

2007년 2월  
박사학위논문

2007년 2월

박사학위논문

구강 내 임플란트-지대주 연결부에서  
치주질환관련 세균의 검출

한  
명  
주

# 구강 내 임플란트-지대주 연결부에서 치주질환관련 세균의 검출

조선대학교 대학원

치 의 학 과

한 명 주

# 구강 내 임플란트-지대주 연결부에서 치주질환관련 세균의 검출

Detection of the periodontal disease related  
bacteria from the implant -abutment interface  
in oral cavity

2007년 2월 일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

한 명 주

구강 내 임플란트-지대주 연결부에서  
치주질환관련 세균의 검출

지도교수 정 재 현

이 논문을 박사학위신청 논문으로 제출함

2006년 10 월 일

조선대학교 대학원

치 의 학 과

한 명 주

## 한명주의 박사학위 논문을 인준함

위원장    조선대학교    교    수    계    기    성    인

위    원    서울대학교    임상교수    윤    창    근    인

위    원    고려대학교    교    수    신    상    완    인

위    원    조선대학교    교    수    정    재    현    인

위    원    조선대학교    교    수    김    수    관    인

2006 년    12월    일

조선대학교 대학원

# 목 차

ABSTRACT .....	iv
I. 서론 .....	1
II. 연구 재료 및 방법 .....	3
III. 연구성적 .....	7
IV. 총괄 및 고안 .....	14
V. 결론 .....	17
참고문헌 .....	18

## 표 목 차

Table 1. PCR primers sequences used in this study .....	6
Table 2. The clinical parameters of each of patients and the detection of 5 periodontopathogens from implant fixture, crevice and tongue .....	9, 10
Table 3. Summary of the detection of 5 periodontopathogens from implant fixture and BOP(Bleeding on probing) test .....	11

## 도 목 차

Fig. 1. Sampling in tongue .....	4
Fig. 2. Sampling in implant crevice .....	4
Fig. 3. Sampling in implant fixture .....	4
Fig. 4. Transporting to eppendorff tube .....	4
Fig. 5. Periodontal examination .....	4
Fig. 6. Detection of Porpyromonas.gingivalis isolated from samples .....	11
Fig. 7. Detection of Porpyromonas.intermedius isolated from samples .....	12
Fig. 8. Detection of Tannerella forsythensis isolated from samples .....	12
Fig. 9. Detection of Treponema.denticola isolated from samples .....	13
Fig.10. Detection of Actinobacillus. actinomycetemcomitans isolated from samples .....	13

## ABSTRACT

Detection of periodontal disease related bacteria  
from the implant–abutment interface in oral cavity

*Han, Meung-Ju, D.D.S., M.S.D.*

*Advisor : Prof. Chung, Chae-Heon , D.D.S., M.S.D., Ph. D.*

*Department of Dentistry,*

*Graduate School of Chosun University*

**Statement of the problem:** Implant systems result in gaps and cavities between implant and abutment that can act as a trap for bacteria and thus possibly cause inflammatory reactions in the peri-implant soft tissues.

**Purpose:** The purpose of this study was to investigate the detection rate of putative periodontopathogens, *Porphyromonas. gingivalitis*, *Prevotella. intermedius*, *Tannerella. forsythensis*, *Treponema. denticola*, *Actinobacillus. actionmycetemcomitans*, related to implant–abutment interface microleakage.

**Material and methods:** Samples were taken from 27 subjects with sterilized paper points and were transported in 1\*PBS. The detection of periodontopathogens were performed by polymerase chain reaction with species-specific primers based on 16S rDNA. The PCR products were cloned into pGEM-T easy vector and its nucleotides were sequenced in order to confirm the specificity.

**Results:** Our data showed that the detection rate of *Porphyromonas. gingivalitis* and *Prevotella. intermedius* in implant fixture was 59% and 82% in patients respectively. Detection rate of *Porphyromonas. gingivalitis* and *Prevotella. intermedius* in implant crevice was 44% and 82% in patients. Detection rate of *Porphyromonas. gingivalitis* and *Prevotella. intermedius* in tongue was 82% and 82% in patients.



***Conclusion:*** Current implant systems cannot safely prevent microbial leakage and bacterial colonization of the inner part of the implant.

# I. 서 론

임플란트 보철물에서 임플란트와 지대주 사이에 공간이 생기게 되고 이러한 공간은 세균의 저장소로 작용하게 되어 임플란트 주위조직에 염증반응을 유발할 수 있다. 임상에서 임플란트 구성성분간의 이러한 공간은 피할 수 없는 문제임에도 불구하고 이들 공간에 대한 임상적인 중요성이 임상가와 제조자 모두에게 무시되어 왔다.<sup>1)</sup> Steinebrunner 등<sup>2)</sup>은 개를 이용한 실험에서 고정체와 지대주를 연결하여 4-12개월이 지난 후 고정체-지대주 연결부위에서 지속적으로 세균침착이 되고 염증소견이 있음을 보여주었다. 이는 임플란트 시스템 내측의 세균오염에 의한 결과이므로, 미세누출을 줄인 좀 더 긴밀한 연결부 개발이 필요하다고 하였다. Jansen과 Gross 등<sup>3)</sup>은 현재의 임플란트 시스템에서는 연결형태나 연결부 크기에 상관없이 미세누출은 피할 수 없다고 하였고 Steinebrunner 등<sup>1,2)</sup>이 각 임플란트 시스템 별로 실험실에서 기능중인 모델에서 고정체-지대주 연결부의 세균누출을 조사한 연구결과 모든 임플란트 시스템에서 연결부 세균누출이 관찰되었다고 하였다. Quirynen 등<sup>4)</sup>은 골유착 임플란트의 고정체-지대주 연결부위에서 미세누출은 구취와 임플란트 주위조직의 염증을 유발한다고 보고하였다.

