

# 임플란트 표면에 따른 인공치면세균막 형성에 관한 연구

김진우 · 한세진 · 김경욱

단국대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

**Abstract** (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2008;34:325-340)

## THE STUDY OF THE DENTAL PLAQUE FORMATION ON DIFFERENT IMPLANT SURFACES

Jin-Woo Kim, Se-Jin Han, Kyung-Wook Kim

*Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Dankook University*

The purpose of this study was to evaluate the artificial dental plaque by *Streptococcus mutans* on 4 different implant surfaces. In this study, the specimens were divided into 4 groups according to implant surface treatment. Uncoated implant group(n=5) which has an uncoated, smooth surfaced implant(Osstem, Korea), SLA implant group(n=5) which has an sandblasted large grit and acid-etched surface implant(Bicon, USA). Oxidized implant group(n=5) which has an oxidized surfaced implant (Osstem, Korea), and RBM implant group(n=5) which has resorbable blasting media(RBM) surfaced implant(Osstem, Korea). Acquired pellicle by human saliva and dental plaque by *Streptococcus mutans* were made on each implant surface. To analyze the plaque condition on implants surfaces, cell count and optical density were taken as a microbiologic method, and SEM(Scanning Electronic Microscope) findings was also taken for evaluation of surface condition. The following results were obtained.

1. Cell counting results of artificial dental plaque were Uncoated group( $658.0 \pm 102.0$ ), RBM group( $878.0 \pm 170.0$ ), SLA group ( $946.0 \pm 42.0$ ), Oxidized group( $992.0 \pm 40.0$ ), and there was difference between Oxidized group and Uncoated implant group( $p < 0.05$ ). In case of modified cell counting results by v/w% were RBM group( $197.8 \pm 45.2$ ), Oxidized group( $207.04 \pm 8.34$ ), Uncoated group( $261.6 \pm 40.6$ ), SLA group( $315.4 \pm 14.0$ ), and there was difference between RBM group and SLA group( $p < 0.05$ ).
2. Optical density results of artificial dental plaque after ultrasonic treatment was that there was difference among groups, and optical density of RBM group was higher than that of Uncoated group( $p < 0.05$ ). In case of modified optical density results by v/w%, there was difference among groups, and the modified optical density of Uncoated group and SLA group was higher than those of Oxidized group and RBM group( $P > 0.05$ ).
3. SEM findings of artificial dental plaque on the surfaces of implant as follows; there were artificial dental plaque on the surfaces of all test implants. *Streptococcus mutans* and by-product were observed at 10,000 times magnified condition on all test implants. Adhesion area of artificial dental plaque was about 1/2 of total surface after 24 hours incubate at 37°C.

These results showed that there were differences among implant surfaces on the growth of *Streptococcus mutans*, and bacteria and by-product were covered about 1/2 area of total implant surfaces at 24 hours incubate at 37°C.

**Key words:** Artificial dental plaque, *Streptococcus mutans*, Implant surface

## I. 서 론

임플란트는 자연 치아를 대체할만한 높은 임상적 성공률과 예측 가능성을 보이며, 저작을 비롯한 구강기능 회복에 유용

하다<sup>1-3</sup>. 이러한 임플란트의 장기적인 성공을 위한 요건은 시술 시의 정확함과 감염관리도 중요하지만 시술 후 임플란트의 표면을 깨끗한 상태로 유지하는 것이 중요하다<sup>4,5</sup>. 임플란트 표면의 구강 내 노출로 인한 치면세균막의 축적은 임플란트 표면을 오염시키고, 임플란트 주위 조직의 지지 기능을 약화시킬 수 있다<sup>6</sup>.

이와 관련하여 임플란트 시술 초기에는 장기적 성공을 위해 수술과정의 중요성이 강조되었으나, 최근에는 시술과정 뿐만 아니라 전문가에 의한 관리 및 환자의 자가 관리 노력이 장기적 성공을 위한 두 가지 주요 요인으로 인식되고 있다<sup>7,8</sup>. 이러한 관리가 제대로 되지 못할 경우 세균적인 원인<sup>9,10</sup> 또는 생역

### 김 경 욱

330-716 충남 천안시 안서동 29

단국대학교 치과대학 부속병원 구강외과

### Kyung-Wook Kim

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Dankook University,

29 Amseodong, Choeran, Chungnam, 330-716, Korea

Tel: 82-41-550-1994 Fax: 82-41-551-8988

E-mail: kkwoms@dku.edu

학적 원인 및 보철물에 의한 교합적 과부하<sup>12,13</sup>)로 인해 임플란트 주위 부착 상실, 지속적인 골의 흡수로 인한 임플란트 주위 치주염 등이 발생할 수 있고, 결국 임플란트 치료 자체가 실패할 수 있다.

