



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

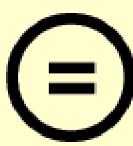
다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원 저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리와 책임은 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)



신생아 구강 미생물 다양성에
영향을 미치는 출생 요인에 대한 연구

연세대학교 대학원

치 의 학 과

김 윤 희

신생아 구강 미생물 다양성에
영향을 미치는 출생 요인에 대한 연구

지도교수 강 정 민

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2025년 7월

연세대학교 대학원

치의학과

김 윤희

신생아 구강 미생물 다양성에
영향을 미치는 출생 요인에 대한 연구

김윤희의 석사 학위논문으로 인준함

심사위원장 이제호

심사위원 최형준

심사위원 강정민

연세대학교 대학원
치의학과

2025년 6월

감사의 글

이 논문이 나올 때까지 도와주신 모든 분들께 감사드립니다.

먼저 항상 애정과 관심 가져주시고 지도해주신 강정민 교수님께
진심으로 감사드립니다.

또 논문을 심사해주시고 많은 가르침을 주신 이제호 교수님과
최형준 교수님께도 감사드립니다.

즐겁고 의미 있는 수련 생활을 할 수 있도록 항상 도움 주시고
응원해주신 의국 선후배들, 특히 사랑하는 동기들인 박진아,
송지수, 이소담 선생님에게 사랑과 감사의 마음을 전합니다.
마지막으로 언제나 저를 사랑으로 지켜주신 든든한 가족들에게
감사의 말을 드립니다.

차 례

| | |
|--|-----|
| 그림 차례 | ii |
| 표 차례 | iii |
| 국문 요약 | iv |
| 제 1 장 서론 | 1 |
| 제 2 장 연구 대상 및 방법 | 4 |
| 2.1. 연구대상 | 4 |
| 2.2. 변수분석 | 5 |
| 2.3. 미생물분석 | 6 |
| 2.3.1. 서열 처리 및 Amplicon sequence variants (ASVs) 테이블 구축 | 6 |
| 2.3.2. Phyloseq 를 이용한 마이크로바이옴 분석 | 6 |
| 2.4. 통계 분석 | 7 |
| 제 3 장 결과 | 9 |
| 3.1. 산모에서 신생아로의 미생물 전달 | 9 |
| 3.2. 신생아의 미생물 검출 여부에 영향을 미치는 출생 관련 요인 | 11 |
| 3.3. 산모와 신생아의 각 부위에서 미생물 검출여부 간의 연관성 | 16 |
| 3.4. 신생아의 위, 기관지, 구강 미생물 검출 증가 요인의 회귀분석 | 19 |
| 3.5. 신생아 구강 미생물의 다양성에 영향을 미치는 출생 관련 요인 | 26 |
| 3.6. 산모와 신생아의 각 부위에서 미생물 검출여부와 신생아 구강 미생물의 다양성 간의 연관성 | 26 |
| 3.7. 신생아 구강 미생물 구성에 영향을 미치는 출생 관련 요인 | 29 |
| 3.8. 조산 여부에 따른 신생아 구강 미생물 구성 비교 | 30 |
| 3.9. 조산아에서 유의미하게 변화한 박테리아와 관련된 질환 | 33 |
| 제 4 장 고찰 | 36 |
| 제 5 장 결론 | 43 |
| 참고문헌 | 44 |
| 영문 요약 | 49 |

그림 차례

| | |
|--|----|
| <Fig 1> The genera of bacteria identified from culture samples of both mothers and neonates | 10 |
| <Fig 2> Association of neonatal oral microbiome alpha diversity with natal factors and microbial detection at other body sites | 27 |
| <Fig 3> Influence of natal factors on the beta diversity of the neonatal oral microbiome | 29 |
| <Fig 4> Comparative analysis of oral microbiome based on birth type | 31 |
| <Fig 5> Relative abundance of microorganisms in preterm and full-term neonates | 32 |
| <Fig 6> Bacteria and associated diseases that showed significant differences in preterm neonates based on the PHI database | 34 |
| <Fig 7> Network plot of genes associated with bacteria-related diseases showing significant differences in preterm neonates | 35 |

표 차례

| | |
|---|----|
| <Table 1> Association between natal factors and bacterial detection in various neonatal body sites in a retrospective study | 12 |
| <Table 2> Association between natal factors and bacterial detection in various neonatal body sites in a prospective study | 14 |
| <Table 3> Correlation of bacterial presence across various body sites in a retrospective analysis | 17 |
| <Table 4> Correlation of bacterial presence across various body sites in a prospective analysis | 18 |
| <Table 5> A retrospective regression analysis of factors influencing neonatal microbiota | 20 |
| <Table 6> A prospective regression analysis of factors influencing neonatal microbiota | 23 |

국 문 요 약

신생아 구강 미생물 다양성에 영향을 미치는 출생 요인에 대한 연구

신생아의 초기 미생물군은 출생 후 면역계의 발달과 신생아의 정상적인 생리, 대사, 신경기능의 발달에 중요한 역할을 한다. 본 연구에서는 산모에서 신생아로의 미생물 전달 양상을 조사하고, 신생아 구강 미생물의 다양성에 영향을 미치는 요인을 확인하고자 하였다. 연구는 73 명의 산모와 87 명의 신생아로 구성된 전향적 코호트와 991 명의 산모와 1,121 명의 신생아로 구성된 후향적 코호트를 포함하였다. 산모의 자궁경부 및 신생아의 위, 기관지, 구강에서 채취한 샘플의 배양검사 결과를 분석하였으며, 16S rRNA 유전자 시퀀싱을 통해 구강 미생물의 다양성과 구성을 분석하였다. 신생아의 위, 기관지, 구강에서 유사한 속의 세균이 검출되었으며, 신생아 위의 미생물 군집이 산모의 자궁경부와 가장 유사한 것으로 나타났다. 또한, 산모에서 신생아로의 미생물 전달뿐만 아니라 조산 여부, 출생 체중, 출산 방법, 산모의 융모양막염, 산모의 당뇨 및 다른 신체 부위의 미생물 존재 여부와 같은 다양한 출생 관련 요인들이 신생아 구강 미생물의 다양성에 영향을 미쳤다. 이 중에서도 조산 여부가 가장 중요한 요인으로 나타났으며, 구강 미생물의 구성 또한 조산 여부에 따라 유의미한 차이를 보였다. 특히, 조산아의 경우 구강 미생물의 다양성이 감소하였으며, 유익균이 적고 병원성 세균이 더 많이 존재하는 것으로 확인되었다.

핵심되는 말: 구강 미생물, 신생아, 미생물 모계 전달, 출생 요인, 조산

1. 서론

신생아의 초기 미생물군은 신생아의 발달에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

신생아의 초기 미생물군은 잠재적인 병원균에 대한 방어 뿐만 아니라 초기 면역계의 발달을 자극하는 자극원으로써 중요한 역할을 하며, 신생아의 정상적인 생리, 대사, 신경 기능의 발달에 중요한 역할을 한다(Gensollen, et al., 2016; White, et al., 2013). 신생아의 초기 미생물군은 신생아 건강과 관련이 있을 뿐만 아니라 더 나아가 성인시기의 안정적인 미생물군 형성에 중요한 역할을 하며, 미래의 건강과 질병의 토대가 된다(Cassir, et al., 2016).

구강은 이러한 미생물군 형성을 위한 진입 지점으로 작용하며, 최근 구강 미생물은 소화관 및 호흡기의 미생물 공급원으로 주목받고 있다(Ferretti, et al., 2018; Könönen and Gursoy, 2022; Schmidt, et al., 2019; Selway, et al., 2023). 소아의 구강 미생물은 치아우식 등의 구강 질환 뿐만 아니라 소아의 비만, 알러지 질환(Dzidic, et al., 2018), 충수염과 염증성 장질환 등의 전신 질환과도 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Xiao, et al., 2020).

신생아의 초기 구강 미생물군 형성은 출생 전 산모의 양수와 태반에서 유래한 미생물의 군집화를 통해 시작되며(Nardi, et al., 2021), 출생 시에도 산모의 미생물은 신생아에게 수직 전달되어 신생아 미생물군의 구성에 영향을 준다. 이후 수유, 식이, 부모나 양육자로부터의 수평 전달 등의 다양한 환경적인 요인에 영향을 받아 구강 미생물이 발달한다.

산모에서 신생아로의 미생물 전달은 다양한 신체 부위에서 이루어지며(Bogaert, et

al., 2023; Ferretti, et al., 2018; Wu, et al., 2021), 신생아 미생물군의 50% 이상이 산모의 다양한 신체 부위에서 전달된다(Bogaert, et al., 2023). 신생아의 초기 장내 미생물은 산모의 장내 미생물과 가장 유사하며, 그 다음으로 질, 구강, 피부 미생물군과 유사하다(Ferretti, et al., 2018). 반면, 신생아의 초기 구강 미생물은 산모의 구강 미생물과 가장 유사하며, 그 다음으로 피부, 질, 장내 미생물과 유사하다(Ferretti, et al., 2018). 그러나 대부분의 연구는 신생아의 하나 또는 두 신체 부위에서 미생물을 조사하는 데 초점을 맞추었으며, 현재까지 산모의 자궁경부로부터 신생아의 여러 신체부위로의 미생물 전달 양상을 살펴본 연구는 없다. 또한 구강은 소화관으로 이어지는 입구로서 소화기 및 호흡기계의 미생물 공급원으로 주목받고 있지만, 신생아의 장내, 호흡기, 구강 미생물 간의 연관성을 조사한 연구도 적다.

미생물 다양성에 대한 한 연구에 따르면, 신생아의 장내 미생물과 구강 미생물 모두 초기에는 산모의 다양한 부위로부터의 미생물 수직 전달로 인해 다양성이 높으며, 시간이 지나면서 안정화되어 성인의 미생물과 유사하게 변한다(Ferretti, et al., 2018). 신생아 초기 미생물의 다양성이 감소할 경우 공생균과 병원성 박테리아 모두에 대한 취약성이 증가한다(Yatsunenko, et al., 2012). 조산아의 장내 미생물 구성은 만삭아와 다르며, 미생물의 다양성이 감소한 특징이 있는데 이러한 조산아의 미생물 구성이 괴사성 장염, 패혈증, 폐렴 등의 신생아 질환과 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Underwood and Sohn, 2017). 이는 미생물 다양성이 신생아 건강에 중요한 역할을 하는 것을 의미한다. 하지만 신생아 구강 미생물의 다양성에 영향을 미치는 요인들에 대한 연구는 적다.

따라서 본 연구에서는 전향적, 후향적 연구를 통해 산모의 자궁경부에서 신생아로 이어지는 미생물 전달 양상을 신생아의 위, 기관지, 구강을 포함하는 여러 신체 부위에서



확인하고, 신생아 구강 미생물의 다양성에 영향을 미치는 여러 요인들을 확인하고자 한다.

2. 연구 대상 및 방법

본 연구는 후향적 및 전향적 데이터를 포함하였으며, 세브란스병원 임상 연구 윤리 위원회 (Institutional Review Board, IRB, IRB no. 4-2021-0419) 및 연세대학교 치과대학병원 임상 연구 윤리 위원회 (IRB no. 2-2021-0091) 의 승인을 받아 시행되었다.

2.1. 연구대상

후향적 코호트에는 2016년 1월부터 2022년 12월까지 세브란스병원에 내원한 991명의 산모와 1,121명의 신생아(861명의 단태아, 260명의 다태아)가 포함되었다. 산모의 자궁경부 및 신생아의 위, 기관지, 구강 미생물에 대한 배양 검사 결과는 세브란스병원 산부인과 및 신생아과의 의무 기록을 통해 확인하였다. 분만 전 산모의 자궁경부 미생물 배양 결과를 출생 후 0~3일 내 신생아의 위, 기관지, 구강 미생물 배양 결과와 비교하였으며(평균 위 0.04 ± 0.20일, 기관지 0.16 ± 0.46일, 구강 1.15 ± 0.79일), 신생아에서 미생물 검출 여부와 출생 요인 간의 연관성을 조사하였다.

전향적 코호트에는 2021년 8월부터 2023년 7월까지 세브란스병원에 내원한 73명의 산모와 87명의 신생아(59명의 단태아, 28명의 다태아)가 포함되었다. 산모의 자궁경부 및 신생아의 위, 기관지, 구강 미생물에 대한 배양 검사 결과는 세브란스병원 산부인과 및 신생아과의 의무 기록을 통해 확인하였다. 출생 후 0~2일 내 신생아의 위, 기관지, 구강 미생물 배양 결과(평균 위 0.02 ± 0.15일, 기관지 0.04 ± 0.20일, 구강

1.18 ± 0.93일)와 여러 출생 요인 간의 연관성을 조사하였다. OMNIgene.ORAL | OMR110 kit (DNA Genotek, Ottawa, Canada)를 사용하여 출생 직후 신생아의 구강 샘플을 채취하여 16S rRNA 시퀀싱 분석을 시행하였으며, 신생아 구강 미생물의 다양성과 여러 출생 요인 간의 연관성을 조사하였다.

2.2. 변수분석

본 연구에서는 신생아 미생물에 영향을 줄 수 있는 여러 요인을 출생 전, 출생 시, 출생 후 요인으로 분류하였다. 출생 전 요인으로는 산모의 출산 시 나이, 산모의 전신질환을 조사하였고, 출생 시 요인으로는 신생아의 성별, 조산 여부, 출생 체중, APGAR 점수, 출산 방법, 다태아 여부를 조사하였다. 출생 후 요인으로 전향적 코호트에서는 기관 내 삽관, 양압 환기, Curosurf 투여, 자궁 내 성장 지연 진단 여부, 후향적 코호트에서는 신생아 집중 치료실 입원, 기관 내 삽관, 폐혈증 진단 여부, 괴사성 장염 진단 여부를 조사하였다. 추가적으로 산모와 신생아의 다양한 신체 부위에서의 박테리아 검출 여부와 특정 박테리아의 존재 여부 또한 조사하였다.