임플란트 주위염은 가역적인 연조직 염증반응으로서 기능중인 임플란트 지지골의 소실을 동반하는 염증과정이다. 임플란트 주위의 불량한 구강위생은 bacterial plaque 침착과 밀접한 관련이 있다.<sup>5)</sup> 임플란트 주위염은 매우 빈도가 높은 반면, 간과하기 쉬우며 초기에 적절히 관리되지 않는다면 임플란트 자체의 제거를 유발할 수 있는 매우 중요한 문제이다. Mombelli 등<sup>6)</sup>의 연구에 따르면 임플란트 주위염이 있는 환자들의 경우 일반적인 치주질환 원인균과 유사한 microflora를 발견할 수 있다고 보고하였다. Steinebrunner 등<sup>1,2)</sup>은 임플란트의 고정체-지대주사이의 간극은 미생물의 누출과 집결을 유발하기 쉬운 부위로 이러한 미생물의 침투는 임플란트 주위염과 골소실을 유발한다고 하였다. 또한 치조골과 관계없이 비슷한 염증반응을 관찰할 수 있다고 한다.<sup>7)</sup> 이러한 세균누출은 구강미생물의 직경( $10\mu\text{m}$ )과 Binon<sup>8)</sup>등이 측정된 다양한 임플란트 시스템에서 임플란트와 지대주의 간극( $20-49\mu\text{m}$ )의 직경을 비교

해 보았을때 당연히 일어날 수 있다고 하였다.

임플란트 부위간을 통한 세균침투로 인한 Bränemark 임플란트의 내부 오염이 보고되었다.<sup>9)</sup> Quirynen등<sup>4)</sup>의 연구에 의하면 수술이나 기능 초기의 임플란트 실패를 제외한 장기간 기능하는 동안의 임플란트 실패의 주요한 원인으로 과부하로 인한 변연골 소실과 장기적으로 지속되는 치은염을 들 수 있는데, 치은염의 직접적인 원인으로 세균을 들 수 있으며 이들 세균의 침투는 임플란트 주위염을 유발하고, 나아가 변연골소실을 야기할 수 있다고 하였다. 임상적으로 세균 누출로 인한 세균침투는 임플란트 주위치은염의 주요 원인 인자가 되고 나아가 임플란트의 장기적인 성공을 방해하는 질환의 규명과 치료에 효과적으로 이용될 수 있다.

본 연구의 목적은 다양한 기간동안 임플란트 보철물을 장착하여 실제 사용 중인 환자에서 임플란트 고정체내부, 임플란트 주위열구, 혀 등에서 세균검출을 시도하여 임플란트 고정체-지대주 연결부위에서의 미세누출로 인한 세균 침투여부를 확인하는 데 있다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구대상

조선대학교 치과병원 임플란트 센터에서 시술을 받고 현재 임플란트 보철물을 사용중인 환자에서 정기적 점검을 위해 재내원한 27명의 환자를 무작위로 선정하였다. 사용중인 임플란트 부위는 전치부 8증례, 소구치부 3증례, 대구치부 16증례였다. 고정체-지대주 연결방식은 외측연결(external connection)이 24증례였고 내측연결(internal connection)이 3증례였다. 임플란트 제품은 3i system(Biomet 3i, U.S.A.)이 17증례로 가장 많았고, Steri-oss system(Bausch&Lim Co, U.S.A.) 3증례, 오스탬(오스탬 임플란트, 한국) 3증례, Friadent system(FRIADENT GmbH, Germany) 2증례, Endopore system(INNOVA, Canada) 2증례였다. 보철장착기간은 1개월에서 10년 9개월로 다양하였다 (Table 2).

### 2. 시료 채취 및 치주검사

각 환자에서 세균검사를 위한 시료채취를 한 후 치주검사를 시행하였다. 시료채취는 혀, 임플란트 주변 치은열구, 임플란트 고정체 내부 등 세 부위에서 행하였다. 시료채취는 맨 처음으로 구강 내에서 다른 어떤 처치도 하지 않은 상태에서 멸균된 고리모양의 플라스틱 막대를 이용해 혀의 배면을 여러 차례 문질러서 세균막을 채취하였다(Fig.1). 그 후 소독된 paper point를 가볍게 사용중인 임플란트 주변 치은열구에 위치시킨 후 10초이상 유지하였다(Fig. 2). 마지막으로 사용 중인 임플란트 보철물을 제거하고 고정체내부에 역시 멸균된 paper point를 10초 이상 위치시킨 후 제거하여 500  $\mu$ l의 1×PBS가 넣어진 1.5 ml eppendorff tube에 담아(Fig. 3, Fig. 4) 실험실로 옮겨 세균 유전체 DNA를 추출하였다.

시료채취가 완료된 후 사용 중인 임플란트 주위치주조직에 대한 치주검사를 시행하였다(Fig.5). 치주검사는 치은지수(GI, gingival index) 탐침시 출혈(BOP, Bleeding on probing) 탐침깊이(PD, probing depth)등 3가지 항목이었으며, 임플란트 주변 치은열구에서 조사하여 기록하였다.



Fig. 1. Sampling in tongue.



Fig. 2. Sampling in implant crevice.



Fig. 3. Sampling in implant fixture.

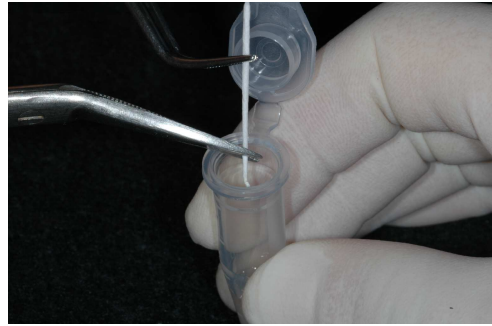


Fig. 4. Transporting to eppendorff tube.