특히 세균 원인에 의한 실패와 관련하여 세균의 부착 및 집락화는 생체재료와 관련된 병적인 감염에 중요한 역할을 하는 것으로 고려되고 있다<sup>14</sup>). 구강내로 노출된 특수 처리된 임플란트 표면은 치면세균막을 형성하는 주요 세균들이 쉽게 자리잡는 환경을 제공한다. 이 세균들은 치아에 있어서도 치아 표면에 부착된 타액성 획득피막(이하 펠리클) 위에 부착하여 치면세균막을 형성하는 것으로 알려져 왔다<sup>15</sup>). 임상에서 치에서 서로 다른 종류의 임플란트 재료들을 위치시킨 후 구강내 세균의 부착상태를 평가하였을 때, 치아에서와 유사하게 *streptococci* 가 지배적인 집락형성균으로 나타났고, 이러한 집락화는 임플란트 표면 처리 상태에 따라 영향을 받는 것으로 보고되었다<sup>16</sup>). 이러한 *streptococci* 균들의 집락화로 인한 치면세균막의 축적은 치은변연과 치은하방으로 진행됨에 따라 *Actinomyces* 균과 혐기성 세균인 *Porphyromonas gingivalis* 같은 세균의 수가 증가하게 되며, 이러한 세균들로 인해 임플란트 주위에 치주질환을 유발하여 임플란트의 실패를 가져올 가능성이 있다<sup>17</sup>). 따라서 초기 치면세균막 형성의 주요세균인 *streptococci* 균들의 부착에 대한 연구는 임플란트의 성공을 위한 효과적인 관리방법의 고려를 위해 매우 중요하다. 이와 관련하여 최근에 임플란트 표면의 세균 부착과 관련하여 타액성 단백질의 성분이 타이타늄 임플란트 표면에 침착되는 미생물 군의 조절에 중요한 역할을 가지고 있다고 보고되었다<sup>18</sup>). 따라서 임플란트 표면의 차이에 따른 *streptococci*균의 활성화와 부착상태를 조사하기 위해서는 타액성 단백질을 같은 상태로 조절한 후 균을 접종하여 표면의 차이에 따른 영향만을 살펴볼 필요가 있다고 생각되었다. 또한 현재 임플란트 개발이 국내에서도 활발하게 이루어지고 있고 점차 국산 임플란트의 사용량이 증가함에 따라 국산 임플란트의 표면에 대한 연구의 필요성이 증가하고 있는 상태이다. 그러나 지금까지의 연구는 임상적인 평가와 표면의 처리에 관한 내용이 주로 보고되어 왔으나<sup>19,21</sup>) 앞으로는 시술된 임플란트의 구강위생관리를 위한 기초적인 연구도 필요할 것으로 생각되었다. 이러한 상황에서 국산 임플란트의 표면에 타액성 단백질을 조절한 상태에서 *Streptococcus mutans*

를 이용하여 치면세균막을 인공적으로 형성하여 그 부착양상을 평가하는 것은 임플란트의 구강내 노출시 초기 치면세균막 부착양상을 예측하여 적절한 구강위생관리방법을 모색하는데 도움이 될 것으로 생각되었다.

이에 본 연구의 목적은 임플란트의 구강내 노출시 초기 치면세균막 부착양상을 예측하여 적절한 구강위생관리방법을 모색하는데 기초자료를 얻기 위해 각기 다른 표면처리 상태를 가지고 있는 4종류의 임플란트를 선정하여 같은 타액단백질 성분에 의해 펠리클을 형성한 후 *Streptococcus mutans*균을 접종하고 24시간동안 배양하여 형성된 인공치면세균막의 상태를 평가하고 세균의 임플란트 표면부착양상을 주사전자현미경을 이용하여 관찰하고자 하였다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

#### 1) 실험시편

실험 재료는 표면처리 방법이 다른 4종의 임플란트를 선택하여 사용하였으며, 임플란트 표면처리 방법에 따라 다음과 같이 4개군으로 분류하였다. 아무런 처리도 하지 않은 순수 타이타늄 절삭면을 가진 Uncoated implant군(Osstem, Korea)와 SLA(Sandblasted large grit and acid-etched)로 표면 처리된 SLA implant군(Bicon, Inc. USA), 산화처리된 표면을 갖는 Oxidized implant군(Osstem, Korea), 수산화인회석으로 표면 처리한 (Resorbable blasting media: 이하 RBM) RBM implant군(Osstem, Korea)의 총 4개군으로 분류하였고 각 군당 5개의 임플란트를 실험 시편으로 사용하였다(Table 1).

