실험군에서 일부 enterococci가 최고 50mM의 농도에서도 관찰되었으며, BEA 한천배지에서 성장한 enterococci 수를 100으로 놓았을 때 10mM 니켈배지에서 성장한 균주는 실험군에서 35.8%, 대조군에서 20%로 실험군에서 더 많은 균주들이 니켈의 존재 하에서 생존하였음을 알 수 있었다. 대조군에서는 10mM 이하까지 enterococci가 성장하였고, 그 이상의 농도에서는 나타나지 않았다. 이 결과에서 보는 것처럼 니켈 함유 기성금관 주변에 니켈에 대해 내성이 높은 enterococci가 존재하는 것으로 보아 니켈의 존재가 enterococci의 니켈내성에 어느 정도 영향을 주는 것으로 생각된다. Enterococci 자체에 니켈이 나타내는 영향을 확실하게 알 수는 없으나, 니켈과 같은 중금속이 존재하는 환경에서 중금속 내성을 가진 세균은 동시에 항생제 내성을 가지는 것이 보고되고 있다. Choudhury와

Kumar⁴⁷⁾은 해수 환경에서 분리된 *Vibrio cholerae* non-O1, enterotoxinogenic *Escherichia coli*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 중금속 내성과 항생제 감수성에 관한 연구를 한 결과, 이들 세균은 아연, 카드뮴, 납, 코발트, 구리, 니켈, 은이 10 mM이상 존재하는 곳에서도 성장이 가능하며 5~10개의 항생제에 내성을 가진다고 하였다. Hernamdez 등¹²⁾도 기름 정제소 주변의 오염된 토양에서 중금속 내성이 있는 균주들을 분리해 냈는데, 이 균주들은 *Escherichia hermanni*와 *Enterobacter cloacae*로서 니켈과 바나듐에 내성을 가진다고 보고하였으며, BHI 배지에 vanadyl sulfate를 10mM의 농도로 첨가한 배지에서 성장한 *E. hermanni*와 *E. cloacae*가 multidrug resistance를 나타내었다고 하였다. 위에서 언급된 세균들의 경우 중금속 내성을 가지는 유전자가 chromosome이나 plasmid 내에서 발견된다^{48,49)}. 이와 같은 보고들을 미루어 니켈 내성 enterococci가 항생제에 대한 내성을 가지고 있을 수 있고 따라서 enterococci가 출현할 경우 향후 전신적으로 심내막염과 같은 문제를 유발할 수 있는 가능성을 생각해 볼 수 있다.

앞에서 언급한 것처럼 enterococci가 치과영역에서 심내막염 같은 획득성 감염을 일으킬 수 있으나, 본 연구의 결과에서처럼 실험군과 대조군 모두에서 니켈 내성균이 유사한 비율로 존재하며, 실험군에서 니켈에 좀 더 내성이 높은 enterococci가 나타나지만 대조군에서도 니켈에 내성을 가진 enterococci가 성장한 것으로 보아 단지 구강 내 니켈이 함유된 수복물이 존재한다고 하여 이 니켈로 인해 enterococci가 높은 빈도로 발현하는 것이 아님을 알 수 있었다. 그러나 enterococci가 실험군에서 95균주, 대조군에서 20균주가 관찰되어 수치상으로는 실험군에서 더 많이 나타난 것으로 보아 enterococci로 인해 치과영역에서 획득성 감염을 일으킬 수 있는 가능성이 실험군에서 더 높게 나타난 것을 간과하여서는 안 될 것이며, 앞으로 충분한 수의 시료를 가지고 실험하는 것이 반드시 필요하다고 판단된다. 그리고 이 실험에서는 구강 내 니켈 내성 균주 중 enterococci만을 배양, 분리하였으나 실험 결과에서처럼 0.13%의 아주 적은 분포를 차지하고 있음을 알 수 있었으며, 앞으로 enterococci이외에 다수를 차지하는 구강 내 니켈 내성 균주의 분리 및 동정을 위한 실험이 진행되어야 할 것이다. 또한 위에서 언급한 것처럼 니켈 등의 중금속에 내성을 가지는 세균의 경우 항생제에도 내성을 가지는 경우가 많으므로 앞으로 구강 내에서 분리되는 니켈 내성세균의 항생제 감수성에 대한 검사가 더 이루어져야 할 것이다.