Fig. 5. Periodontal examination.

### 3. 세균검사

세균검사는 임플란트 주위염과 관련이 있다고 보고되고 있는 치주질환 원인 세균들 *Porphyromonas gingivalitis*, *Prevotella intermedius*, *Tannerella*

*forsythensis*, *Treponema denticola*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*에 대해 시행하였다.

### 1) 세균 유전체 DNA 추출

Lim 등<sup>10)</sup>의 연구에서 사용한 direct DNA 추출법<sup>11)</sup>에 의해 세균 유전체 DNA를 추출하였다. 이를 간단하게 설명하면 채취한 500  $\mu$ l의 시료액을 vortexing 한 후 10분간 13,000 rpm에서 원심 분리하였고 그 후 50  $\mu$ l의 시료액과 동량의 2 $\times$  LSE buffer(2 mM EDTA + 1% Triton X-100)를 넣고 잘 혼합한 다음 100 $^{\circ}$ C에서 15분간 boiling한 후 얼음에 방치한 다음 1분간 13,000 rpm에서 원심분리하여 다음 실험에 사용하였다.

### 2) Nested-PCR

먼저 모든 세균 종의 16S rDNA 대부분을 증폭할 수 있는 universal PCR primer(27F와 1492R)를 이용하여 일차 PCR(direct PCR)을 시행하였다. PCR 조건은 94 $^{\circ}$ C에서 2분간 pre-denaturation을 실시한 다음 94 $^{\circ}$ C에서 1분간 변성(denaturation), 55 $^{\circ}$ C에서 30초간 가열냉각(annealing), 72 $^{\circ}$ C에서 1분간 신장(extension) 과정을 30회 반복하여 시행하고, 마지막 extension을 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 시행하여 16S rDNA를 증폭하였다. 그 PCR 산물을 주형으로 이용하여 10배 희석한 후 각각의 primer를 이용하여 2번째 PCR(nested PCR)을 시행하였다. 두 번째 PCR은 기존에 알려진 Ashimoto 등<sup>12)</sup>이 고안한 Ash-Pg-F, Ash-Pg-R, Ash-Td-F, Ash-Td-R, Bf-F, Bf-R primer와 Stubbs 등<sup>13)</sup>이 고안한 StuPit1-F와 StuPit2-R, 그리고 ChDC-Aa-F와 ChDC-Aa-R를 이용하였고(Table 1), 이는 바이오니아사 (Bioneer corp., Seoul, Korea)에 주문하여 제작하여 Nested-PCR을 시행하였다. PCR은 AccuPower<sup>TM</sup> PCR Premix (K-2016; Bioneer corp., Seoul, Korea)를 이용하여 앞에서 추출한 4 ng의 세균 유전체 DNA, 각각 10 pmol 씩의 각각의 프라이머를 넣고 최종 반응 부피가 20  $\mu$ l가 되도록 0.22  $\mu$ m membrane filter로 여과한 증류수를 넣고 PTC-100<sup>TM</sup> Programmable Thermal Controller(Model PTC-100, MJ Research Inc. Watertown, MA, USA)를 이용하여 PCR을 시행하여 최종 반

응물을 2  $\mu$ l씩 1.5% agarose gel에서 전기영동을 실시하여 그 증폭 여부를 확인하였다.

Table 1. PCR primers sequences used in this study

Target gene	Primer Name	Oligonucleotide sequence (5' → 3')	Size of amplicons (bp)
16 rDNA gene			
Universal	27F	AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG	1465
	1492R	TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T	
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	ChDC Aa-F	TAg CCC Tgg TgC CCg AAg C	428
	ChDC Aa-R	CAT CgC Tgg TTg gTT ACC CTC Tg	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Ash-Pg-F	Agg CAg CTT gCC ATA CTg Cg	404
	Ash-Pg-R	ACT gTT AgC AAC TAC CgA TgT	
<i>Treponema denticola</i>	Ash-Td-F	TAA TAC CgA ATg TgC TCA TTT ACA T	316
	Ash-Td-R	TCA AAg AAg CAT TCC CTC TTC TTC TTA	
<i>Tannerella forsythensis</i>	Bf-F	gCg TAT gTA ACC TgC CCg CA	641
	Bf-R	TgC TTC AgT gTC AgT TAT ACC T	
<i>Prevotella intermedium</i>	StuPit1-F	CAA AgA TTC ATC ggT ggA	282
	StuPit2-R	gCC ggT CCT TAT TCg AAg	

### Ⅲ. 연구성적

#### 1. 세균검사

27명 환자에 대한 세균검출결과는 Table 2와 Table 3과 같았다. *Porphyromonas gingivalitis*는 혀에서는 81.5%, 임플란트 주위열구에서는 44.4%, 임플란트 고정체에서는 59.3%에서 검출되었다. *Prevotella intermedicus*의 경우는 혀 81.5%, 임플란트 주위열구 81.5%, 고정체 81.5%에서 검출되었다. *Tannerella forsythensis*는 혀 77.8%, 임플란트 주위열구 55.6%, 고정체 44.4%에서 검출되었다. *Treponema denticola*의 경우는 임플란트 주위열구에서만 3.7% 검출되었고, 나머지는 검출되지 않았다. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*의 경우는 혀 18.5%, 임플란트 주위열구 14.8%, 고정체 11.1%에서 검출되었다.

임플란트 고정체에서는 *Prevotella intermedicus*가 81.5%로 가장 많았고, *Porphyromonas gingivalitis* 59.3%, *Tannerella forsythensis* 44.4%, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 11.1% 검출되었고 *Treponema denticola*는 검출되지 않았다. 고정체-지대주 연결방식에 따른 고정체에서의 세균검출을 살펴보면 외측연결에서는 *Prevotella intermedicus*가 78.3%, *Porphyromonas gingivalitis*가 56.5% 검출된 반면 내측연결에서는 *Prevotella intermedicus*와 *Porphyromonas gingivalitis*가 100% 검출되었다. Nested PCR에 대한 각 세균의 검출양상은 Figs.6-10과 같다.