#### 2) 공시균주

실험에 사용한 균주는 *Streptococcus mutans* Ingbritt(이하 *S. mutans*)를 사용하였다.

### 2. 연구방법

#### 1) 실험시편의 무게 및 부피의 측정

실험시편의 기본적 특성을 파악하기 위해 전자저울(GB204,

**Table 1.** Characteristics of Each Group's Implants

Groups	Manufacturers	Diameter(mm)	Length(mm)	Surface
Uncoated	Osstem, Korea	4	6	Smooth
SLA	Bicon, USA	4	8	Uncoated
Oxidized	Osstem, Korea	4	10	Oxidized
RBM	Osstem, Korea	4	10	All RBM

**Table 2.** Weight and Volume/Weight of Each Group's Implants

Groups	N	weight(mg)	volume/weight(%)
Uncoated	3	162.08±0.47	2.52±0.08
SLA	3	198.02±4.18	3.00±0.09
Oxidized	3	317.63±0.70	4.79±0.25
RBM	3	298.16±0.32	4.64±0.11

Mettler-Toledo, Switzerland)을 이용하여 각 시편의 무게를 측정하였고 각 시편의 부피 차이에 의한 세균 수 부착차이를 보정해 주기 위해 시편의 v/w%를 측정하였다(Table 2).

2) 인공치면세균막 형성

먼저 27.5 g의 TSB 분말과 2.5 g 포도당을 1 리터의 증류수에 용해시켜 0.25% glucose가 함유된 액상배지(Trypticase soy broth w/o dextrose, Difco, USA) 용액을 제조하였다. 용액을 가압멸균 소독기로 121°C에서 15분간 멸균소독하여 세균배양용 배지를 준비하였다.

다음으로 최근 3개월 이내에 약을 복용한 적이 없는 건강한 20대 성인 한명을 대상으로 실험의 내용을 설명하고 동의를 얻은 후, 파라핀 왁스를 저작하도록 하여 분비된 타액을 modified Carson-Crittenden cup을 stensen's duct의 입구에 놓아 채취하였다. 타액은 향후 펠리클을 형성하기 위하여 준비하였다. 채취한 타액은 4°C에서 8,000rpm으로 30분동안 원심분리한 후 상등액을 취하여 일회용 멸균용 여과용기로(Nalgene®, 0.22 µm milipore, USA)로 여과하여 멸균후 사용하였다. 에틸렌 가스로 소독한 시편을 멸균 타액에 넣고 24시간동안 교반하여 시편 표면에 세균 접종을 위한 펠리클을 형성하였다. 사용한 타액은 12 시간 간격으로 2회 교환하여 주었다.

또한 *S. mutans* 균을 준비해 둔 멸균소독한 0.25% 포도당이 함유된 세균배양용 배지에서 37°C, 12시간 간격으로 3차 계대 배양한 후, 10% 설탕이 함유된 TSB 배지에 배양된 세균을 접종하였다. 그리고 여기에 펠리클이 형성된 임플란트 시편을 넣은 후 저류상태가 되도록 교반기 (Orbital shaker-sh30, Fine PCR, Korea)를 사용해서 좌우에서 가볍게 상하로 움직여 주었다. 총 24시간을 배양하여 실험에 사용하였다.

3) 임플란트 표면의 생균수 측정

(1) 세균 배양을 위한 배지제조

Mitis Salivarius agar(Difco®, USA)에 20%의 자당을 첨가하여 121°C에서 15분간 멸균한 후 50~60°C가 되었을 때 0.2 unit/ml의 bacitracin을 첨가하여 평판접시에 배지 20ml씩을 분배하여 clean bench에서 식혀 준비하였다.

(2) 세균 배양과정과 세균 집락수 조사

24시간 배양된 임플란트 표면의 치면세균막의 *S. mutans*의 상태를 알아보기 위해 각 임플란트 시편을 한 개씩 TSB 용액이 담긴 시험관에 나누어 넣은 후 약 2초간 voltex mixer를 이용하

여 균질화시킨 후 10단계 희석법을 이용하여 만든 희석액을 이미 제작해 놓은 배지에 도말하였다. 세균을 72시간 이상 충분히 5% CO<sub>2</sub>배양기에서 배양한 후 colony counter를 이용하여 성장한 균 집락의 수를 측정하였다.