세계보건기구의 기준에 따라 출산 시 산모 나이가 35세 이상일 때 노산으로 정의하였다. 조산 여부는 재태 주수 기준으로 하여 조산아(<37주)와 만삭아(≥37주)로 구분하였다. 조산아 그룹은 추가적으로 세 가지 그룹으로 나누어, 초극소 조산아(<28주), 극소 조산아(≥28주 및 <32주), 후기 조산아(≥32주 및 <37주)로 분류하였다. 출생 체중은 저체중(<2,500g)과 정상 체중(≥2,500g)으로 구분되었다. 저체중 그룹은 추가로 초극소 저체중(<1,000g), 극소 저체중(≥1,000g 및 <1,500g),

저체중($\geq 1,500\text{g}$ 및 $< 2,500\text{g}$)으로 세분화하였다. APGAR 점수는 출생 5분 이후 측정하였으며, 이를 5분 APGAR 점수로 정의하였다. 5분 APGAR 점수 7점을 기준으로 두 그룹으로 분류하였다.

2.3. 미생물분석

2.3.1. 서열 처리 및 Amplicon sequence variants (ASVs) 테이블 구축

Raw paired-end Illumina sequences는 DADA2 pipeline (version 1.28.0)을 사용하여 처리하였다(Callahan, et al.). Primer는 ‘filterAndTrim’을 사용하여 절단 및 필터링되었다. 품질 점수를 기준으로 예상 오류가 4개(전방) 및 6개(후방) 이상인 리드는 제거되었으며, 서열은 각각 280 base pairs(전방) 및 260 base pairs(후방) 이후에 절단되었다. DADA2 algorithm을 사용하여 처리된 서열에서 정확한 ASV를 추론하고 키메라를 제거하였다. ASV에 대한 분류는 최소 bootstrap 신뢰도 50을 기준으로 Expanded Human Oral Microbiome Database (eHOMD version 15.1)를 활용한 naïve Bayesian classifier를 사용하여 수행되었다. 각 샘플에서 관찰된 ASV의 수를 기록하여 ASV 테이블을 구성하였다.

2.3.2. Phyloseq를 이용한 마이크로바이옴 분석

ASV 테이블, 샘플 데이터 및 분류학적 정보 표를 Phyloseq objects (version 1.44.0)로 변환하여 R environment에 불러왔다(McMurdie and Holmes, 2013).

추가적인 샘플 데이터 범주가 Phylosequencing 데이터 테이블에 추가되었다. 분류학적 문(phylum)이 할당되지 않은 ASV는 필터링된 후 종(species) 수준에서 집계되었다. 필터링된 ASV 테이블에서 Phyloseq의 ‘estimate_richness()’ 및 ‘ordinate()’ 함수를 이용해 알파 및 베타 다양성 지표를 계산하였다. 베타 다양성 분석을 위해 다변량 분산 분석 및 쌍별 순열 기반 분산 분석(PERMANOVA)은 각각 vegan(version 2.6-4) 및 pairwise Adonis(version 0.4.1) 패키지를 이용하여 수행하였다.

Differential abundance analysis (DAA) 는 DESeq2 package (version 1.40.2)를 사용하여 수행되었다(Love, et al., 2014). 변환된 카운트 데이터에 음이항 모델을 적용하고, 실험군을 주요 관심 요인으로 설정하여 분석하였다. ‘DESeq()’ 함수를 사용하였으며, 다중 검정을 위한 p-value 조정은 Benjamini-Hochberg 방법을 적용하였다. \log_2 fold change 절대값이 1보다 크고 보정된 p 값이 0.001 미만인 분류군은 차등적으로 풍부한 것으로 간주되었다. 병원체-속주 상호작용 분석을 위해 DAA에서 조정된 p 값이 0.05 미만이고 PHI-base에서 확인 가능한 미생물을 선택하여 분석하였다. 모든 그래프는 ggplot2 패키지(version 3.4.4)를 사용하여 생성하였다. Heatmap은 Complex Heatmap 패키지(version 2.16.0)을 이용하여 작성하였다(Gu, 2022). 모든 분석 및 시각화는 R(version 4.3.2) 및 R Studio 환경에서 수행되었다.

2.4. 통계분석

통계분석에는 SAS (version 9.4; SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA) 와 R (version 4.0.0; R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) 을

사용하였다. 전향적 연구에서 신생아의 다양한 부위에서 박테리아 검출여부와 출생 관련 요인과의 상관관계는 Fisher의 정확 검정을 이용해 평가하였다. 각 부위에서의 박테리아 검출 간의 연관성 또한 Fisher의 정확 검정을 사용하여 평가하였다. 후향적 연구에서 신생아의 다양한 부위에서 박테리아 검출여부와 출생 관련 요인과의 상관관계는 카이제곱 검정 또는 Fisher의 정확 검정을 이용해 평가하였다. 각 부위에서의 박테리아 검출 간의 연관성 또한 카이제곱 검정 또는 Fisher의 정확 검정을 사용하여 분석하였다. 전향적, 후향적 연구 모두에서, 산모와 신생아에서 박테리아 검출을 증가시키는 요인들을 평가하기 위해 Firth's method를 이용해 회귀분석을 진행하였다. 유의수준은 0.05로 설정하였다.

3. 결과

3.1. 산모에서 신생아로의 미생물 전달

후향적 연구에서 산모 자궁경부, 신생아의 위, 기관지, 구강 미생물 배양 결과를 속(genus) 수준에서 확인하였다(Fig. 1a-d). 산모의 자궁경부에서는 *Lactobacillus* 속이 우세하였으며(31.2%), 신생아의 위와 기관지에서는 *Streptococcus* 속이 각각 23.2%와 10.8%로 우세하였고, 신생아의 구강에서는 *Staphylococcus* 속이 50%로 우세하게 검출되었다. 각 부위에서 상위 5개의 속을 비교한 결과, 산모의 자궁경부 미생물과 가장 높은 유사성을 보인 것은 신생아의 위 미생물이었고, 그 다음으로 신생아의 구강과 기관지 미생물 순으로 유사한 결과를 보였다. *Lactobacillus*를 제외하면, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Escherichia* 속이 산모의 자궁경부, 신생아의 위, 기관지, 구강 모두에서 우세한 속으로 확인되었다.

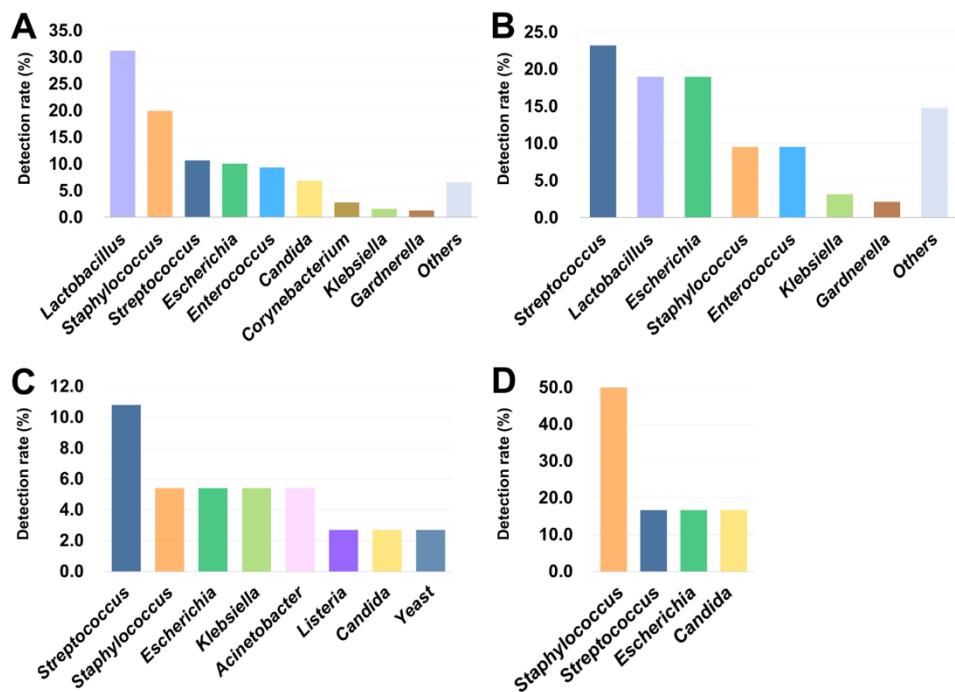


Fig 1. The genera of bacteria identified from culture samples of both mothers and neonates.

Bacterial composition identified in (a) cervical specimens from mothers and (b-d) gastric, bronchial, and oral samples from neonates. The horizontal axis indicates the bacterial genera detected, while the vertical axis shows their detection frequency.

3.2. 신생아의 미생물 검출 여부에 영향을 미치는 출생 관련 요인

출생 전 요인 중에서는 산모의 전신질환이 신생아의 박테리아 검출여부와 연관성이 있었다. 노산일 경우 신생아 위, 기관지, 구강에서 박테리아 검출률이 높았으나 이는 통계적으로 유의하지는 않았다(Table 1, 2). 산모가 응모양막염이 있는 경우 신생아의 위, 기관지 박테리아 검출률 증가와 유의한 연관성을 보였다(위 $p = 0.0003$, 기관지 $p = 0.0102$; Table 1).

출생 시 요인 중에서는 출산 방법, 5분 APGAR 점수가 신생아의 박테리아 검출여부와 연관성이 있었다. 자연분만일 경우 제왕절개보다 신생아의 위에서 박테리아 검출률이 유의하게 높게 나타났다($p < 0.0001$; Table 1). 5분 APGAR 점수가 낮은 경우 신생아의 기관지에서 박테리아 검출률이 유의하게 높았다(후향적 연구 $p = 0.0478$, 전향적 연구 $p = 0.0131$; Table 1, 2). 그 외에, 신생아의 성별, 조산여부, 출생 체중, 다태아 여부와 박테리아 검출 간의 연관성은 두 코호트 모두에서 관찰되지 않았다.

출생 후 요인 중에서는 신생아 패혈증 진단 여부가 신생아의 박테리아 검출여부와 연관성이 있었다. 패혈증 진단된 신생아의 위, 기관지에서 박테리아 검출률이 유의미하게 증가하였다(위 $p = 0.0022$, 기관지 $p < 0.0001$; Table 1). 그 외의 출생 후 요인들과 신생아 박테리아 검출 여부와의 연관성은 두 코호트 모두에서 관찰되지 않았다.

Table 1. Association between natal factors and bacterial detection in various neonatal body sites in a retrospective study

| Characteristics | Gastric (n=1,107) | | <i>p</i> -value [†] | Bronchial (n=573) | | <i>p</i> -value [†] | Oral (n=20) | | <i>p</i> -value ^{††} | |
|-------------------------|------------------------|-----------------|------------------------------|----------------------|-----------------|------------------------------|----------------------|----------------|-------------------------------|--------|
| | Not detected (n=1,021) | Detected (n=86) | | Not detected (n=540) | Detected (n=33) | | Not detected (n=14) | Detected (n=6) | | |
| Neonatal factors | | | | | | | | | | |
| Gender | Male | 584(57.2) | 54(62.79) | 0.3135 | 311(57.59) | 20(60.61) | 0.7337 | 7(50) | 4(66.67) | 0.6424 |
| | Female | 437(42.8) | 32(37.21) | | 229(42.41) | 13(39.39) | | 7(50) | 2(33.33) | |
| Birth type | Full term | 214(20.96) | 22(25.58) | 0.3149 | 29(5.37) | 0(0) | 0.4006 ^{††} | 1(7.14) | 0(0) | 1.0000 |
| | Preterm | 807(79.04) | 64(74.42) | | 511(94.63) | 33(100) | | 13(92.86) | 6(100) | |
| Birth weight | Normal | 319(31.24) | 27(31.4) | 0.9768 | 73(13.52) | 6(18.18) | 0.4362 ^{††} | 2(14.29) | 0(0) | 1.0000 |
| | Low birth weight | 702(68.76) | 59(68.6) | | 467(86.48) | 27(81.82) | | 12(85.71) | 6(100) | |
| APGAR5 score | < 7 | 262(25.66) | 28(32.56) | 0.1624 | 248(45.93) | 21(63.64) | 0.0478* | 7(50) | 5(83.33) | 0.3246 |
| | ≥ 7 | 759(74.34) | 58(67.44) | | 292(54.07) | 12(36.36) | | 7(50) | 1(16.67) | |
| Delivery mode | NSVD | 294(28.8) | 50(58.14) | <.0001* | 82(15.19) | 7(21.21) | 0.3534 | 2(14.29) | 1(16.67) | 1.0000 |
| | C-sec | 727(71.2) | 36(41.86) | | 458(84.81) | 26(78.79) | | 12(85.71) | 5(83.33) | |
| Multiple Pregnancy | Singlet | 778(76.2) | 71(82.56) | 0.1804 | 378(70) | 23(69.7) | 0.9706 | 10(71.43) | 4(66.67) | 1.0000 |
| | Multiplet | 243(23.8) | 15(17.44) | | 162(30) | 10(30.3) | | 4(28.57) | 2(33.33) | |
| Prenatal factors | | | | | | | | | | |
| Advanced maternal age | < 35 | 624(61.1) | 52(60.5) | 0.9053 | 308(57.0) | 14(42.4) | 0.1005 | 6(42.9) | 1(16.7) | 0.3544 |
| | ≥ 35 | 397(38.9) | 34(39.5) | | 232(43.0) | 19(57.6) | | 8(57.1) | 5(83.3) | |
| Maternal PMH | Hypertension | 90(8.8) | 5(5.8) | 0.3400 | 48(8.9) | 2(6.1) | 0.7585 ^{††} | 3(21.4) | 2(33.3) | 0.6126 |
| | Diabetes | 111(10.9) | 14(16.3) | 0.1281 | 61(11.3) | 6(18.2) | 0.2586 ^{††} | 4(28.6) | 1(16.7) | 1.0000 |
| | Chorioamnionitis | 156(15.3) | 26(30.2) | 0.0003* | 123(22.8) | 14(42.4) | 0.0102* | 4(28.6) | 3(50) | 0.6126 |

Table 1. Association between natal factors and bacterial detection in various neonatal body sites in a retrospective study (continued)

| Characteristics | Gastric (n=1,107) | | p-value [†] | Bronchial (n=573) | | p-value [†] | Oral (n=20) | | p-value ^{††} |
|----------------------|---------------------------|--------------------|----------------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------------|------------------------|-------------------|-----------------------|
| | Not detected (n=1,021) | Detected (n=86) | | Not detected (n=540) | Detected (n=33) | | Not detected (n=14) | Detected (n=6) | |
| Postnatal factors | | | | | | | | | |
| Sepsis | 13(1.27) | 6(6.98) | 0.0022^{††} | 9(1.67) | 8(24.24) | <0.001^{††} | 1(7.14) | 2(33.33) | 0.2018 |
| NEC | 20(1.96) | 4(4.65) | 0.1092 ^{††} | 23(4.26) | 4(12.12) | 0.0624 ^{††} | 1(7.14) | 1(16.67) | 0.5211 |
| NICU hospitalization | 839(82.17) | 74(86.05) | 0.3644 | 536(99.26) | 33(100) | 1.0000 ^{††} | 14(100) | 6(100) | . |
| Intubation | 497(48.68) | 42(48.84) | 0.9773 | 504(93.33) | 31(93.94) | 1.0000 ^{††} | 13(92.86) | 6(100) | 1.0000 |

Results are displayed as number and proportion (%).