자료분석방법은 통계패키지 SPSS 12.0을 사용하여 검정하였고, BOP 양성과 음성에 따른 세균검출빈도를 비교하기 위해 Fisher's exact test를 실시하였는데, BOP 양성과 음성에 따라 Fixture에서의 *Porphyromonas gingivalitis* 세균검출빈도는 통계학적으로 유의성 있는 차이가 있었고( $p < 0.05$ ), 그 외 다른 세균검출빈도는 차이가 없었다( $p > 0.05$ ).

#### 2. 치주검사

27명 환자에 대한 치주검사결과는 Table 2와 같았다. 치은지수(gingival



index)의 평균은 1.07이었다. 탐침시 출혈에 대한 검사 시행시 66.6%(18 증례)에서 출혈이 되었고 33.3%(9 증례)에서는 출혈이 되지 않았다. 치주낭측정은 근심협측치주낭에서 행하였는데 대개의 경우(24 증례) 2-4mm로 임상적으로 건강하였고, 3증례에서는 치주낭 깊이가 5mm였다.

**Table 2.** The clinical parameters of each of patients and the detection of 5 periodontopathogens from implant fixture, crevice and tongue

Patient's No.	site	fix-abut connection brand	Duration of wearing (mons)	perio-exam			Detection Site	PCR					
				GI <sup>a</sup>	BOP <sup>b</sup>	PD <sup>c</sup>		Pg <sup>d</sup>	Pi <sup>e</sup>	Tf <sup>f</sup>	Td <sup>g</sup>	Aa <sup>h</sup>	
1	#33	ext	16	1	+	2	fixture		+				
		3i					crevice		+				
		tongue					+	+	+		+		
2	#14	ext	123	1	+	2	fixture	+	+				
		Steri-oss					crevice	+	+				
		tongue					+		+				
3	#36	ext	117	1	+	3	fixture	+	+	+			
		Steri-oss					crevice	+	+	+		+	
		tongue					+	+	+				
4	#45	ext	15	1	+	4	fixture	+	+				
		3i					crevice		+				
		tongue					+	+	+				
5	#21	ext	3	0	-	3	fixture				+		
		3i					crevice			+			
		tongue							+		+		
6	#36	ext	22	0	-	3	fixture			+	+		+
		Osstem					crevice			+	+		
		tongue					+	+	+				
7	#37	int	6	2	+	2	fixture		+	+			+
		3i					crevice		+	+		+	
		tongue					+	+	+		+		
8	#47	ext	33	2	+	5	fixture	+	+	+			
		3i					crevice	+	+	+	+	+	+
		tongue					+	+	+				
9	#36	int	12	2	+	4	fixture	+	+	+			
		Friadent					crevice		+	+			
		tongue					+	+	+				
10	#33	ext	15	2	+	3	fixture		+	+			
		Osstem					crevice		+	+		+	
		tongue						+					
11	#36	ext	20	1	+	2	fixture	+					
		3i					crevice						
		tongue					+		+		+		
12	#37	ext	4	1	-	1	fixture		+	+			
		3i					crevice		+	+			
		tongue					+	+	+				
13	#43	ext	15	2	0	3	fixture						
		Osstem					crevice		+	+			
		tongue						+	+				
14	#12	ext	73	1	-	3	fixture		+	+			
		3i					crevice		+	+			
		tongue						+	+				

**Table 2.** The clinical parameters of each of patients and the detection of 5 periodontopathogens from implant fixture, crevice and tongue (continued)

Patient's No.	site	fix-abut connection brand	Duration of wearing (mons)	perio-exam			Detection Site	PCR				
				GI <sup>a</sup>	BOP <sup>b</sup>	PD <sup>c</sup>		Pg <sup>d</sup>	Pi <sup>e</sup>	Tf <sup>f</sup>	Td <sup>g</sup>	Aa <sup>h</sup>
15	#45	ext	15	1	-	1	fixture	+	+			
		3i					crevice	+	+			
							tongue	+	+			
16	#21	ext	23	1	+	2	fixture	+				
		3i					crevice	+	+	+		
							tongue	+		+		
17	#36	ext	129	3	+	5	fixture	+	+	+		
		steri-oss					crevice	+	+	+		
							tongue		+	+		
18	#47	ext	29	1	+	2	fixture	+	+			
		3i					crevice	+		+		
							tongue	+		+		+
19	#13	int	17	1	+	2	fixture	+	+	+		
		Friadent					crevice	+	+	+		
							tongue	+	+	+		
20	#36	ext	15	1	+	4	fixture	+	+			
		3i					crevice	+	+			
							tongue	+	+			
21	#36	ext	18	0	-	3	fixture		+			
		3i					crevice		+			
							tongue	+	+			
22	#11	ext	6	1	+	4	fixture	+	+			
		3i					crevice					
							tongue	+	+	+		
23	#17	ext	19	0	-	2	fixture	+	+	+		
		3i					crevice	+	+	+		
							tongue	+	+	+		
24	#27	ext	17	1	+	4	fixture	+	+			
		endopore					crevice	+	+			
							tongue	+	+	+		+
25	#16	ext	15	1	+	5	fixture		+			
		3i					crevice	+				
							tongue	+	+	+		
26	#36	ext	1	1	-	1	fixture		+			
		endopore					crevice					
							tongue	+	+			
27	#47	ext	17	0	+	3	fixture	+	+	+		+
		3i					crevice		+	+		
							tongue	+	+			