V. 결 론

니켈-크롬합금으로 제작된 기성금관 주변에 니켈내성 세균과 특히 니켈에 내성이 있는 enterococci의 존재하는지를 알기 위해 기성금관 주변의 치은 열구액에서 채취한 시료와 자연치아 주변의 치은 열구액에서 채취한 시료를 각각 BHI 배지, 3mM 니켈배지, BEA 한천배지에 동시에 접종하고, BEA 한천배지에서 성장한 enterococci를 다시 3, 5, 10, 30, 50mM 니켈배

지에 옮겨 배양하여 니켈에 대한 내성을 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. BHI 한천배지에서 분리된 총 균주 수와 3mM 니켈배지에서 분리된 균주 수를 비교하였을 때 실험군에서는 10.62%, 대조군에서는 9.05%로 두 군간에 뚜렷한 차이는 없었다.
2. BEA 한천배지에서 분리된 enterococci 수는 실험군에서 95개, 대조군에서는 20개가 분리되었으며, 니켈 내성을 갖는 enterococci 수는 실험군에서 68개, 대조군에서 12개로 전체 내성균주 중 0.13%, 0.03%를 차지하였다.
3. BEA 한천배지에서 분리된 enterococci 중 일부 균주는 최고 50mM 니켈배지에서도 성장하였다.

이상의 결과에서 기성금관 주변균과 자연치열군의 니켈내성균 간의 수적인 차이는 매우 적었고, 분리된 enterococci는 니켈내성균 전체의 1%미만의 적은 분포로 기성금관 장착으로 인해 획득성 감염이 발생될 가능성이 희박하여 전신질환자를 포함한 소아환자에서 기성금관의 사용이 미생물학적 측면에서 안정성을 가지고 있다고 사료된다.

참 고 문 헌

1. Einwag J, Dunninger P : Stainless steel crown versus multisurface amalgam restorations:an 8-year longitudinal clinical study, Quintessence 27:321-323, 1996.
2. National Institute of Dental Research : Biocompatibility of metals in dentistry, JADA 109:469-471, 1984.
3. Bergman M, Bergman B, Soremark R : Tissue accumulation of nickel released due to electrochemical corrosion of non-precious dental casting alloys, J Oral Rehabil 7: 325-330, 1980.
4. Council on dental materials, instruments, and equipment : Report on base metal alloys for crown and bridge application : benefit and risk. JADA 111:479-83, 1985.
5. Wood JF : Mucosal reaction to cobalt-chromium alloy, Br Dent J 136:432, 1974.
6. Brendlinger DL, Tarsitano JJ : Generalized dermatitis due to sensitivity to a chrome cobalt removable partial denture, JADA 81:392, 1970.
7. Barton RT : Nickel carcinogenesis the respiratory tract, J Otolaryngol 6(5): 412-422, 1977.
8. Macaskie LE, van der Lelie, Gutnick D : Bacterial interaction with heavy metal in the enviroment, Res Microbiol 148:513-551, 1987.
9. Berstein A, Bernauer I, Marx R, Geurtsen W :