NSVD; Normal spontaneous vaginal delivery, *C-sec*; Cesarean section, *PMH*; Past medical history,

NEC; Necrotizing enterocolitis, *NICU*; Neonatal intensive care unit.

† chi-square test; †† Fisher's exact test

* p<0.05

Table 2. Association between natal factors and bacterial detection in various neonatal body sites in a prospective study

| Characteristics | Gastric (n=83) | | | p-value [†] | Bronchial (n=71) | | | p-value [†] | Oral (n=82) | | | p-value [†] |
|-------------------------|------------------------|-------------------|------------------------|----------------------|-------------------|------------------------|--------------------|----------------------|------------------------|--------------------|------------------------|----------------------|
| | Not detected (n=74) | Detected (n=9) | Not detected (n=66) | | Detected (n=5) | Not detected (n=71) | Detected (n=11) | | Not detected (n=71) | Detected (n=11) | Not detected (n=71) | |
| Neonatal factors | | | | | | | | | | | | |
| Gender | Male | 36(48.7) | 6(66.7) | 0.4827 | 37(56.1) | 2(40) | 0.6518 | 36(50.7) | 6(54.6) | 1.0000 | | |
| | Female | 38(51.4) | 3(33.3) | | 29(43.9) | 3(60) | | 35(49.3) | 5(45.5) | | | |
| Birth type | Full term | 19(25.7) | 1(11.1) | 0.6802 | 13(19.7) | 1(20) | 1.0000 | 22(31.0) | 1(9.1) | 0.1685 | | |
| | Preterm | 55(74.3) | 8(88.9) | | 53(80.3) | 4(80) | | 49(69.0) | 10(90.9) | | | |
| Birth weight | Normal | 20(27.0) | 1(11.1) | 0.4370 | 14(21.2) | 1(20) | 1.0000 | 23(32.4) | 1(9.1) | 0.1620 | | |
| | Low birth weight | 54(73.0) | 8(88.9) | | 52(78.8) | 4(80) | | 48(67.6) | 10(90.9) | | | |
| APGAR5 score | < 7 | 27(36.5) | 5(55.6) | 0.2965 | 26(39.4) | 5(100) | 0.0131* | 24(33.8) | 5(45.5) | 0.5073 | | |
| | ≥ 7 | 47(63.5) | 4(44.4) | | 40(60.6) | 0(0) | | 47(66.2) | 6(54.6) | | | |
| Delivery mode | NSVD | 3(4.1) | 2(22.2) | | 4(6.1) | 1(20) | | 5(7.0) | 1(9.1) | | | |
| | C-sec | 71(96.0) | 7(77.8) | 0.0885 | 62(93.9) | 4(80) | 0.3136 | 66(93.0) | 10(90.9) | 1.0000 | | |
| Multiple Pregnancy | Singlet | 52(70.3) | 4(44.4) | 0.1428 | 43(65.2) | 3(60) | 1.0000 | 48(67.6) | 7(63.6) | 1.0000 | | |
| | Multiplet | 22(29.7) | 5(55.6) | | 23(34.9) | 2(40) | | 23(32.4) | 4(36.4) | | | |
| Prenatal factors | | | | | | | | | | | | |
| Advanced maternal age | < 35 | 36(48.7) | 2(22.2) | 0.1699 | 34(51.5) | 1(20) | 0.3570 | 36(50.7) | 2(18.2) | 0.0555 | | |
| | ≥ 35 | 38(51.4) | 7(77.8) | | 32(48.5) | 4(80) | | 35(49.3) | 9(81.8) | | | |
| Maternal PMH | Hypertension | 16(21.6) | 0(0) | 0.1950 | 14(21.2) | 0(0) | 0.5753 | 14(19.7) | 3(27.3) | 0.6895 | | |
| | Diabetes | 12(16.2) | 4(44.4) | 0.0649 | 11(16.7) | 2(40) | 0.2244 | 12(16.9) | 2(18.2) | 1.0000 | | |
| | Chorioammonitis | 4(5.4) | 2(22.2) | 0.1251 | 4(6.1) | 2(40) | 0.0536 | 3(4.2) | 1(9.1) | 0.4445 | | |

Table 2. Association between natal factors and bacterial detection in various neonatal body sites in a prospective study (continued)

| Characteristics | Gastric (n=83) | | p-value [†] | Bronchial (n=71) | | p-value [†] | Oral (n=82) | | p-value [†] |
|-------------------|------------------------|-------------------|----------------------|------------------------|-------------------|----------------------|------------------------|--------------------|----------------------|
| | Not detected (n=74) | Detected (n=9) | | Not detected (n=66) | Detected (n=5) | | Not detected (n=71) | Detected (n=11) | |
| Postnatal factors | | | | | | | | | |
| IUGR | 23(31.1) | 0(0) | 0.0569 | 17(25.8) | 0(0) | 0.3280 | 17(23.9) | 5(45.5) | 0.1545 |
| Intubation | 59(79.7) | 9(100) | 0.2015 | 61(92.4) | 5(100) | 1.0000 | 56(78.9) | 9(81.8) | 1.0000 |
| PPV | 51(68.9) | 9(100) | 0.0569 | 48(72.7) | 5(100) | 0.3199 | 48(67.6) | 9(81.8) | 0.4897 |
| Curosurf | 49(66.2) | 7(77.8) | 0.7111 | 48(72.7) | 5(100) | 0.3199 | 45(63.4) | 8(72.7) | 0.7385 |

Results are displayed as number and proportion (%).

NSVD; Normal spontaneous vaginal delivery, C-sec; Cesarean section, PMH; Past medical history,

IUGR; Intrauterine growth retardation, PPV; Positive pressure ventilation.

[†] Fisher's exact test

* p<0.05

3.3. 산모와 신생아의 각 부위에서 미생물 검출여부 간의 연관성

산모와 신생아의 각 신체 부위 미생물 검출 간의 연관성을 조사하였다. 신생아 위에서 박테리아가 검출될 경우 기관지에서의 박테리아 검출률이 증가하였고, 반대의 경우도 마찬가지로, 양의 상관관계를 보였다(후향적 연구 $p < 0.0001$, 전향적 연구 $p = 0.0006$; Table 3, 4). 신생아의 위, 구강에서의 박테리아 검출 여부도 유의한 양의 상관관계가 확인되었다(각각 $p = 0.0195$; Table 4). 신생아의 기관지에서 박테리아가 검출될 경우 구강에서의 박테리아 검출률이 증가하였으며, 반대의 경우도 마찬가지였으나, 이는 통계적으로 유의하지 않았다(Table 3, 4).

특정 박테리아의 검출 여부와 각 부위에서 박테리아 검출 여부 간의 연관성을 확인한 결과, 신생아의 구강(전향적 연구; Table 4)과 산모의 자궁경부(후향적 연구; Table 3)에서 *Escherichia coli* 가 검출될 경우 신생아 위에서의 박테리아 검출률이 증가하는 것으로 나타났다(구강 $p = 0.0120$, 자궁경부 $p = 0.0006$). 또한, 신생아 위에서 *Escherichia coli* 가 검출될 경우 기관지에서의 박테리아 검출률도 증가하는 것으로 확인되었다($p = 0.0234$; Table 4). 반면, 산모의 자궁경부에서 *Streptococcus agalactiae* 가 검출될 경우 신생아의 위에서의 박테리아 검출률은 감소하는 것으로 확인되었다($p = 0.0471$; Table 3).

Table 3. Correlation of bacterial presence across various body sites in a retrospective analysis

| Characteristics | Gastric (n=1,107) | | p-value [†] | Bronchial (n=573) | | p-value [†] | Oral (n=20) | | p-value ^{††} | |
|------------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------------|----------------------|-----------------|-----------------------|----------------------|----------------|-----------------------|---------------------|
| | Not detected (n=1,021) | Detected (n=86) | | Not detected (n=540) | Detected (n=33) | | Not detected (n=14) | Detected (n=6) | | |
| Culture Growth | | | | | | | | | | |
| Cervix | 984(96.4) | 86(100) | 0.1082 ^{††} | 515(95.4) | 33(100) | 0.3881 ^{††} | 13(92.9) | 6(100) | 1.0000 | |
| Gastric | 0(0) | 86(100) | <.0001 [*] | 28(5.3) | 16(50) | <.0001 ^{††*} | 2(14.3) | 3(50) | 0.1313 | |
| Bronchial | 16(3.1) | 16(36.4) | <.0001 ^{††*} | 0(0) | 33(100) | <.0001 ^{††*} | 2(15.4) | 3(50) | 0.2621 | |
| Oral | 3(20) | 3(60) | 0.1313 ^{††} | 3(21.4) | 3(60) | 0.2621 ^{††} | 0(0) | 6(100) | <.0001 [*] | |
| Pathogen growth | | | | | | | | | | |
| Cervix | <i>CoNS</i> | 456(44.7) | 39(45.4) | 0.9021 | 200(37.0) | 15(45.5) | 0.3323 | 8(57.1) | 3(50) | 1.0000 |
| | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 85(8.3) | 2(2.3) | 0.0471 [*] | 35(6.5) | 1(3.0) | 0.7131 ^{††} | 0(0) | 1(16.7) | 0.3000 |
| | <i>Escherichia coli</i> | 225(22.0) | 33(38.4) | 0.0006 [*] | 77(14.3) | 7(21.2) | 0.3067 ^{††} | 4(28.6) | 2(33.3) | 1.0000 |
| | <i>Candida sp.</i> | 160(15.7) | 14(16.3) | 0.8817 | 93(17.2) | 7(21.2) | 0.5577 | 4(28.6) | 3(50) | 0.6126 |
| Gastric | <i>CoNS</i> | 0(0) | 7(8.1) | <.0001 ^{††} | 1(0.2) | 0(0) | 1.0000 ^{††} | 0(0) | 0(0) | . |
| | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 0(0) | 3(3.5) | 0.0005 ^{††} | 1(0.2) | 2(6.3) | 0.0092 ^{††} | 0(0) | 1(16.7) | 0.3000 |
| | <i>Escherichia coli</i> | 0(0) | 18(20.9) | <.0001 ^{††} | 6(1.1) | 5(15.6) | 0.0002 ^{††} | 1(7.1) | 1(16.7) | 0.5211 |
| Bronchial | <i>Escherichia coli</i> | 0(0) | 2(4.6) | 0.0061 ^{††} | 0(0) | 2(6.1) | 0.0032 ^{††} | 0(0) | 1(16.7) | 0.3158 |
| Oral | <i>CoNS</i> | 3(20) | 0(0) | 0.5395 ^{††} | 3(21.4) | 0(0) | 0.5304 ^{††} | 0(0) | 3(50) | 0.0175 [*] |
| | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 0(0) | 1(20) | 0.2500 ^{††} | 0(0) | 1(20) | 0.2632 ^{††} | 0(0) | 1(16.7) | 0.3000 |
| | <i>Escherichia coli</i> | 0(0) | 1(20) | 0.2500 ^{††} | 0(0) | 1(20) | 0.2632 ^{††} | 0(0) | 1(16.7) | 0.3000 |
| | <i>Candida sp.</i> | 0(0) | 1(20) | 0.2500 ^{††} | 0(0) | 1(20) | 0.2632 ^{††} | 0(0) | 1(16.7) | 0.3000 |

Results are displayed as number and proportion (%).