<sup>a</sup>Gingival index, <sup>b</sup>Bleeding on probing, <sup>c</sup>Probing depth, <sup>d</sup>*Porphyromonas gingivalis*, <sup>e</sup>*Prevotella intermedia*, <sup>f</sup>*Tannerella forsythensis*, <sup>g</sup>*Treponema denticola*, <sup>h</sup>*Actinobacillus actinomycetemcomitans*

**Table 3.** Summary of the detection of 5 periodontopathogens from implant fixtures and BOP (Bleeding on probing) test

		PCR <sup>a</sup> in Fixture																		
		Pg			Pi			Tf			Td			Aa						
		(+)	(-)	T <sup>b</sup>	(+)	(-)	T	(+)	(-)	T	(+)	(-)	T	(+)	(-)	T				
BOP	BOP (+)	14	4	18	BOP (+)	16	2	18	BOP (+)	8	10	18	BOP (+)	0	18	18	BOP (+)	2	16	18
BOP	BOP (-)	2	7	9	BOP (-)	6	3	9	BOP (-)	4	5	9	BOP (-)	0	9	9	BOP (-)	1	8	9
	T	16	11	27	T	22	5	27	T	12	15	27	T	0	27	27	T	3	24	27

<sup>a</sup>Polymerase Chain Reaction, <sup>b</sup>Total

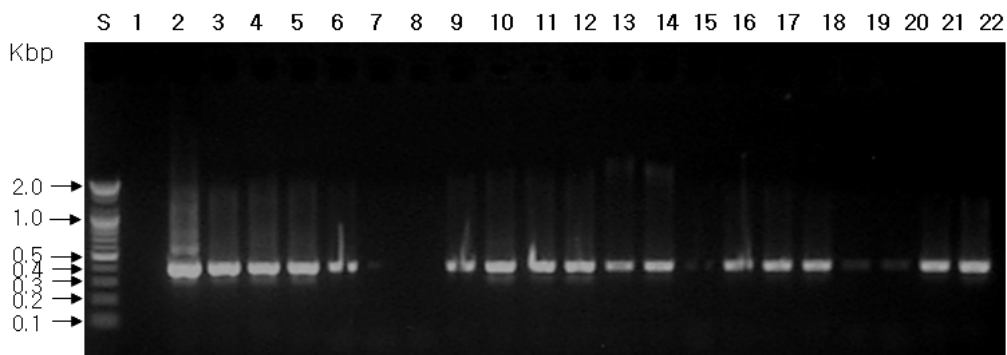


Fig. 6. Detection of *P. gingivalis* isolated from samples . The PCR products amplified with Ash-Pg-F and Ash-Pg-R primers. The PCR reactions were electrophoresed in 1.5% agarose gel. Lanes: S, 100 bp; 1, negative control (sterilized water); 2, *P. gingivalis* ATCC 33277<sup>T</sup>; 3-7, patient's No. 3; 8-12, No. 7; 13-17, No. 17; 18-22, No. 24.

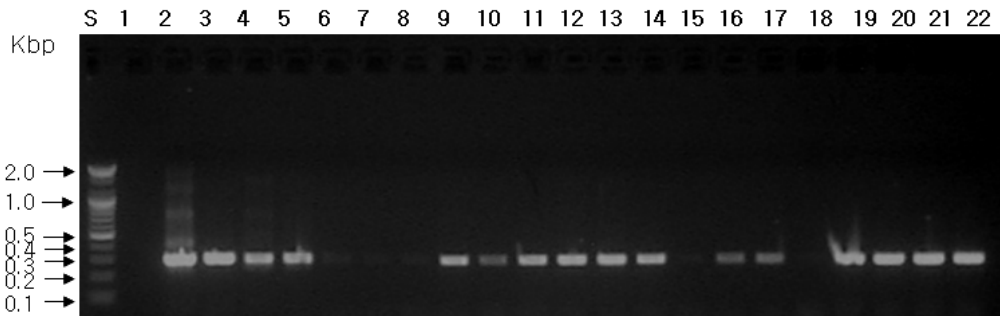


Fig. 7. Detection of *P. intermedius* isolated from samples . The PCR products amplified with StuPi1-F and StuPi2-R primers. The PCR reactions were electrophoresed in 1.5% agarose gel. Lanes: S, 100 bp; 1, negative control (sterilized water); 2, *P. intermedius* ATCC 25611<sup>T</sup>; 3-7, patient's No. 3; 8-12, No. 7; 13-17, No. 17; 18-22, No. 24.

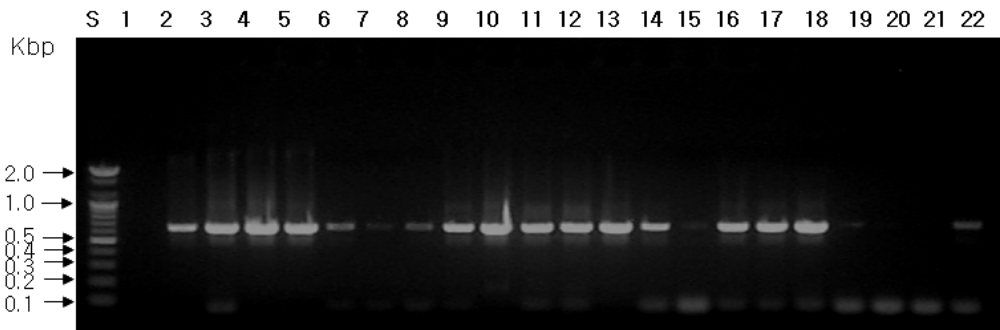


Fig. 8. Detection of *Tannerella forsythensis* isolated from samples. The PCR products amplified with Bf-F and Bf-R primers. The PCR reactions were electrophoresed in 1.5% agarose gel. Lanes: S, 100 bp; 1, negative control (sterilized water); 2, *T. forsythensis* ATCC 43037<sup>T</sup>; 3-7, patient's No. 3; 8-12, No. 7; 13-17, No. 17; 18-22, No. 24.