- Human cell culture studies with dental metallic materials, *Biomaterials* 13(2):98-100, 1992.
10. Siddiqui RA, Benthin K, Schlegel HG : Cloning of PMOL28-encoded nickel resistnace gene and expression of the gene in *Alcligenes eutrophus*, *J Bacteriol* 171(9):5071-8, 1989.
 11. Stoppel RD, Meyer M, Schlegel HG : The nickel resistance determinant cloned from the enterobacterium *Klebsiella oxytoca* : conjugational transfer, expression, regulation and DNA homologies to various nickel-resistant bacteria, *Biometals* 8:70-9, 1995.
 12. Hernandez A, Mellado RP, Martinez JL : Metal accumulation and vanadium -induced multidrug resistance by environmental isolates of *Escherichia hermannii* and *Enterobacter cloacae*, *Appl Environ microbiol* 64(11):4317-20, 1998.
 13. Parker MT, Ball LC : Streptococci and aerococci associated with systemic infection in man, *J Med Microbiol* 9:275, 1976.
 14. Kalina AP : The taxonomy and nomenclature of enterococci, *Int J Syst Bacteriol* 20 :185-189, 1970.
 15. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM : *Zinsser Microbiology*. 20th ed., Appleton & Lange, Norwalk, pp417-29, 1992.
 16. Svandom M, Strandell T : Bacterial endocarditis. I. A prospective study of etiology, underlying factors and foci of infection, *Scand J Infect Dis* 10(3):193-202, 1978.
 17. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR : The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adult, *Rev Infect Dis* 5(1):35-53, 1983.
 18. Gross PA, Harkavy LM, Barden GE, Flower MF : The epidemiology of nosocomial enterococcal urinary tract infection, *Am J Med Sci* 272:75-81, 1976.
 19. Stone AM, Tucci VJ, Isenberg HD, Wise L : Wound infection: a prospective study of 7519 operations, *Am Surg* 42:849-852, 1976.
 20. Noskin GA, Peterson LR, Warren JR : *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* bacteremia : acquisition and outcome, *Clin Infect Dis* 20:296-301, 1995.
 21. 채영아, 우이형 : 니켈-크롬 합금 보철물 주위 치은열구내에서 발견되는 니켈내성 균주에 관한 분자생물학적 연구, *대한보철학회지*, 1999
 22. 대한소아치과학회 : 소아·청소년 치과학, *신흥인내서날*, pp234-239, 1999.
 23. Anusavice KJ, Phillips' *Science of Dental Materials*, 10th ed., W.B.Saunders Co., Philadelphia, pp641-647, 1996.
 24. Magnusson BO, *Pedodontics-A Systematic Approach*, 1st ed., Munksgaard, Copenhagen, pp211-212, 1981.
 25. Humphrey WP : Uses of chrome steel in children's dentistry, *Dent Surv* 26:945,1950.
 26. Newman S, Chamberlain RT, Junez LJ : Nickel solubility from nickel-chromium dental casting alloys, *J Biomed Mater Res* 15:615-617, 1981.
 27. Pierce LH, Goodkind RJ : A status report of possible risks of base metal alloys and their components, *J Prosthet Dent*. 62:234-238, 1989.
 28. Roul S, Ducombs G, Taieb A : Usefulness of the european standard series for patch testing in children, *Contact Dermatitis* 40:232-235, 1999.
 29. Peltonen L : Nickel sensitivity in the general population. *Contact Dermatitis* 15:97-101, 1979.
 30. Kanerva L, Estlander T, Zitting A, Jolanki R, Tarvainen K : Nickel release from metals, and a case of allergic contact dermatitis from stainless steel, *Contact dermatitis* 31:299-303, 1994.
 31. Allenby CF, Goodwin BF : Influence of detergent washing powders on minimal patch test concentrations of nickel and chromium. *Contact Dermatitis* 9:491-499, 1983.
 32. Covington JS, McBride MA : Quantization of nickel and beryllium leakage from base metal casting alloys. *J Prosthet Dent* 54:127-136, 1985.
 33. Feasby WH, Ecclestone ER, Grainger RM : Nickel sensitivity in pediatric dental patients, *Pediatr Dent* 10:127-129, 1988.
 34. Park HY, Shearer TR : In vitro release of nickel and chromium from stimulated orthodontic appliance, *Am J Orthod* 84(2):156-9, 1983.
 35. Magnusson B, Bergman M, Bergman B, S remark R : Nickel allergy and nickel-containing dental alloys. *Scand J Dent Res* 90:163-167, 1982.
 36. Sunderman MF : A review of the carcinogenicities of nickel, chromium, and arsenic compounds in man and animals, *Prev Med* 5:270-294, 1976.
 37. Tai Y, De Long R, Goodkind RJ, Douglas WH : Leaching of nickel, chromium and beryllium ions from base metal alloy in an artificial oral environment, *J Prosthet Dent* 68(4):692-697, 1992.
 38. Moellering RC : Emergence of enterococcus as a significant pathogen, *Clin Infect Dis* 14:1173-1176, 1992.
 39. Morrison D, Woodford N, Cookson B : Enterococci as