CoNS: Coagulase-Negative Staphylococcus

† chi-square test; † † Fisher's exact test

* p<0.05

Table 4. Correlation of bacterial presence across various body sites in a prospective analysis

| Characteristics | Gastric (n=83) | | p-value [†] | Bronchial (n=71) | | p-value [†] | Oral (n=82) | | p-value [†] | |
|------------------------|---------------------------------|----------------|----------------------|---------------------|----------------|----------------------|---------------------|-----------------|----------------------|----------------|
| | Not detected (n=74) | Detected (n=9) | | Not detected (n=66) | Detected (n=5) | | Not detected (n=71) | Detected (n=11) | | |
| Culture Growth | | | | | | | | | | |
| Cervix | 27(90) | 8(100) | 1.0000 | 28(90.3) | 5(100) | 1.0000 | 30(90.9) | 5(100) | 1.0000 | |
| Gastric | 0(0) | 9(100) | <.0001* | 5(7.7) | 4(80) | 0.0006* | 5(7.5) | 4(36.4) | 0.0195* | |
| Bronchial | 1(1.64) | 4(44.4) | 0.0006* | 0(0) | 5(100) | <.0001* | 3(5.1) | 2(25) | 0.1046 | |
| Oral | 7(10.1) | 4(44.4) | 0.0195* | 6(9.7) | 2(40) | 0.1046 | 0(0) | 11(100) | <.0001* | |
| Pathogen growth | | | | | | | | | | |
| Cervix | <i>CoNS</i> | 13(43.3) | 2(25) | 0.4398 | 13(41.9) | 1(20) | 0.6283 | 13(39.4) | 1(20.0) | 0.6331 |
| | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 22(73.3) | 4(50) | 0.2319 | 21(67.7) | 3(60) | 1.0000 | 23(69.7) | 3(60.0) | 0.6426 |
| | <i>Escherichia coli</i> | 6(20.0) | 3(37.5) | 0.3631 | 6(19.4) | 2(40) | 0.3048 | 7(21.2) | 2(40) | 0.5741 |
| | <i>Candida sp.</i> | 12(40.0) | 3(37.5) | 1.0000 | 13(41.9) | 1(20) | 0.6283 | 12(36.4) | 2(40.0) | 1.0000 |
| Gastric | <i>CoNS</i> | 0(0) | 1(11.1) | 0.1084 | 0(0) | 1(20) | 0.0714 | 1(1.5) | 0(0) | 1.0000 |
| | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 0(0) | 1(11.1) | 0.1084 | 0(0) | 1(20) | 0.0714 | 0(0) | 1(9.1) | 0.1410 |
| | <i>Escherichia coli</i> | 0(0) | 4(44.4) | <.0001* | 2(3.1) | 2(40) | 0.0234* | 2(3.0) | 2(18.2) | 0.0932 |
| Bronchial | <i>Escherichia coli</i> | 0(0) | 1(11.1) | 0.1286 | 0(0) | 1(20) | 0.0704 | 0(0) | 1(12.5) | 0.1194 |
| Oral | <i>CoNS</i> | 4(5.8) | 0(0) | 1.0000 | 3(4.8) | 0(0) | 1.0000 | 0(0) | 4(36.4) | 0.0002* |
| | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 0(0) | 1(11.1) | 0.1154 | 0(0) | 1(20) | 0.0746 | 0(0) | 1(9.1) | 0.1341 |
| | <i>Escherichia coli</i> | 0(0) | 2(22.2) | 0.0120* | 1(1.6) | 1(20) | 0.1447 | 0(0) | 2(18.2) | 0.0166* |
| | <i>Candida sp.</i> | 0(0) | 1(11.1) | 0.1154 | 1(1.6) | 0(0) | 1.0000 | 0(0) | 1(9.1) | 0.1341 |

Results are displayed as number and proportion (%).

CoNS: Coagulase-Negative Staphylococcus

† Fisher's exact test

* p<0.05

3.4. 신생아의 위, 기관지, 구강 미생물 검출 증가 요인의 회귀분석

출생 전 요인 중 산모의 융모양막염, 출생 시 요인 중 출산방법, 출생 후 요인 중 신생아 패혈증, 괴사성 장염이 신생아 각 부위의 미생물 검출을 증가시키는 요인으로 확인되었다. 산모가 융모양막염이 있는 경우 신생아의 위에서 박테리아 검출률이 더 높았다(OR 2.42, $p = 0.0004$; Table 5). 또한, 산모의 융모양막염은 신생아 기관지에서의 박테리아 검출률 증가와 연관이 있었다(후향적 연구 OR 2.51, $p = 0.0110$, 전향적 연구 OR 9.92, $p = 0.0239$; Tables 5, 6). 자연분만의 경우 제왕절개보다 신생아의 위에서 박테리아 검출률이 더 높았다(OR 3.42, $p < 0.0001$; Table 5). 신생아 패혈증이 있는 경우 신생아의 위, 기관지에서 박테리아 검출률이 증가하였다(위 OR 6.04, $p = 0.0004$, 기관지 OR 18.65, $p < 0.0001$; Table 5). 괴사성 장염이 있는 경우 신생아 기관지에서의 박테리아 검출률이 높았다(OR 3.36, $p = 0.0297$; Table 5). 신생아 구강에서의 박테리아 검출률과 유의한 연관성을 보이는 출생 관련 요인은 없었다.

신생아 위, 기관지에서의 박테리아 검출과 위, 구강에서의 박테리아 검출은 서로 유의한 양의 상관관계를 보였으며(Tables 5, 6), 기관지와 구강에서의 박테리아 검출 간에도 양의 상관관계가 관찰되었으나, 이는 통계적으로 유의하지 않았다.

특정 박테리아 중에서는, 신생아 구강의 *Escherichia coli* 와 산모 자궁경부의 *Alloscardovia omniconcavus*가 신생아 위에서의 박테리아 검출률 증가와 연관이 있었다(각각 Tables 5, 6). 또한, 산모 자궁경부의 *Klebsiella pneumoniae*, 신생아 위의 *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*는 신생아 기관지에서의 박테리아 검출률 증가와 연관이 있었다(Tables 5, 6).

Table 5. A retrospective regression analysis of factors influencing neonatal microbiota

| Characteristics | Gastric culture detected (ref. Not detected) | | | Bronchial culture detected (ref. Not detected) | | | Oral culture detected (ref. Not detected) | | |
|--------------------------|---|---------------------|---------|---|---------------------|---------|--|---------------------|--------------------|
| | Odds ratio | Confidence interval | p-value | Odds ratio | Confidence interval | p-value | Odds ratio | Confidence interval | p-value |
| Neonatal factors | | | | | | | | | |
| Gender | Male | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | Female | 0.80 | 0.51 | 1.25 | 0.3245 | 0.89 | 0.44 | 1.82 | 0.7564 |
| Birth type | Full term | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | Preterm | 0.76 | 0.46 | 1.26 | 0.2890 | 3.86 | 0.22 | 67.59 | 0.3552 |
| Birth weight | Normal | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | Low birth weight | 0.98 | 0.61 | 1.58 | 0.9464 | 0.67 | 0.27 | 1.63 | 0.3715 |
| APGAR5 score | < 7 | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | ≥ 7 | 0.71 | 0.44 | 1.14 | 0.1519 | 0.49 | 0.24 | 1.01 | 0.0544 |
| Delivery mode | NSVD | 3.42 | 2.19 | 5.35 | <0.0001* | 1.57 | 0.67 | 3.67 | 0.2951 |
| | C-sec | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| Multiple Pregnancy | Singlet | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | Multiplet | 0.69 | 0.39 | 1.22 | 0.2067 | 1.04 | 0.49 | 2.21 | 0.9172 |
| Prenatal factors | | | | | | | | | |
| Adevanced maternal age | < 35 | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | ≥ 35 | 1.03 | 0.66 | 1.62 | 0.8885 | 1.78 | 0.88 | 3.60 | 0.1058 |
| Maternal PMH | Hypertension | 0.70 | 0.28 | 1.70 | 0.4249 | 0.81 | 0.21 | 3.06 | 0.7510 |
| | Diabetes | 1.63 | 0.90 | 2.97 | 0.1086 | 1.84 | 0.75 | 4.54 | 0.1835 |
| | Chorioamnonitis | 2.42 | 1.49 | 3.95 | 0.0004* | 2.51 | 1.24 | 5.12 | 0.0110* |
| Postnatal factors | | | | | | | | | |
| | Sepsis | 6.04 | 2.25 | 16.19 | 0.0004* | 18.65 | 6.65 | 52.33 | <0.0001* |
| | NEC | 2.67 | 0.92 | 7.73 | 0.0713 | 3.36 | 1.13 | 10.01 | 0.0297* |
| | NICU hospitalization | 1.30 | 0.70 | 2.41 | 0.4141 | 0.56 | 0.02 | 14.99 | 0.7307 |
| | Intubation | 1.01 | 0.65 | 1.56 | 0.9755 | 0.91 | 0.24 | 3.51 | 0.8930 |

Table 5. A retrospective regression analysis of factors influencing neonatal microbiota (continued)

| Characteristics | Gastric culture detected (ref. Not detected) | | | | Bronchial culture detected (ref. Not detected) | | | | Oral culture detected (ref. Not detected) | | | | |
|------------------------|---|---------------------|---------|------------|---|---------|------------|---------------------|--|-------|--------|--------|--------|
| | Odds ratio | Confidence interval | p-value | Odds ratio | Confidence interval | p-value | Odds ratio | Confidence interval | p-value | | | | |
| Culture growth | | | | | | | | | | | | | |
| Cervix | 6.59 | 0.39 | 112.46 | 0.1926 | 3.32 | 0.19 | 58.87 | 0.4140 | 1.46 | 0.01 | 151.64 | 0.8724 | |
| Gastric | . | . | . | . | 17.53 | 7.99 | 38.44 | <.0001* | 5.00 | 0.58 | 43.29 | 0.1440 | |
| Bronchial | 17.53 | 7.96 | 38.60 | <.0001* | . | . | . | . | 4.60 | 0.53 | 40.15 | 0.1675 | |
| Oral | 5.00 | 0.59 | 42.07 | 0.1386 | 4.60 | 0.54 | 39.06 | 0.1620 | . | . | . | . | |
| Pathogen growth | | | | | | | | | | | | | |
| Cervix | <i>CoNS</i> | 1.03 | 0.66 | 1.60 | 0.8945 | 1.42 | 0.71 | 2.86 | 0.3222 | 0.77 | 0.12 | 5.06 | 0.7807 |
| | <i>Allocardovia omnicondens</i> | 2.21 | 1.40 | 3.49 | 0.0007* | 1.69 | 0.72 | 3.96 | 0.2248 | 1.30 | 0.17 | 9.81 | 0.8017 |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 2.05 | 0.80 | 5.28 | 0.1348 | 3.43 | 1.00 | 11.76 | 0.0496* | . | . | . | . |
| | <i>Candida sp.</i> | 1.07 | 0.60 | 1.94 | 0.8137 | 1.36 | 0.58 | 3.15 | 0.4809 | 2.33 | 0.33 | 16.42 | 0.3946 |
| Gastric | <i>CoNS</i> | 192.54 | 8.96 | int | 0.0008* | 5.38 | 0.06 | 506.27 | 0.4680 | . | . | . | . |
| | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 1000.00 | 9.51 | int | 0.0207* | 28.75 | 2.70 | 306.22 | 0.0054* | 7.80 | 0.08 | 793.13 | 0.3837 |
| | <i>Enterococcus faecalis</i> | 164.66 | 7.32 | int | 0.0013* | 1.79 | 0.07 | 47.83 | 0.7281 | . | . | . | . |
| | <i>Escherichia coli</i> | 552.58 | 30.45 | int | 0.0001* | 16.04 | 4.61 | 55.80 | 0.0001* | 2.45 | 0.13 | 47.03 | 0.5513 |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1000.00 | 9.51 | int | 0.0207* | 28.75 | 2.70 | 306.22 | 0.0054* | . | . | . | . |
| Bronchial | <i>Escherichia coli</i> | 1000.00 | 0.00 | int | 0.1533 | 1000.00 | 0.00 | int | 0.8870 | 7.26 | 0.07 | 740.31 | 0.4007 |
| Oral | <i>CoNS</i> | 0.33 | 0.01 | 11.58 | 0.5372 | 0.30 | 0.01 | 10.70 | 0.5080 | 28.99 | 0.77 | int | 0.0688 |
| | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 10.42 | 0.10 | int | 0.3245 | 9.59 | 0.09 | 999.01 | 0.3403 | 7.80 | 0.08 | 793.13 | 0.3837 |
| | <i>Escherichia coli</i> | 10.42 | 0.10 | int | 0.3245 | 9.59 | 0.09 | 999.01 | 0.3403 | 7.80 | 0.08 | 793.13 | 0.3837 |
| | <i>Candida sp.</i> | 10.42 | 0.10 | int | 0.3245 | 9.59 | 0.09 | 999.01 | 0.3403 | 7.80 | 0.08 | 793.13 | 0.3837 |

Results are displayed as number and proportion (%).

NSVD; Normal spontaneous vaginal delivery, *C-sec*; Cesarean section, *PMH*; Past medical history,

NEC; Necrotizing enterocolitis, *NICU*; Neonatal intensive care unit,

CoNS; Coagulase-Negative Staphylococcus.