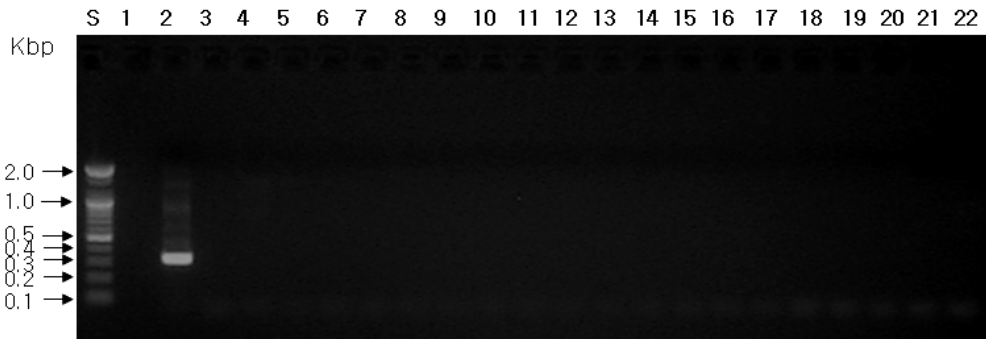


Fig. 9. Detection of *T. denticola* isolated from samples. The PCR products amplified with Ash-Td-F and Ash-Td-R primers. The PCR reactions were electrophoresed in 1.5% agarose gel. Lanes: S, 100 bp; 1, negative control (sterilized water); 2, *T. denticola* ATCC 35405<sup>T</sup>; 3-7, patient's No. 3; 8-12, No. 7; 13-17, No. 17; 18-22, No. 24.

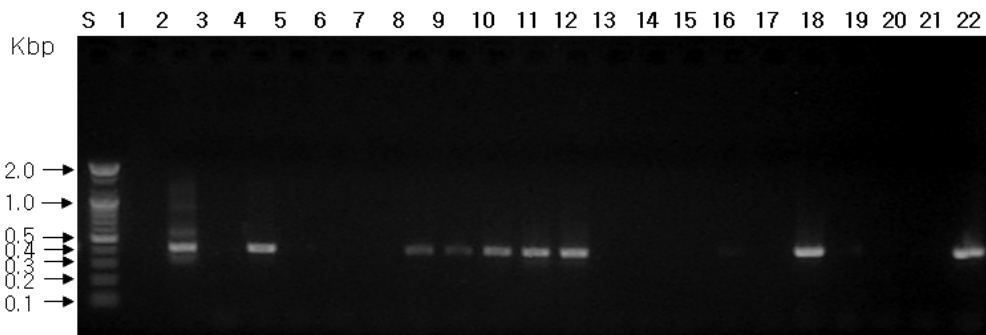


Fig. 10. Detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isolated from samples. The PCR products amplified with Ash-Td-F and Ash-Td-R primers. The PCR reactions were electrophoresed in 1.5% agarose gel. Lanes: S, 100 bp; 1, negative control (sterilized water); 2, *A. actinomycetemcomitans* ATCC 33384<sup>T</sup>; 3-7, patient's No. 3; 8-12, No. 7; 13-17, No. 17; 18-22, No. 24.

## IV. 총괄 및 고안

임플란트 보철물 사용환자에서 세균조절은 장기적인 성공을 위해 매우 중요한 문제이다. 세균조절 실패로 인해 구취, 출혈, 임플란트 주위염 등이 발생할 수 있고 이는 임플란트 보철물 사용환자들의 큰 불평이 되어왔다. Mombelli와 Rosenberg 등은 임플란트 주위염이 있는 환자들에서 일반적인 치주질환 원인균과 유사한 microflora를 발견할 수 있다고 하였다. 따라서 본 연구에서는 임플란트 보철물사용 환자에서 세균침착의 주된 장소로 밝혀진 고정체-지대주 연결부에서 치주질환관련세균 침투여부를 확인코저하였다.

본 연구에서 사용한 세균은 *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedius*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 였는데, 이들 세균은 치주질환환자에서 치주상태를 확인할 때 빈번히 사용되는 세균들이다. *Tannerella forsythensis*는 그람음성, 혐기성 세균으로서 Trypsin-like protease, sialidase, N-benzoyl-Val-Gly-Arg-P-nitroanilide-specific protease와 같은 독성인자를 갖고 있어 심한 치주질환과 밀접한 관련이 있다고 보고되어왔다.<sup>14-19)</sup> Pi는 높은 용해력을 갖고 있는데 적혈구가 용해되면서 나오는 헤모글로빈이나 헤민등이 Pi를 포함한 black pigmented bacteria 성장에 주요한 요인이 될 수 있어 Pi 세균은 치주질환진행을 평가하는 데 사용될 수 있다.<sup>20,21)</sup>

임플란트 보철물을 사용중인 환자에서 세균검사 결과는 Table 2와 Table 3과 같았다. 세균검사결과 임플란트 고정체내부는 sample 13을 제외하고는 항상 세균이 존재하는 상태였다. 세균종류로는 *Porphyromonas gingivalis*가 임플란트 보철물 사용환자들의 81.5%에서 검출되어 가장 높은 빈도를 보였고 *Prevotella intermedius*는 59.3% *Tannerella forsythensis*는 44.4% *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 는 11.1%환자들에서 검출되었다. 일반적으로 그 환자의 혀에서 검출된 세균 종류가 임플란트 치은열구와 고정체 내부에서 검출되는 경우가 많았지만 완전히 일치되는 것은 아니였다. 임플란트 고정체 내부는 주변치은열구와 비슷하거나 대체로 더 적은 세균분포를 보였으며 세균종류는 거의 비슷하였다. Sample 13은 고정체 2개 식립후 O-ring을 이용한

하악 overdenture를 약 15개월간 사용하였는데 혀와 임플란트 치은열구에서는 *Prevotella intermedius*, *Tannerella forsythensis*, 등의 세균이 검출되었지만 고정체내부에서는 세균 검출이 되지 않았다. 이는 다른 자연치가 있는 경우의 임플란트 증례와는 다른 결과로 주변 자연치의 관리가 임플란트 보철물의 유지에도 밀접한 영향을 줄 수 있는지에 대한 연구가 계속 필요하리라고 사료된다.