4) 초음파 처리 전후의 차이를 통한 임플란트 표면의 세균 부착상태 평가

인공치면세균막에 부착된 세균의 정도를 알아보기 위해 먼저 인공치면세균막이 형성된 임플란트 시편을 한 개씩 TSB 용액이 담긴 시험관에 나누어 넣은 후 초음파 처리전 광학밀도(optical density:이하 흡광도 또는 OD) 상태를 µQuant™ Microplate Spectrophotometer(Bio Tek Instruments, Inc. USA)를 이용하여 측정하였다. 다음으로 초음파 세척기(BIO Sonic UC 300, Coltene, whale dent Inc, Swiss)를 이용하여 5초 동안 세균을 떨어낸 다음 다시 OD 값을 측정하였고 이러한 과정을 3번 더 시행하여 20 초 동안 4번의 OD를 측정하였다.

5) 주사전자현미경 (Scanning Electron Microscope) 관찰

(1) 임플란트 표면의 정상 조건 관찰

인공치면세균막을 형성하지 않은 정상 표면의 임플란트 시편들을 각각 접착테이프를 이용하여 시료대 위에 고정하고 E-1030 ion sputter(OIE-6177, Hitachi, Japan)를 이용하여 0.1 Torr 진공상태에서 4분간 백금으로 피복시킨 후 주사전자현미경(FE-SEM, S-4700, Hitachi, Japan)을 이용하여 전체적인 관찰을 위해 30배, 100배, 좀더 세부적인 내용을 보기 위해 500배, 2000배 그리고 특징적인 소견을 보기위해 10,000배와 50,000배의 비율에서 관찰을 시행하였다.

(2) 임플란트 표면의 인공치면세균막 형성 조건 관찰

인공치면세균막이 24시간 동안 표면에 형성된 임플란트 시편들을 고정, 건조시켰다. 충분히 건조시킨 시편들을 각각 접착테이프를 이용하여 시료대 위에 고정하고 5)-(1)에서와 같은 방법으로 관찰을 시행하였다.

6) 자료분석

Window용 SPSS 12.0(SPSS Inc., USA)를 사용하여 인공치면막 세균의 상태를 알아보기 위한 생균수 측정값은 원래의 측정값과 임플란트 부피차이를 고려한 보정값 두가지 모두를 이용하여 구간 일원분산분석을 시행하여 구간 차이를 비교분석하였다. 또한 초음파 처리 전후의 차이를 통한 임플란트 표면의 세

균 부착상태 평가를 위해 측정된 OD값 변화 역시 원래 측정값과 보정값 모두를 가지고 각 경우의 균간 부착정도의 차이를 알아보기 위해 반복측정 분산분석을 이용하였다. 각 임플란트 표면의 정상소견과 *S. mutans*균의 인공치면세균막 형성 소견은 주사전자현미경을 관찰하여 나타난 양상을 분석하였다.

### III. 연구결과

#### 1. 임플란트 표면의 생균수 측정

인공치면세균막 형성 후 1초 동안 세균을 동일한 진동을 주어 떼어낸 후 10배 희석법으로 배양하여 세균수를 측정할 결과 임플란트의 부피차이를 고려하지 않은 측정값을 사용한 경우에 Uncoated군(658.0±102.0), RBM군(878.0±170.0), SLA군(946.0±42.0), Oxidized군(992.0±40.0) 으로 나타나 Uncoated군보다 Oxidized군이 통계적으로 유의하게 높게 나타났다(p<0.05). 그러나 각 임플란트의 부피차이를 고려하여 측정값을 보정한 경우 세균 수는 RBM군(197.8±45.2), Oxidized군(207.04±8.34), Uncoated군(261.6±40.6), SLA군(315.4±14.0)으로 나타나 RBM군에 비해 SLA군에서 유의하게 높게 나타난 것을 볼 수 있었다(p<0.05)(Table 3).

#### 2. 초음파 처리 전후의 차이를 통한 임플란트 표면의 세균 부착상태 평가

인공치면세균막에 초음파를 5초 간격으로 4번을 처리한 후 세균의 부착정도를 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하여 비교하였을 때 부피를 고려하지 않은 경우 Uncoated군에 비해 RBM군의 흡광도가 통계적으로 유의하게 높게 나타났다(p<0.05)(Table 4).

부피차이를 고려한 경우 Oxidized, RBM군에 비해 Uncoated군, SLA군의 흡광도가 높게 나타나 유의한 차이를 나타냈다(p<0.05)(Table 5).