* p<0.05

Table 6. A prospective regression analysis of factors influencing neonatal microbiota

| Characteristics | Gastric culture detected (ref. Not detected) | | | Bronchial culture detected (ref. Not detected) | | | Oral culture detected (ref. Not detected) | | |
|--------------------------|---|---------------------|---------|---|---------------------|---------|--|---------------------|----------------|
| | Odds ratio | Confidence interval | p-value | Odds ratio | Confidence interval | p-value | Odds ratio | Confidence interval | p-value |
| Neonatal factors | | | | | | | | | |
| Sex | Male | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | Female | 0.51 | 0.13 | 2.06 | 0.3440 | 1.78 | 0.32 | 9.91 | 0.5105 |
| Birth type | Full term | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | Preterm | 1.99 | 0.31 | 12.67 | 0.4659 | 0.76 | 0.10 | 5.58 | 0.7846 |
| Birth weight | Normal | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | Low birth weight | 2.13 | 0.34 | 13.51 | 0.4218 | 0.83 | 0.11 | 6.06 | 0.8530 |
| APGAR5 score | < 7 | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | ≥ 7 | 0.47 | 0.12 | 1.82 | 0.2773 | 0.06 | 0.00 | 1.16 | 0.0629 |
| Delivery mode | NSVD | 6.81 | 0.99 | 47.02 | 0.0517 | 4.63 | 0.49 | 43.57 | 0.1804 |
| | C-sec | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| Multiple pregnancy | Singlet | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | Multiplet | 2.85 | 0.73 | 11.09 | 0.1305 | 1.32 | 0.24 | 7.43 | 0.7511 |
| Prenatal factors | | | | | | | | | |
| Advanced maternal age | < 35 | 1.00 | . | 1.00 | . | . | 1.00 | . | . |
| | ≥ 35 | 2.84 | 0.62 | 13.01 | 0.1777 | 3.19 | 0.46 | 22.08 | 0.2409 |
| Maternal PMH | Hypertension | 0.19 | 0.01 | 3.68 | 0.2697 | 0.33 | 0.02 | 6.95 | 0.4751 |
| | Diabetes | 4.09 | 0.99 | 16.86 | 0.0512 | 3.45 | 0.58 | 20.63 | 0.1752 |
| | Chorioammonitis | 5.22 | 0.83 | 32.67 | 0.0774 | 9.92 | 1.35 | 72.66 | 0.0239* |
| Postnatal factors | | | | | | | | | |
| | IUGR | 0.12 | 0.01 | 2.19 | 0.1506 | 0.26 | 0.01 | 5.30 | 0.3791 |
| | Intubation | 4.95 | 0.25 | 98.31 | 0.2944 | 0.98 | 0.04 | 26.42 | 0.9922 |
| | PPV | 8.68 | 0.46 | 165.08 | 0.1506 | 4.20 | 0.21 | 85.97 | 0.3520 |
| | Curosurf | 1.55 | 0.33 | 7.16 | 0.5778 | 4.20 | 0.21 | 85.97 | 0.3520 |
| | | | | | | | | | |

Table 6. A prospective regression analysis of factors influencing neonatal microbiota (continued)

| Characteristics | Gastric culture detected (ref. Not detected) | | | | Bronchial culture detected (ref. Not detected) | | | | Oral culture detected (ref. Not detected) | | | | |
|------------------------|---|---------------------|---------|----------------|---|---------|------------|---------------------|--|-------|-------|----------------|----------------|
| | Odds ratio | Confidence interval | p-value | Odds ratio | Confidence interval | p-value | Odds ratio | Confidence interval | p-value | | | | |
| Culture Growth | | | | | | | | | | | | | |
| Cervix | 2.16 | 0.07 | 72.29 | 0.6665 | 1.35 | 0.04 | 46.76 | 0.8680 | 1.26 | 0.04 | 43.63 | 0.8976 | |
| Gastric | . | . | . | . | 33.00 | 4.06 | 268.34 | 0.0011* | 6.82 | 1.49 | 31.13 | 0.0132* | |
| Bronchial | 33.00 | 3.63 | 299.88 | 0.0019* | . | . | . | . | 6.21 | 0.88 | 43.95 | 0.0675 | |
| Oral | 6.82 | 1.52 | 30.68 | 0.0123* | 6.21 | 0.94 | 41.18 | 0.0585 | . | . | . | . | |
| Pathogen growth | | | | | | | | | | | | | |
| Cervix | <i>CoNS</i> | 0.50 | 0.09 | 2.65 | 0.4140 | 0.46 | 0.06 | 3.51 | 0.4514 | 0.51 | 0.07 | 3.87 | 0.5116 |
| | <i>Escherichia coli</i> | 2.40 | 0.46 | 12.63 | 0.3022 | 2.80 | 0.41 | 19.11 | 0.2928 | 2.52 | 0.38 | 16.66 | 0.3364 |
| | <i>Candida sp.</i> | 0.94 | 0.20 | 4.50 | 0.9403 | 0.46 | 0.06 | 3.51 | 0.4514 | 1.23 | 0.20 | 7.57 | 0.8243 |
| Gastric | <i>CoNS</i> | 26.01 | 0.27 | inf | 0.1623 | inf | inf | inf | inf | 1.98 | 0.02 | 185.57 | 0.7685 |
| | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 26.01 | 0.27 | inf | 0.1623 | inf | inf | inf | inf | 18.55 | 0.20 | inf | 0.2065 |
| | <i>Escherichia coli</i> | 121.85 | 4.15 | inf | 0.0054* | 18.15 | 1.93 | 170.42 | 0.0112* | 6.90 | 0.87 | 54.99 | 0.0683 |
| Bronchial | <i>Escherichia coli</i> | 21.77 | 0.22 | inf | 0.1881 | inf | inf | inf | inf | 23.70 | 0.24 | >999.999 | 0.1761 |
| Oral | <i>CoNS</i> | 0.77 | 0.03 | 21.56 | 0.8759 | 1.55 | 0.05 | 52.89 | 0.8091 | 85.78 | 3.00 | inf | 0.0093* |
| | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 24.38 | 0.25 | inf | 0.1713 | inf | inf | inf | inf | 20.58 | 0.21 | inf | 0.1957 |
| | <i>Escherichia coli</i> | 46.32 | 1.04 | inf | 0.0476* | 13.66 | 0.73 | 257.09 | 0.0808 | 37.66 | 0.86 | inf | 0.0600 |
| | <i>Candida sp.</i> | 24.38 | 0.25 | inf | 0.1713 | 3.68 | 0.04 | 375.40 | 0.5806 | 20.58 | 0.21 | inf | 0.1957 |

Results are displayed as number and proportion (%).

NSVD; Normal spontaneous vaginal delivery, *C-sec*; Cesarean section, *PMH*; Past medical history,

IUGR; Intrauterine growth retardation, *PPV*; Positive pressure ventilation,

CoNS; Coagulase-Negative Staphylococcus.

* p<0.05

3.5. 신생아 구강 미생물의 다양성에 영향을 미치는 출생 관련 요인

다음으로, 전향적 연구에서 출생 관련 요인과 신생아 구강 미생물의 다양성 간의 연관성을 조사하였다.

출생 시 요인 중에서는 조산 여부와 출생 체중이 신생아 구강 미생물의 다양성과 연관성이 있는 것으로 나타났으며, 조산, 저체중일 경우 신생아의 구강 미생물 다양성이 유의하게 감소하였다(Fig. 2a-d). 그 외에 출산 방법이나 APGAR 점수와 같은 다른 출생 시 요인에 따른 구강 미생물 다양성에는 유의미한 차이는 없었다(Fig. 2e, f).

출생 전 요인 중에서 산모의 전신질환이 신생아 구강 미생물의 다양성과 연관이 있었으며, 산모가 당뇨병과 융모양막염이 있는 경우 신생아의 구강 미생물 다양성이 유의하게 감소하였다(Fig. 2g, h). 그 외 출생 전 요인에 따른 구강 미생물 다양성의 차이는 없었다.

출생 후 요인 중에서는 신생아 구강 미생물 다양성에 영향을 미치는 요인은 없었다.

3.6. 산모와 신생아의 각 부위에서 미생물을 검출여부와 신생아 구강 미생물의 다양성 간의 연관성

신생아의 위, 기관지 및 구강에서 박테리아가 검출된 경우 신생아 구강 미생물의 다양성이 감소하는 것으로 나타났으나, 산모 자궁경부에서의 박테리아 검출은 구강 미생물 다양성에 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다(Fig. 2i-l). 특정 박테리아 검출 여부와 관련해서는 신생아 위, 구강에서 *Escherichia coli*가 검출될 경우 신생아 구강 미생물 다양성이 감소하였다(Fig. 2m-p).

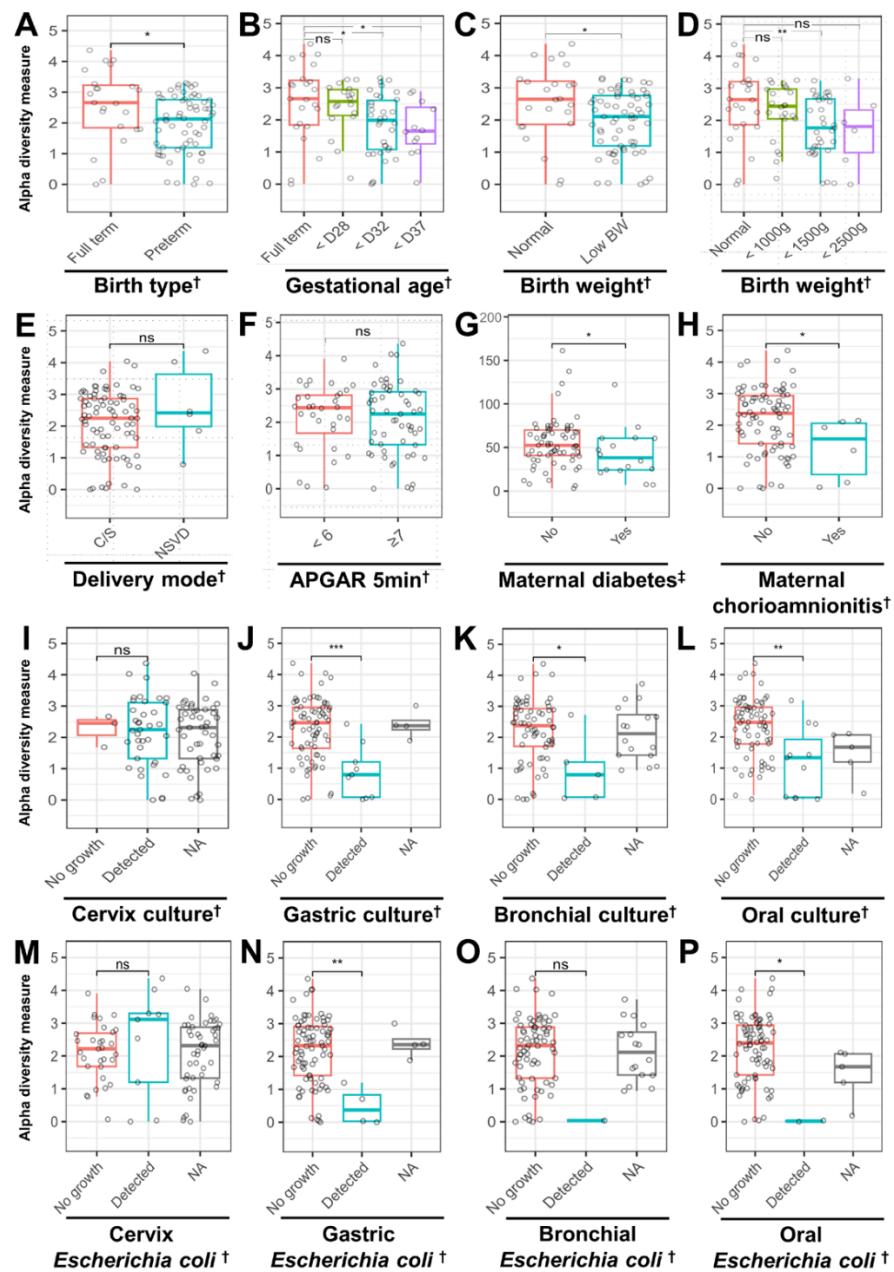


Fig 2. Association of neonatal oral microbiome alpha diversity with natal factors and microbial detection at other body sites.

The alpha diversity of the neonatal oral microbiome is visualized through box plots, with the median indicated by the line within each box. (a-f) Oral microbiome alpha diversity in relation to neonatal factors. (g, h) Alpha diversity in connection with prenatal conditions. (i-l) Influence of bacterial detection in various body sites on oral microbiome diversity. (m-p) Impact of *Escherichia coli* detection in the following cultures on oral microbiome diversity. "NA" refers to samples that were not subjected to a culture test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (Wilcoxon rank sum test); † Shannon, ‡ ACE

3.7. 신생아 구강 미생물 구성에 영향을 미치는 출생 관련 요인

신생아 구강 미생물의 구성에 유의한 차이를 나타낸 요인은 출생 시 요인 중 조산 여부, 출생 체중, 출산 방법이었다(각각 $p = 0.013$, $R^2 = 0.024$, $p = 0.015$, $R^2 = 0.023$, $p = 0.014$, $R^2 = 0.033$; Fig. 3a-f). 출생 전, 출생 후 요인과 신생아 구강 미생물 구성 사이에는 유의한 연관성이 관찰되지 않았다.

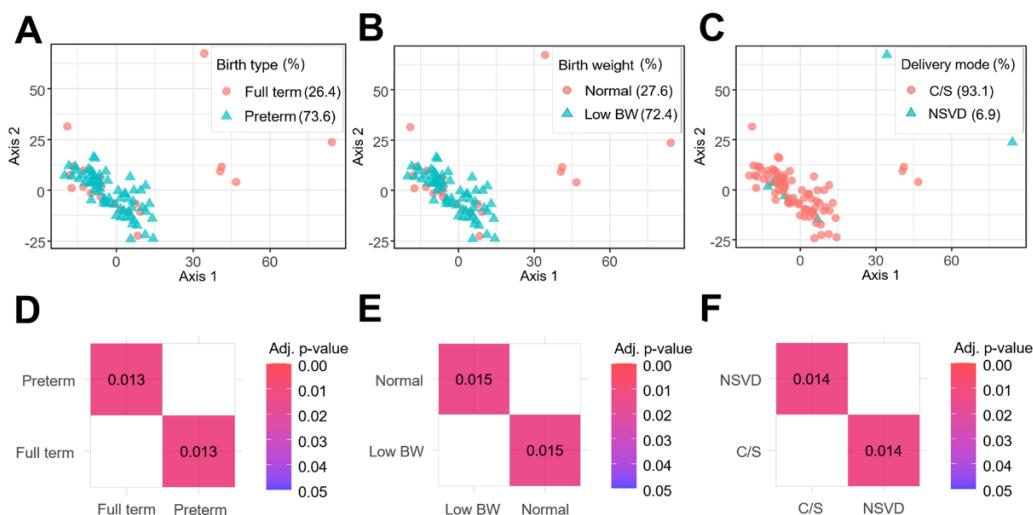


Fig 3. Influence of natal factors on the beta diversity of the neonatal oral microbiome.