본 연구에서 조사한 환자 27명중 고정체-지대주 연결방식은 외측연결이 24증례였고 내측연결은 3증례였다. 내측연결인 경우는 sample7, sample 9, sample 19 였는데, 모두 고정체내부에서 세균검출이 되었다. 본 연구에서는 내측연결방식이 외측연결방식에 비해 세균누출면에서는 우수하다고 할 수 없었다.

Table 4는 BOP가 양성일 때와 음성일때의 고정체에서의 세균검출빈도를 비교하였다. BOP는 일반적으로 치주질환 진행을 예측하는 특정 부위의 치주상태를 나타내는 변수(site-specific periodontal parameter)로 널리 알려져있다. 지속적인 BOP는 부착상실을 야기할 수 있다.<sup>22,23)</sup> Kook 등<sup>24)</sup>의 연구에 의하면 치주질환이 있는 환자에서 BOP 양성과 음성에 따라 *Tannerella forsythia*와 *Prevotella intermedia*의 존재가 통계학적으로 유의한 차이가 있었다. 본 연구에서는 BOP가 양성일 때와 음성일 때의 고정체에서의 Pg 세균검출빈도가 통계학적으로 유의한 차이가 있었다. 임플란트 환자에서 세균검사는 임상에서 매년 시행하기가 힘들지만 BOP를 검사하여 양성인 경우 좀더 적극적인 유지관리가 필요하다고 할 수 있겠다.

고정체-지대주 연결부위의 미세누출을 줄이기 위한 많은 시도가 있어왔다. Jansen 등<sup>25)</sup>은 고정체-지대주 연결부가 정밀하게 맞는다하더라도 세균침투와 균집을 완전히 막을 수 없으므로 더 나은 봉쇄를 위해 변형이 필요하다고 하였으며 silicone washer를 사용한 Frialit-2 지대주에서 표준형 Frialit-2 지대주와 비교시 세균침투가 더 적었다고 보고하였다. 임플란트에서 세균침투는 고정체와 지대주의 정밀한 적합, 구성성분 간의 미세한 움직임 정도, 연결하는데 사용된 힘의 크기(torque force) 등 여러 가지 요소가 복합적으로 관여한다고 할 수 있다.<sup>8,26)</sup> Besimo 등<sup>27)</sup>은 고정체-지대주가 정밀하게 잘 맞는다



하더라도 회전방지요소(antirational elements)가 필요하다고 하였고, Rangert 등<sup>28)</sup>은 기능동안에 보철물에 가해지는 횡적 교합력(transverse occlusal force)가 임플란트의 휨(bending)이나 미세한 움직임을 유발하여 구성성분간의 간극을 증가시켜 임플란트와 주위 치주조직간의 “pump effect”를 야기한다고 하였다. Steinebrunner<sup>1,2)</sup> 등은 고정체와 지대주 연결부가 구조적으로 강하게 설계되어 있는 경우 세균침투가 더 적다고 하였으며 Camlog system의 “positive locking tube-in-tube joint” 설계가 세균침투면에서 더 우수하였다고 보고하였다. 또한 Gross<sup>3)</sup> 등은 잠금토크(closing torque)를 10Ncm에서 제조자의 추천대로 20Ncm으로 증가시켰을 때 모든 system에서 미세누출이 유의성있게 감소하였다고 보고하였다.

따라서 임상에서 고정체를 식립시 수평력(transverse force)가 가해지지 않도록 적절한 위치에 식립하는 것이 필요하고 적절한 잠금력(closing torque)를 사용하여야 하고 정밀한 보철물 제작이 필수적이라고 할 수 있다. 또한 보철물 사용환자들의 주기적인 점검과 치주관리가 고정체-지대주 연결부위의 미세누출을 줄이는데 중요하며 임플란트 제조업체는 고정체-지대주 연결부위의 미세누출을 줄이기 위한 구조적인 디자인의 개발이 더욱 필요하다고 할 수 있다.

## V. 결 론

본 연구는 임플란트-지대주 연결부에서 치주질환 관련세균의 검출을 하기 위하여 다양한 기간동안 임플란트 보철물을 장착하여 실제 사용 중인 27명의 환자에서 임플란트 고정체내부, 임플란트 주위열구와 혀에서 세균검사를 시행하였다. 세균검사는 세균유전체를 추출한 후 nested PCR 방법을 사용하여 각 세균의 존재를 확인하였으며 검사한 세균은 치주질환 관련 세균으로 알려진 *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedius*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 였다. 세균검사결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 임플란트 주위열구와 고정체 내부에는 세균이 존재하였다.
2. 세균의 종류로는 *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedius*, *Tannerella forsythensis*, 등이 많이 존재하였다.
3. 임플란트 고정체 내부는 임플란트 주위열구와 비슷하거나 더 적은 세균 분포를 보이며, 세균 종류는 거의 비슷하였다.
4. 고정체-지대주 연결방식에 관계없이 외측연결, 내측연결 모두에서 세균이 검출되었다.
5. 임플란트 시스템과 사용기간에 상관없이 세균이 존재하였다.