- emerging pathogens of human, *J Appl Microbiol Symposium Supplement* 83:89s-99s, 1997.
40. Slot J and Taubman MA : Contemporary Oral Microbiology and Immunology. Mosby-Year Book, Inc., pp267-310, 1992.
 41. Mejare B : Streptococcus faecalis and streptococcus faecium in infected dental root canals at filling and their susceptibility to azidocillin and some comparable antibiotics, *Odontol Revy* 26:193-204, 1975.
 42. Smyth CJ, Docent MA, Halpenny MK, Ballagh SJ : Carriage rates of enterococci in the dental plaque of haemodialysis patients in Dublin, *Br J Oral Maxillofac Surg* 25:21-33, 1987.
 43. McGowan DA : Endodontic and infective endocarditis, *Int Endodont J* 15:157, 1982.
 44. Campbell J, McGowan DA, Macfarlane TW : The prevalence of enterococci in the dental plaque of chronic hospital patients, *Br J Oral Surg* 21:171, 1983.
 45. Lebovics R, Baker AS : Infective endocarditis, In : Harrison's Principle of Internal Medicine, KJ Isselbacher, E Braunwald, JD Wilson, JB Martin, AS Fauci, DL Kasper(ed.), McGraw-Hill Book Co., pp554-561, 1997.
 46. McCrary BR, Streckfuss JL, Keene HJ: Oral hygiene and the prevalence of oral group D streptococci in medically-physically compromised and periodontal disease patients, *J Periodontol* 60:255-258, 1989.
 47. Chouhury P, Kumar R : Association of metal tolerance with multiple antibiotic resistance of enteropathogenic organisms isolated from coastal region of deltaic Sunderbans, *Indian J Med Res* 104:148-51, 1996.
 48. Mergeay M, Nies D, Schlegel H, Gerits J, Charles P, Van Gijsegem F : *Alcaligenes eutrophus* CH34 is a facultative chemolithotroph with plasmid-bound resistance to heavy metals, *J Bacteriol* 162:328-34, 1985.
 49. Silver S, Misra TK : Plasmid-mediated heavy metal resistances, *Ann Rev Microbiol* 42:717-43, 1988.

Abstract

A STUDY OF NI-RESISTANT BACTERIA ON THE RESTORED STAINLESS STEEL CROWN

Sat-Byul Chung, D.D.S., Keung-Ho Lee, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Kyung Hee University

Stainless steel crowns are widely used for restoration for primary molars. The material used for the crowns is an alloy of 70~80% nickel and 5~15% chromium. Nickel has been known to cause allergic reaction, cancer and cell toxicity. Little is known about nickel with respect to the relationship between Ni-contained SS crown and gaining of Ni-resistance in oral microorganisms. The purpose of this study is to examine whether use of Ni-contained SS crown leads to occurrence of Ni-resistant microorganism, especially enterococci. The gingival crevicular fluid of two different groups was taken. Experimental group included patients wearing SS crown, and control group comprised individuals without SS crown. The samples were plated in BHI agar, BHI agar supplemented with nickel chloride at the concentration of 3mM and bile esculin azide (BEA) agar. The cultured enterococci on BEA agar medium were tested their Ni-resistance in nickel-containing media increasing concentrations from 3mM to 50mM.

The results were as follows:

1. In experimental group, a total of 507,350 strains were isolated on BHI agar, of which 53,864(10.62%) strains were found to be resistant to 3mM nickel. In control group, of 414,590 isolates on BHI agar, 37,523 isolates were resistant to 3mM nickel.
2. A total of 95 enterococci were isolated on BEA agar in experimental group, while 20 were isolated in control group. of the enterococci, 68 and 12 isolates were found to be nickel-resistant in experimental and control group, respectively.
3. Of 68 nickel-resistant isolates in experimental group, one survived 50mM nickel. In contrast, none of the isolates in control group was observed to grow at the concentrations over 30mM nickel.

Key words : Stainless steel crown, Ni-resistant microorganism, Enterococci