(a-c) Beta diversity of the neonatal oral microbiome (binomial distance) visualized by PCoA, categorized by birth type, birth weight, and delivery mode.
 (d-f) PERMANOVA pairwise comparisons highlighting differences in microbial composition by these same natal factors.

3.8. 조산 여부에 따른 신생아 구강 미생물 구성 비교

신생아 구강 미생물의 다양성과 구성 모두에서 유의한 차이를 보였던 요인은 조산 여부였다. 따라서, 조산 여부에 따른 신생아의 구강 미생물 구성을 비교하였다.

문(phylum) 수준에서, 조산아의 구강 미생물 구성은 만삭아와 차이가 있었다. 조산아의 구강 미생물 다양성이 더 적었으며, 조산아에서는 *Proteobacteria*와 *Firmicutes*가 우세하게 나타났다(Fig. 4a). Differential Abundance Analysis(DAA)에서 422개의 전체 분류군 중 *Firmicutes*와 *Proteobacteria*에 속하는 7개가 조산아에서 유의미하게 풍부했고, 41개는 유의미하게 적었다(Fig. 4b). Heatmap에서, 미생물의 종(species) 수준의 상대적인 풍부도 또한 조산 여부에 따른 유의한 차이를 보였다(Fig. 5).

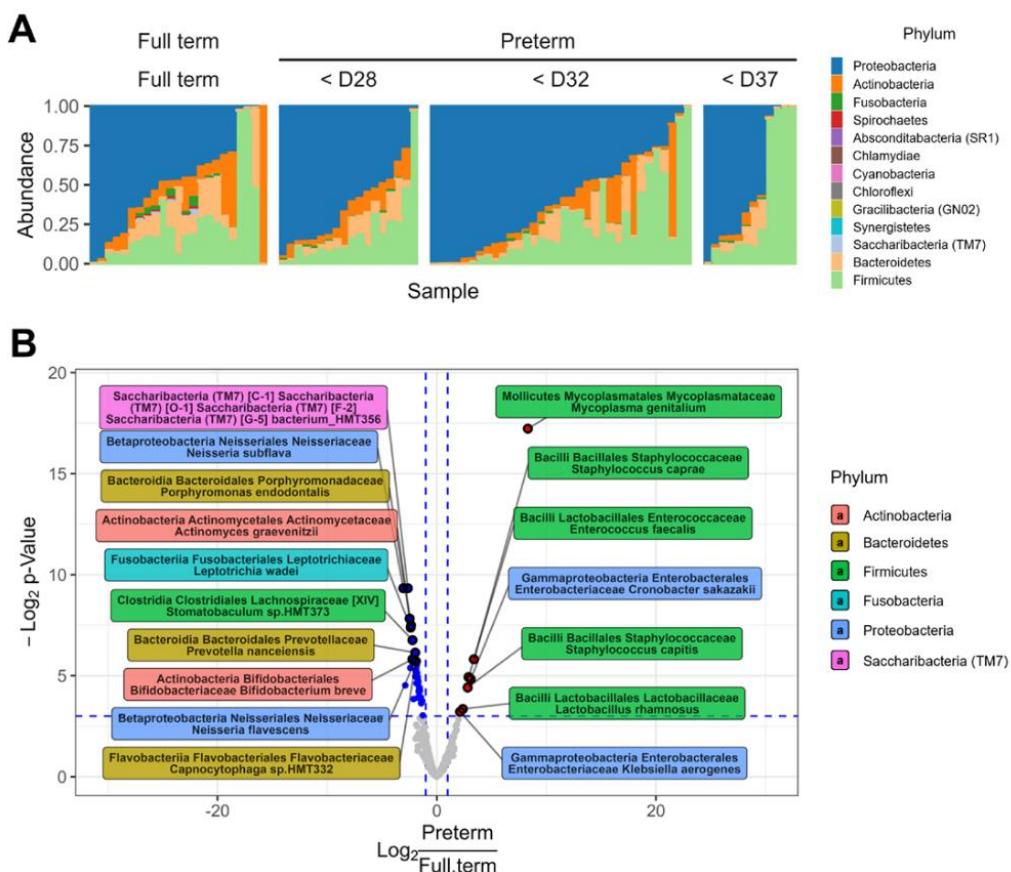


Fig 4. Comparative analysis of oral microbiome based on birth type.

(a) Microbial taxonomy overview. (b) Differential abundance analysis (DAA) results highlighting taxa with $|\log_2\text{FC}| > 1$ and adjusted $p < 0.001$ as significantly altered.

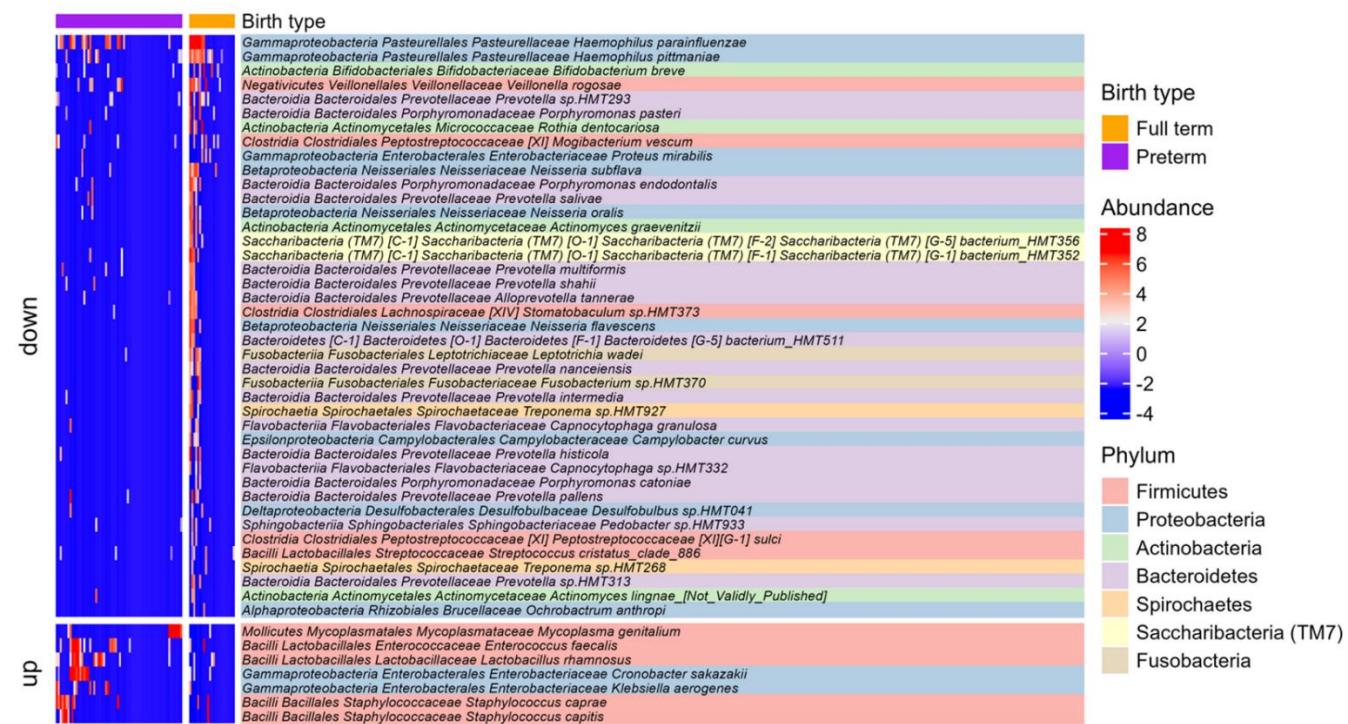


Fig 5. Relative abundance of microorganisms in preterm and full-term neonates.

Heatmap illustrating taxa that showed significant differences in relative abundance by birth type, based on DAA results. Colors represent the abundance levels of each taxon (rows) across individual samples (columns).

3.9. 조산아에서 유의미하게 변화한 박테리아와 관련된 질환

DAA 결과 조산아에서 유의하게 변화된 미생물을 병원체-속주 상호작용 데이터베이스(PHI-base)에서 확인하여 특정 질병과의 연관성을 분석하였다(Urban, et al., 2022). 분석 결과, *Corynebacterium diphtheriae*, *Lactococcus lactis*, *Proteus mirabilis*의 상대적 풍부도는 조산아에서 유의하게 감소하였으며, 각각 디프테리아, 심내막염, 요로감염과 관련이 있는 것으로 나타났다. 반면, *Helicobacter pylori*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*의 상대적 풍부도는 유의하게 증가하였으며, 각각 위장 감염, 병원 감염, 폐렴과 관련이 있는 것으로 나타났다(Fig. 6). 각 미생물에서 질병과 관련된 유전자들은 Fig. 7에 나타내었다.

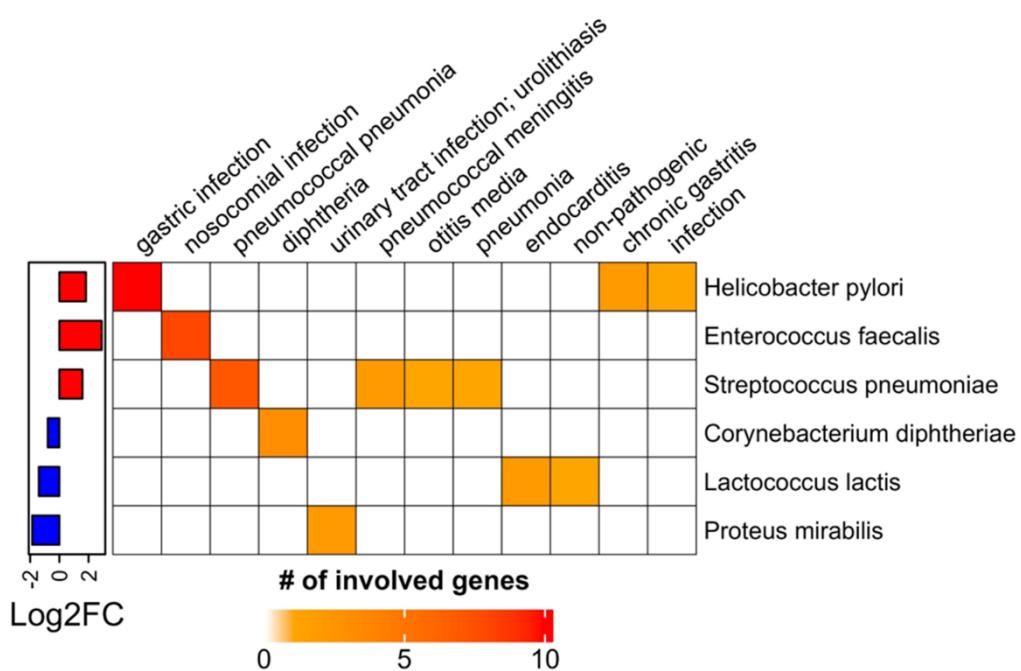


Fig 6. Bacteria and associated diseases that showed significant differences in preterm neonates based on the PHI database.

According to DAA ($p < 0.05$), certain bacteria showed significant changes in preterm neonates, and their related pathogens and diseases were explored using the PHI database. Microbes significantly altered in preterm neonates are plotted on the y-axis, and their associated diseases are on the x-axis. In the left box, red indicates higher relative abundance in preterm neonates, and blue indicates lower abundance. In the right box, increasing red intensity reflects a stronger microbe-disease association.

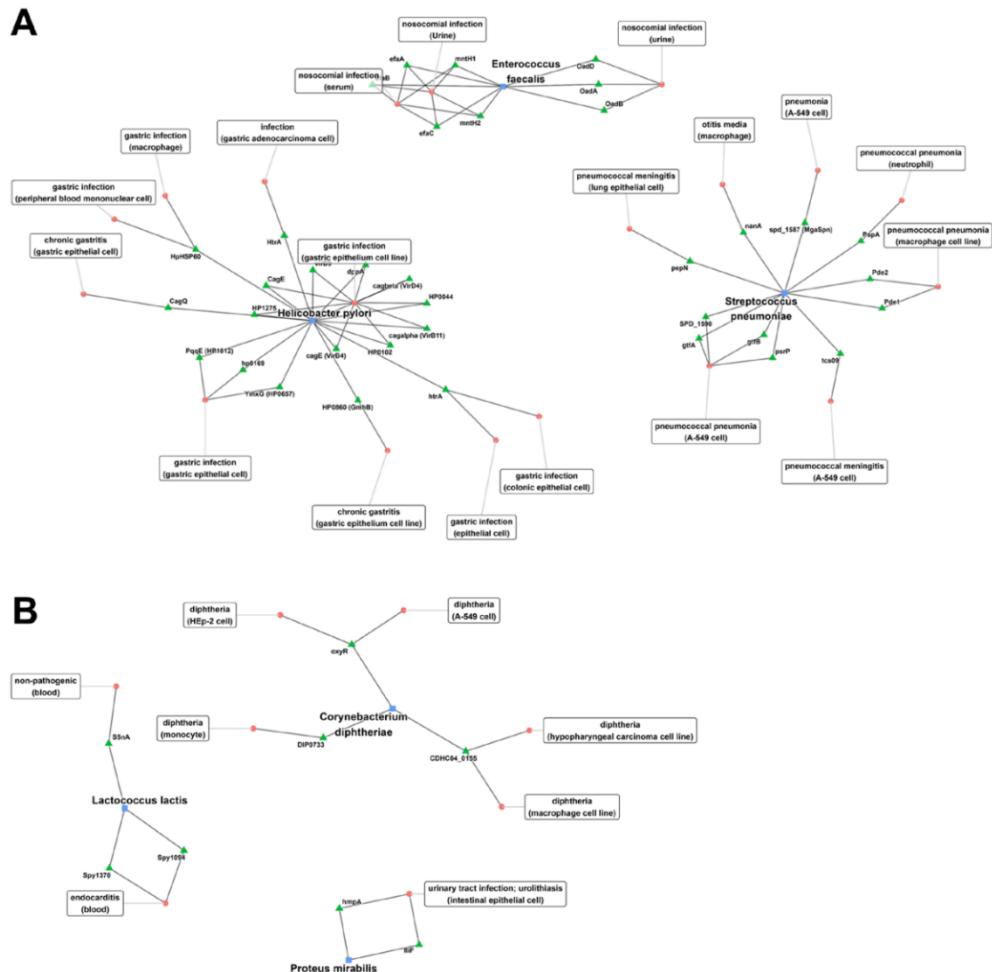


Fig 7. Network plot of genes associated with bacteria-related diseases

showing significant differences in preterm neonates.