이상의 결과로부터 임플란트-지대주 연결부는 미세누출이 존재하며 임플란트 고정체내부 및 주위열구에는 항상 세균이 존재하여 구취 및 임플란트 주위염의 원인이 될 수 있다. 따라서 임상에서 임플란트의 장기적인 성공률을 높이기 위해서 이러한 세균의 침투를 가능한 최소로 할 수 있는 여러 방안이 필요하리라 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. Volker K, Georg C. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12:527-540.
2. Steinebrunner L, Wolfart S. In vitro Evaluation of Bacterial Leakage Along the Implant-Abutment Interface of Different Implant Systems. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:875-881.
3. Gross M, Abramovich I, Weiss E. Microleakage at the abutment-implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:94-100.
4. Quirynen M, Bollen CML, Eyssen H. Microbial penetration along the implant components of the Branemark system. An in vitro study. *Clin Oral Impl Res* 1994;5: 239-244.
5. Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. Soft tissue response to plaque formation at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Impl Res* 1998;9:73-79.
6. Mombelli A, Van Oosten M. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiology and Immunology* 1987;2:145-151.
7. Brogginini N, McManus LM, Hermann JS. Persistent acute inflammation at the implant-abutment interface. *J Dent Res* 2003;82(3):232-237.
8. Binon PP. The effect of implant/abutment hexagonal misfit on screw joint stability. *Int J Prosthodont* 1996;9:149-160.
9. Quirynen M, Van Steenberghe D. Bacterial colonisation of the interanal part of two-stage implants. An in vivo study. *Clinical Oral Implants Research* 1993;4:158-161.
10. Lim HH, Yoo SY, Kim KW, Kook JK. Frequency of species and biotypes of mutans streptococci isolated from dental plaque in the adolescents and

- adults. *J Bacteriol Virol* 2005;35:197-201.
11. Lee SE, Kim SY, Kim SJ Rhee JH. Direct identification of *Vibrio vulnificus* in clinical specimens by nested PCR. *J Clin Microbiol* 1998;36:2887-2892.
  12. Ashmito A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiology and Immunology* 1996;11:266-273.
  13. Stubbs S, Park SF, Bishop PA, Lewis MA. Direct detection of *Prevotella intermedia* and *P. nigrescens* in suppurative oral infection by amplification of 16S rRNA gene. *J Med Microbiol* 1999;48:1017-1022.
  14. Grossi SG, Genco RJ, Machtei EE, Ho AW, Koch G, Dunfore R, Zambon JJ, Hausmann E. Assessment of risk for periodontal disease II Risk indicators for alveolar bone loss. *J Periodontol* 1995;66:23-29.
  15. Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE, Norderyd OM Genco RJ. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol* 1994;65:260-267.
  16. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000;27:648-657.
  17. Gersdorf H, Meissner A, Pelz K, Krekeler G, Gobel UB. Identification of *Bacteroides forsythus* in subgingival plaque from patients with advanced periodontitis. *J Clin Microbiol* 1993;31:941-946.
  18. Holt SC, Bramanti TE. Factors in virulence expression and their role in periodontal disease pathogenesis. *Crit Rev Oral Biol* 1991;2:177-281.
  19. Saito T, Ishihara K, Kato T, Okuda K. Cloning, expression and sequencing of a protease gene from *Bacteroides forsythus* ATCC 43037 in *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1997;65:4888-4891.
  20. Okamoto M, Maeda N, Kondo K, Leung KP. Hemolytic and hemagglutinating activities of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *FEMS Microbiol Lett* 1999;178:299-304.
  21. Leung KP, Folk SP. Effects of porphyrins and inorganic ion on the growth

- of *Prevotella intermedia*. *FEMS Microbiol Lett* 2002;209:15-21.
22. Hakkarainen K, Asikainen S, Ainamo J. A 7-month study of sulcular fluid flow in the assessment of healing after debridement of deep pockets. *J Periodontol* 1986;57:14-19.
  23. Lang NP, Joss A, Orsanic T, Gusberti FA, Siegrist BE. Bleedin on probing. A predictor for the progression of periodontal disease?. *J Clin Periodontol* 1986;590-596.
  24. Kook JK, Sakamoto T, Nishi K, Kim MK, Seong JH, Son YN, Kim DK. Detection of *Tannerella forsythia* and/or *Prevotella intermedia* Might be useful for microbial predictive markers fot the outcome of initial periodontal treatment in Koreans. *Microbiol Immunol* 2005;49:9-16.
  25. Jansen VK, Conrads G, Richter EJ. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997; 12:527-540.
  26. Dixon DL, Breeding LC, Sadler JP, Mckay ML. Comparison of screw loosening, rotation, and deflection among three implant designs. *J Prosthet Dent* 1995;74:270-278.
  27. Besimo D, Bodenschatz V, Guggenheim R, Hassell T. Marginal fit of prefabricated crowns of the Ha-Ti implant system:An in vitro scanning electron microscopic study. *Int J Prosthodont* 1996;9:87-94.
  28. Rangert B, Gunne J, Sullivan DY. Mechanical aspects of a Branemark implant connected to a natural tooth: An in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1991;6:177-186.

### 저작물 이용 허락서

학 과	치의학과	학 번		과 정	박사
성 명	한글: 한명주      한문 : 한명주      영문 : Han, Meung-Ju				
주 소	광주광역시 광산구 월곡동 683-9 3층 수석부부치과				
연락처			E-MAIL	occlusion@lycos.co.kr	
논문제목	한글 : 구강내 임플란트-지대주 연결부에서 치주질환관련 세균의 검출 영문 : Detection of the periodontal disease related bacteria from the implant-abutment interface in oral cavity				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다                    음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

**동의여부 : 동의( ○ )    반대(    )**

2007년      2월      일

저작자:    한 명 주      (서명 또는 인)

**조선대학교 총장 귀하**