(a) Pathogens and disease-associated genes found in higher abundance in preterm neonates. (b) Pathogens and genes linked to disease that were less prevalent in preterm neonates. Red circles denote related diseases, green triangles indicate associated genes, and blue squares represent the microbes.

4. 고찰

신생아 미생물군의 형성과 발달은 신생아 건강에 중요한 역할을 한다. 본 연구에서는 안정적인 정상균총 형성의 출발점인 신생아의 초기 미생물군(출생 후 0~3일 이내, 특히 출생 직후 구강 내 미생물군)에 초점을 맞췄다. 본 연구는 산모의 자궁경부로부터 신생아의 위, 기관지, 구강으로 이어지는 미생물의 전달 양상을 확인하고, 신생아 구강 미생물의 다양성에 영향을 미치는 출생 관련 요인들을 확인하고자 하였다. 연구 결과 신생아의 위, 기관지, 구강에서는 유사한 속(genus)의 미생물이 검출되었고, 신생아 위의 미생물이 산모의 자궁경부 미생물과 가장 유사하여 산모의 자궁경부에서 신생아의 여러 신체부위로 미생물이 전달되는 양상을 확인하였다. 또, 조산 여부, 출생 체중, 산모의 융모양막염, 산모의 당뇨 등의 출생 관련 요인이 신생아 구강 미생물의 다양성 감소와 관련이 있었으며, 조산 여부와 출생 체중에 따라서는 신생아 구강 미생물의 구성에도 차이를 보였다. 본 연구는 신생아의 초기 구강 미생물에 영향을 미치는 중요한 요인은 조산 여부임을 확인하였고, 조산아의 구강 미생물군 형성 및 조산아의 구강 미생물과 건강 상태와의 관련성에 대한 연구의 기초 자료를 제공한다.

각 신체 부위에서 검출된 박테리아를 속(genus) 수준에서 비교한 결과, 신생아의 박테리아 다양성은 산모 자궁경부에 비해 낮았으며, 신생아의 위, 기관지, 구강에서 유사한 박테리아가 검출되었다. 산모 자궁경부의 미생물 구성과 가장 유사한 것은 신생아 위 미생물이었으며, 그 다음으로 구강, 기관지 순으로 유사했다. 이는 신생아의 초기 장내 미생물이 산모의 장내 미생물과 가장 유사하고, 그 다음으로 질, 구강, 피부 미생물과 유사하다는 이전 연구 결과와 일치하며, 초기 구강 미생물이 산모의 구강 미생물과 가장

유사하고, 그 다음으로 피부, 질, 장내 미생물과 유사하다는 결과와도 일치한다(Ferretti, et al., 2018). 이러한 결과는 양수를 삼키는 과정에서 산모 유래 미생물이 신생아의 구강과 장으로 전달됨을 시사한다. 신생아 위 미생물이 신생아 구강 미생물보다 산모 자궁경부와 더 높은 유사성을 보인 이유는 신생아 구강 미생물 배양 분석에 사용된 샘플 수가 충분하지 않았기 때문일 수 있다. 그럼에도 불구하고, *Lactobacillus*를 제외하면, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Escherichia*는 네 가지 부위 모두에서 상위 속으로 일관되게 검출되었다. 이러한 결과는 산모에서 신생아로의 미생물 전달 패턴을 확인하는 동시에, 신생아의 다양한 부위 간 미생물의 유사성을 보여준다.

신생아의 초기 미생물군 형성은 산모로부터 유래한 미생물의 군집화로 시작되며, 다양한 출생 관련 요인이 이러한 미생물의 군집화에 영향을 미칠 수 있다. 본 연구에서는 출생 관련 요인을 세 가지 그룹으로 분류하고, 신생아의 초기 미생물 군집에 영향을 미치는 요인을 확인하였다. 또한, 일반적으로 미생물 다양성이 높은 것이 낮은 것보다 건강에 더 이롭다고 간주된다(Manor, et al., 2020). 따라서 본 연구에서는 출생 직후 구강 미생물의 다양성에 영향을 미치는 출생 관련 요인을 확인하였다.

만삭아와 비교했을 때, 조산아는 장내 미생물 군집의 다양성이 감소하며, *Proteobacteria*와 *Firmicutes*가 우세하게 나타난다(Underwood and Sohn, 2017). 또한, 조산아의 구강 미생물군은 출생 직후 초기에는 불균형한 상태를 보이며, 일부 특정 미생물이 조산아의 기관지폐이형성증 및 폐혈증과 같은 합병증과 관련이 있다(Selway, et al., 2023). 이러한 이전 연구들과 일치하게, 본 연구에서도 저체중 조산아의 구강 미생물 다양성이 만삭 정상 체중 신생아에 비해 감소한 것이 확인되었다. 이러한 연구 결과는 조산아와 만삭아의 구강 미생물 구성에 차이가 있음을 의미하며, 조산 여부와

출생 체중이 초기 구강 미생물군 형성에 중요한 영향을 미친다는 것을 보여준다.

여러 연구에서 신생아의 구강 미생물 구성이 출산 방법에 따라 차이를 보인다고 보고하였으며, 자연분만 신생아에서는 산모의 질 미생물이 우세하고, 제왕절개 신생아에서는 산모의 피부 미생물이 우세하게 나타난다고 하였다(Kim, et al., 2020; Xiao, et al., 2020). 본 연구에서는 자연분만의 경우 신생아 위 박테리아 검출율이 유의미하게 높음을 확인하였다. 또한, 신생아의 구강 미생물 구성도 출산 방법에 따라 차이를 보이는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 신생아의 미생물 군집이 출생 시 양수를 삼킴으로써 형성된다는 사실을 뒷받침한다.

APGAR 점수는 신생아의 피부 색, 심박수, 근긴장도, 호흡 및 반사 반응을 평가하여 출생 직후 상태를 평가하는 지표이다(Fetus, et al., 2015). 본 연구에 따르면, 기관지에서 미생물이 검출된 신생아는 5분 APGAR 점수가 유의미하게 낮았으며, 구강 미생물과는 연관성이 관찰되지 않았다. 이는 출생 직후 신생아의 상태와 초기 미생물군의 구성이 연관성이 있음을 시사한다.

융모양막염, 당뇨병과 같은 산모의 전신 질환이 신생아 위 미생물의 검출과 관련이 있었다. 특히, 산모가 융모양막염이 있는 경우 신생아의 위, 기관지 미생물 검출과의 연관성이 확인되었다. 또한, 산모의 당뇨병과 융모양막염은 신생아의 구강 미생물 다양성을 유의미하게 감소시키는 것으로 나타났다. 융모양막염은 산모의 태반과 양막에 영향을 미치는 염증성 감염 질환으로, 조산, 신생아 폐혈증 및 신생아 호흡기 질환을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있다(Pugni, et al., 2016). 이러한 산모의 감염성 질환은 신생아 초기 미생물군의 구성에 영향을 미칠 가능성이 있다. 여러 연구에서 당뇨병과 구강 미생물군 변화 사이의 연관성이 보고되었다(Long, et al., 2017). 또, 산모의 구강

미생물은 태반 미생물 형성에 기여한다고 보고되었다(Aagaard, et al., 2014). 이는 당뇨병이 있는 산모의 구강미생물 변화가 태반 미생물 구성을 변화시킬 수 있음을 의미하며, 한 연구에서는 임신성 당뇨병이 태반 미생물을 변화시킨다고 보고하였다(Bassols, et al., 2016; Pelzer, et al., 2017). 신생아의 구강 미생물은 태반과 양수에서 유래하므로, 당뇨병에 의해 변화된 태반 미생물이 신생아의 구강 미생물에 영향을 미칠 수 있으며, 이는 본 연구 결과를 뒷받침한다.

신생아의 초기 미생물군이 출생 후 신생아 건강에 중요한 역할을 한다는 것은 잘 알려져 있다. 본 연구에서는 신생아의 위나 기관지에서 미생물이 검출될 경우 패혈증 발생률이 유의하게 높아지는 것을 확인하였다. 또한, 신생아의 기관지에서 미생물이 검출될 경우 괴사성 장염 발생률이 유의하게 증가하는 것으로 나타났다. 이는 신생아 초기 미생물군과 신생아 건강 사이의 기존의 연관성을 다시 한 번 강조하는 결과이다(Gensollen, et al., 2016; Underwood and Sohn, 2017; White, et al., 2013).

산모의 양수 및 태반 미생물은 신생아에게 전달되며, 신생아의 구강 미생물은 장과 호흡기로 전달된다. 이는 각 부위의 미생물 군집이 서로 연결되어 있음을 시사한다. 본 연구에서는 신생아의 구강, 위, 기관지 부위의 미생물 군집이 상호 연관되어 있으며, 이러한 부위에서 미생물이 검출될 경우 신생아 구강 미생물 다양성이 감소하는 것을 확인하였다. 또한, 산모와 신생아에서 특정 미생물의 존재와 각 부위에서 미생물 구성 간의 연관성을 조사한 결과, *Escherichia coli*가 신생아에서 미생물 구성과 유의미한 연관성을 가지는 것으로 나타났다. 신생아의 위 또는 구강에서 *Escherichia coli*가 검출될 경우, 구강 미생물 다양성이 감소하는 것으로 확인되었다. 또, 신생아의 구강에서

Escherichia coli, 산모의 자궁경부에서 *Alloscardovia omnicolens*가 검출될 경우 신생아의 위에서 박테리아 검출률이 높았으며, 산모의 자궁경부에서 *Klebsiella pneumoniae*, 신생아의 위에서 *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*가 검출될 경우 신생아 기관지에서 박테리아 검출률이 높은 것으로 나타났다. 대부분의 *Escherichia coli* 균주는 무해하지만, 병원성 균주는 패혈증 및 과사성 장염과 같은 질환을 유발한다고 알려져 있다(Guner, et al., 2009; Stoll, et al., 2011). *Alloscardovia omnicolens*는 산모에서 병원균으로 작용하여 조기 양막 파열을 유발할 수 있다(Cardona-Benavides, et al., 2019). *Klebsiella pneumoniae*는 조산 및 신생아 패혈증과 연관이 있으며, 산모와 신생아 모두에서 병원성으로 작용한다(Khaertynov, et al., 2018; Son, et al., 2018). Group B *Streptococcus* 중 하나인 *Streptococcus agalactiae*는 신생아 패혈증을 유발하는 원인균으로 알려져 있다(Patras and Nizet, 2018; Stoll, et al., 2011). 본 연구를 통해, 특정 병원균이 산모와 신생아의 특정 신체 부위에서 존재할 경우 신생아 초기 미생물의 구성에 영향을 미칠 수 있으며, 이는 신생아의 건강에 잠재적인 영향을 줄 수 있음을 확인하였다.

미생물 다양성 분석에서 신생아 구강 미생물의 다양성과 구성에서 차이를 보인 요인은 조산 여부와 출생 체중이었다. 본 연구에 포함된 신생아들은 조산 여부와 출생 체중에 따라 분류했을 때 거의 동일했으며(모든 만삭아는 정상 체중, 조산아는 한 명을 제외하고 모두 저체중), 여러 연구에서 재태 연령이 출생 체중보다 신생아의 이환율과 사망률에 더 큰 영향을 미친다고 보고 되었다(Chang, et al., 2005; Hokuto, et al., 2001; Wilcox and Skjaerven, 1992). 따라서 본 연구에서는 출생 체중보다는 조산 여부에 초점을 맞춰 조산 여부에 따른 구강 미생물 구성의 차이를 분석하였다. 조산아와

만삭아 간의 구강 미생물 구성은 유의미한 차이를 보였으며, 조산아 그룹에서는 *Proteobacteria*와 *Firmicutes*가 풍부하게 나타났다. 이는 조산아의 장내 미생물군에 관한 이전 연구 결과와 일치하는 결과이다(Underwood and Sohn, 2017). 종(species) 수준에서, *Cronobacter sakazakii*(Hunter, et al., 2008) 및 *Staphylococcus capitnis*(In Kim, 2017)와 같이 신생아 패혈증이나 괴사성 장염을 유발할 수 있는 박테리아가 조산아에서 더 많이 검출되었다. 반면, 프로바이오틱 특성을 가진 *Bifidobacterium breve*(Li, et al., 2004)와 구강 바이오플러스를 이루며, 치아우식이 없는 개인에서 풍부한 것으로 보고된 *Veillonella rogosae*(Arif, et al., 2008; Zhou, et al., 2021)는 조산아에서 더 적었다. 또한, 치아 및 치주 건강과 관련이 있는 것으로 알려진 *Haemophilus parainfluenzae* 및 *Porphyromonas pasteri*(Relvas, et al., 2021)도 조산아에서 적게 나타났다. 이러한 결과는 조산아의 구강에서 유익균의 비율이 낮고 병원균이 더 많이 존재할 가능성을 시사하지만, 조산아에서 특정 유익균과 병원균을 균주(strain) 수준에서 규명하기 위해서는 차세대 염기서열 분석 기반의 메타유전체 분석을 활용한 추가 연구가 필요하다. 본 연구에서는 PHI 데이터베이스와의 비교를 통해 *Corynebacterium diphtheriae*, *Lactococcus lactis*, *Proteus mirabilis*, *Helicobacter pylori*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*의 풍부도가 조산아에서 유의미한 차이를 보이는 것을 확인하였으며, 이들 균이 다양한 감염성 질환과 관련될 가능성이 있음을 확인하였으나, 이러한 미생물의 정확한 역할을 규명하기 위해서는 추가 연구가 필요하다.

본 연구에는 몇 가지 한계점이 존재한다. 첫째, 산모에서 신생아로의 미생물 전달 양상을 확인하기 위해서는 더 큰 표본 규모의 후향적 코호트 연구가 필요했다. 따라서,

이를 위한 자궁경부, 위, 기관지, 구강 미생물 분석은 배양 검사 결과에만 기반하였으며, 16S rRNA 시퀀싱을 이용하여 분석한 신생아 구강 미생물과의 직접적인 비교가 어려워 각 미생물 군집 간의 연관성만 확인할 수 있었다. 둘째, 본 연구는 주로 16S rRNA 분석을 이용하여 미생물 구성을 조사하였기 때문에 특정 세균을 정확히 동정하는 데 한계가 있다. 따라서 차세대 염기서열 분석 기반의 메타유전체 분석을 활용한 추가적인 연구를 통해 신생아 미생물군에 대한 보다 포괄적인 연구가 필요하다. 조산아에서 질병과 관련된 특정 미생물을 식별하고 그와 관련된 메커니즘을 규명하기 위한 추가 연구를 통해 신생아 구강 미생물 검사를 조산아의 질병 예측 및 진단에 활용할 수 있을 것이며, 신생아 구강미생물 구성 중 유익균과 병원균에 대한 추가 분석은 조산아의 질병 관리를 위한 구강 미생물군 이식(OMT)과 같은 치료법 개발에 도움이 될 수 있을 것이다. 마지막으로, 본 연구는 관찰 연구이므로 특정 요인과 미생물 군집 간의 인과 관계를 명확하게 규명하는 데 한계가 있다.

이러한 한계점에도 불구하고, 본 연구는 신생아 초기 미생물군의 형성과 신생아 건강에 대한 잠재적 영향을 이해하는 데 중요한 통찰을 제공한다. 첫째, 본 연구는 산모의 자궁경부, 신생아의 위, 기관지, 구강의 네 가지 신체 부위에서 미생물 검출의 연관성을 종합적으로 조사하여 기존 연구와 차별성을 갖는다. 이러한 거시적 접근 방식은 미생물 전달 양상에 대한 보다 포괄적인 이해를 가능하게 한다. 둘째, 신생아 미생물 구성에 영향을 미치는 요인에 대한 대부분의 연구가 신생아 장내 미생물에 초점을 맞추었고, 제한된 몇 가지 요인만을 분석한 것에 반해 본 연구는 신생아 구강 미생물에 초점을 맞추어 다양한 요인을 종합적으로 분석하였다. 이러한 포괄적인 분석 방식은 연구 결과의 깊이와 폭을 확장하는 데 기여한다. 셋째, 본 연구는 전향적 및 후향적 연구를 모두

포함하며, 특히 후향적 연구는 기존 연구보다 더 큰 표본 규모를 포함하였다. 이로 인해 연구 결과의 신뢰성과 일반화 가능성성이 더욱 높아졌다. 마지막으로, 출생 직후 즉시 구강 미생물 검체를 채취함으로써 식이 등의 다른 요인들의 영향을 최소화한 신생아 초기 구강미생물에 대한 분석이 가능했다.

5. 결론

본 연구는 신생아 구강 미생물에 초점을 맞추어, 신생아 구강 미생물의 구성에 영향을 미치는 다양한 출생요인을 종합적으로 분석하였다. 산모에서 신생아로의 미생물 전달뿐만 아니라 조산 여부, 출생 체중, 출산 방법, 산모의 융모양막염, 산모의 당뇨 및 다른 신체 부위의 미생물 존재 여부와 같은 다양한 출생 관련 요인들이 신생아의 초기 미생물군에 영향을 미쳤다. 이 중에서도 신생아의 구강 미생물에 영향을 미치는 가장 중요한 요인은 조산 여부였으며, 조산 여부에 따라 신생아 구강 미생물의 다양성 및 구성에 차이가 있었다. 특히, 조산아의 경우 구강 미생물의 다양성이 감소하였으며, 유익균이 적고 병원균이 더 많이 존재하는 것으로 확인되었다.

참고문헌

- Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J: The placenta harbors a unique microbiome. *Science translational medicine* 6(237): 237ra265–237ra265, 2014.
- Arif N, Sheehy E, Do T, Beighton D: Diversity of Veillonella spp. from sound and carious sites in children. *Journal of dental research* 87(3): 278–282, 2008.
- Bassols J, Serino M, Carreras-Badosa G, Burcelin R, Blasco-Baque V, Lopez-Bermejo A, Fernandez-Real J-M: Gestational diabetes is associated with changes in placental microbiota and microbiome. *Pediatric research* 80(6): 777–784, 2016.
- Bogaert D, Van Beveren GJ, de Koff EM, Parga PL, Lopez CEB, Koppensteiner L, et al.: Mother-to-infant microbiota transmission and infant microbiota development across multiple body sites. *Cell Host & Microbe* 31(3): 447–460. e446, 2023.
- Callahan B, McMurdie P, Rosen M, Han A, Johnson A, Dada SH: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data., 2016, 13. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>: 581–583.
- Cardona-Benavides I, Puertas Prieto A, Pinilla-Martín FJ, Navarro-Marí JM, Gutiérrez Fernández J: *Allocardovia omnicolens* emerging presence in premature rupture of membranes. 2019.
- Cassir N, Simeoni U, La Scola B: Gut microbiota and the pathogenesis of necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Future microbiology* 11(2): 273–292, 2016.
- Chang YS, Kim YJ, Koo SH, Lee JH, Hwang JH, Choi CW, et al.: Outcomes and management of fetal infants with birth weight below 500 g at a tertiary

- center. *Clinical and Experimental Pediatrics* 48(9): 939–945, 2005.
- Dzidic M, Abrahamsson TR, Artacho A, Collado MC, Mira A, Jenmalm MC: Oral microbiota maturation during the first 7 years of life in relation to allergy development. *Allergy* 73(10): 2000–2011, 2018.
- Ferretti P, Pasolli E, Tett A, Asnicar F, Gorfer V, Fedi S, et al.: Mother-to-Infant Microbial Transmission from Different Body Sites Shapes the Developing Infant Gut Microbiome. *Cell Host Microbe* 24(1): 133–145 e135, 2018.
- Fetus AAoPCo, Newborn, Obstetricians ACo, Practice GCoO, Watterberg KL, Aucott S, et al.: The apgar score. *Pediatrics* 136(4): 819–822, 2015.
- Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS: How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science* 352(6285): 539–544, 2016.
- Gu Z: Complex heatmap visualization. *Imeta* 1(3): e43, 2022.
- Guner YS, Malhotra A, Ford HR, Stein JE, Kelly LK: Association of Escherichia coli O157: H7 with necrotizing enterocolitis in a full-term infant. *Pediatric surgery international* 25: 459–463, 2009.
- Hokuto I, Ikeda K, Tokieda K, Mori K, Sueoka K: An ultra premature baby of 290 g birth weight needed more than 500 mg/kg of calcium and phosphorus daily. *European journal of pediatrics* 160(7): 450, 2001.
- Hunter CJ, Petrosyan M, Ford HR, Prasadrao NV: Enterobacter sakazakii: an emerging pathogen in infants and neonates. *Surgical infections* 9(5): 533–539, 2008.
- In Kim M: *Staphylococcus capitis* Induced Late-on-set Sepsis in Very Low Birth Weight Infants. 2017.
- Khaertynov KS, Anokhin VA, Rizvanov AA, Davidyuk YN, Semyenova DR, Lubin SA, Skvortsova NN: Virulence factors and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from neonates with sepsis.

Frontiers in medicine 5: 225, 2018.

Kim G, Bae J, Kim MJ, Kwon H, Park G, Kim S-J, et al.: Delayed establishment of gut microbiota in infants delivered by cesarean section. *Frontiers in microbiology* 11: 2099, 2020.

Könönen E, Gursoy UK: Oral Prevotella species and their connection to events of clinical relevance in gastrointestinal and respiratory tracts. *Frontiers in microbiology* 12: 798763, 2022.

Li Y, Shimizu T, Hosaka A, Kaneko N, Ohtsuka Y, Yamashiro Y: Effects of bifidobacterium breve supplementation on intestinal flora of low birth weight infants. *Pediatrics international* 46(5): 509–515, 2004.

Long J, Cai Q, Steinwandel M, Hargreaves MK, Bordenstein SR, Blot WJ, et al.: Association of oral microbiome with type 2 diabetes risk. *Journal of periodontal research* 52(3): 636–643, 2017.

Love MI, Huber W, Anders S: Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome biology* 15: 1–21, 2014.

Manor O, Dai CL, Kornilov SA, Smith B, Price ND, Lovejoy JC, et al.: Health and disease markers correlate with gut microbiome composition across thousands of people. *Nature communications* 11(1): 5206, 2020.

McMurdie PJ, Holmes S: phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS one* 8(4): e61217, 2013.

Nardi GM, Grassi R, Ndokaj A, Antonioni M, Jedlinski M, Rumi G, et al.: Maternal and neonatal oral Microbiome Developmental patterns and correlated factors: a systematic review—does the Apple fall close to the Tree? *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18(11): 5569, 2021.

- Patras KA, Nizet V: Group B streptococcal maternal colonization and neonatal disease: molecular mechanisms and preventative approaches. *Frontiers in pediatrics* 6: 27, 2018.
- Pelzer E, Gomez-Arango LF, Barrett HL, Nitert MD: Maternal health and the placental microbiome. *Placenta* 54: 30–37, 2017.
- Pugni L, Pietrasanta C, Acaia B, Merlo D, Ronchi A, Ossola MW, et al.: Chorioamnionitis and neonatal outcome in preterm infants: a clinical overview. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 29(9): 1525–1529, 2016.
- Relvas M, Regueira-Iglesias A, Balsa-Castro C, Salazar F, Pacheco J, Cabral C, et al.: Relationship between dental and periodontal health status and the salivary microbiome: bacterial diversity, co-occurrence networks and predictive models. *Scientific reports* 11(1): 929, 2021.
- Schmidt TS, Hayward MR, Coelho LP, Li SS, Costea PI, Voigt AY, et al.: Extensive transmission of microbes along the gastrointestinal tract. *Elife* 8: e42693, 2019.
- Selway CA, Collins CT, Makrides M, Sullivan TR, Committee NRS, Weyrich LS: Variable preterm oral microbiome stabilizes and reflects a full-term infant profile within three months. *Pediatr Res*, 2023.
- Son K-A, Kim M, Kim YM, Kim SH, Choi S-J, Oh S-y, et al.: Prevalence of vaginal microorganisms among pregnant women according to trimester and association with preterm birth. *Obstetrics & gynecology science* 61(1): 38, 2018.
- Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ, Faix RG, Poindexter BB, Van Meurs KP, et al.: Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and E. coli disease continues. *Pediatrics* 127(5): 817–826, 2011.
- Underwood MA, Sohn K: The Microbiota of the Extremely Preterm Infant. *Clin*

Perinatol 44(2): 407–427, 2017.

Urban M, Cuzick A, Seager J, Wood V, Rutherford K, Venkatesh SY, et al.: PHI-base in 2022: a multi-species phenotype database for Pathogen–Host Interactions. *Nucleic Acids Research* 50(D1): D837–D847, 2022.

White RA, Bjørnholt JV, Baird DD, Midtvedt T, Harris JR, Pagano M, et al.: Novel developmental analyses identify longitudinal patterns of early gut microbiota that affect infant growth. *PLoS computational biology* 9(5): e1003042, 2013.

Wilcox AJ, Skjaerven R: Birth weight and perinatal mortality: the effect of gestational age. *American journal of public health* 82(3): 378–382, 1992.

Wu S, Yu F, Ma L, Zhao Y, Zheng X, Li X, et al.: Do maternal microbes shape newborn oral microbes? *Indian Journal of Microbiology* 61: 16–23, 2021.

Xiao J, Fiscella KA, Gill SR: Oral microbiome: possible harbinger for children's health. *Int J Oral Sci* 12(1): 12, 2020.

Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al.: Human gut microbiome viewed across age and geography. *nature* 486(7402): 222–227, 2012.

Zhou P, Manoil D, Belibasakis GN, Kotsakis GA: Veillonellae: Beyond Bridging Species in Oral Biofilm Ecology. *Frontiers in Oral Health* 2, 2021.

ABSTRACT

Natal factors influencing the diversity of the neonatal oral microbiome

The establishment of neonatal microbiota is essential for the postnatal immune system and the proper development of physiological, neurological, and metabolic functions. This study aimed to explore the determinants of oral microbiome diversity in neonates. The study population included two cohorts: a prospective group composed of 73 mothers and 87 neonates, and a retrospective group involving 991 mothers and 1,121 neonates. Microbial cultures were obtained from maternal cervix samples and from neonatal gastric, bronchial, and oral sites. Additionally, oral microbiome was characterized using 16S rRNA gene sequencing to assess microbial diversity and composition. The microbial profiles of neonatal samples revealed overlapping genera, with the gastric microbiota most closely resembling that of the maternal cervix. In addition to maternal microbial transfer, several natal factors—including birth type, delivery mode, birth weight, maternal conditions such as diabetes and chorioamnionitis, and the detection of bacteria at other body sites—were found to impact oral microbiome diversity. Of these, birth type emerged as the most influential, with preterm neonates displaying reduced microbial diversity, fewer beneficial taxa, and a higher prevalence of potential pathogens. These findings offer a valuable reference point for future research on oral microbiota development in preterm neonates and its broader implications for neonatal health.

Key words: Oral microbiome, Neonate, Maternal-to-newborn microbial transmission, natal factor, preterm