#### 3. 인공치면세균막이 형성된 임플란트 표면의 주사전자현미경 소견

임플란트 표면의 정상 소견은 임플란트 표면의 경우, Uncoated군의 임플란트 표면에는 아무런 처리도 되어있지 않은 평활한 상태였으며 세균이 없는 상태로 잘 멸균되어 있었다. 2,000배까지는 표면의 양상이 차이가 없이 매끄러워 보였고 사진의 전면에 걸쳐 연마된 선으로 추정되는 일정한 방향으로 만들어진 빗살무늬의 표면양상을 나타냈다(Fig. 1, 3, 5, 7).

**Table 3.** Number of Viable Cells on Surface of Implants

unit: CFU/ml

Groups	N	<i>S. mutans</i> (×10 <sup>3</sup> )*	<i>S. mutans</i> (×10 <sup>3</sup> )/(v/w%)**
Uncoated	3	658.0±102.0 <sup>a</sup>	261.6±40.6 <sup>b</sup>
SLA	3	946.0±42.0 <sup>ab</sup>	315.4±14.0 <sup>b</sup>
Oxidized	3	992.0±40.0 <sup>b</sup>	207.04±8.34 <sup>a</sup>
RBM	3	878.0±170.0 <sup>ab</sup>	197.8±45.2 <sup>a</sup>

측정값: 평균±표준편차로 표기됨

\*, \*\*: 일원분산분석에서 통계적으로 유의하였음 (p<0.05)

<sup>ab</sup>: Tukey HSD 사후 검정에 따라 유의수준 0.05에서 같은 글자인 경우는 군 간에 통계적으로 유의하지 않음을 의미함

**Table 4.** Data of Optical Density

Groups*	N	Time(sec)					
		Control	0	5	10	15	20
Uncoated <sup>a</sup>	3	0.05±0.00	0.09±0.01	0.12±0.02	0.13±0.01	0.14±0.01	0.15±0.01
SLA <sup>ab</sup>	3	0.06±0.00	0.09±0.00	0.14±0.01	0.15±0.01	0.17±0.02	0.18±0.02
Oxidized <sup>ab</sup>	3	0.06±0.00	0.10±0.01	0.15±0.02	0.16±0.02	0.18±0.02	0.19±0.01
RBM <sup>b</sup>	3	0.06±0.00	0.11±0.00	0.15±0.02	0.17±0.02	0.19±0.02	0.19±0.02

측정값: OD를 나타내며 평균±표준편차로 표기됨

\*, \*\*: 반복측정 분산분석에서 통계적으로 유의하였음 (p<0.05)

<sup>ab</sup>: Tukey HSD 사후 검정에 따라 유의수준 0.05에서 같은 글자인 경우는 군 간에 통계적으로 유의하지 않음을 의미함

**Table 5.** Data of Compensated Optical Density

Groups*	N	Time(sec)					
		Control	0	5	10	15	20
Uncoated <sup>a</sup>	3	0.02±0.00	0.03±0.00	0.05±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01	0.06±0.01
SLA <sup>a</sup>	3	0.02±0.00	0.03±0.00	0.05±0.00	0.05±0.00	0.06±0.01	0.06±0.01
Oxidized <sup>b</sup>	3	0.01±0.00	0.02±0.01	0.03±0.00	0.03±0.00	0.04±0.00	0.04±0.00
RBM <sup>b</sup>	3	0.01±0.00	0.02±0.00	0.03±0.00	0.04±0.00	0.04±0.00	0.04±0.00

측정값: OD를 나타내며 평균±표준편차로 표기됨

\*: 반복측정 분산분석에서 통계적으로 유의하였음 (p<0.05)

<sup>ab</sup>: Tukey HSD 사후 검정에 따라 유의수준 0.05에서 같은 글자인 경우는 군 간에 통계적으로 유의하지 않음을 의미함

10,000배 이상에서 표면의 입자들이 둥근 모양으로 나타나는 것을 볼 수 있었다(Fig. 9, 11).

SLA군의 임플란트 표면의 경우, 저배율에서 Uncoated군의 표면에서와 같이 임플란트 표면에는 아무처리도 되어있지 않은 평활한 상태로 보였고 세균이 없는 상태로 잘 멸균되어 있었다(Fig. 13).

100배까지는 표면의 양상이 차이가 없이 매끄럽게 연마된 상태였으나(Fig. 15)

500배 이상에서는 표면의 입자들이 불규칙한 모양으로 나타나기 시작하였다(Fig. 17, 19, 21, 23).

고배율의 소견 상 Uncoated군와는 달리 산호초들이 밀집되어 모여 있는 것과 같은 불규칙한 표면형태를 나타내는 것을 볼 수 있었다. Oxidized군의 임플란트 표면의 경우, 30배에서는 깨끗한 표면양상을 보이며 세균이 없는 상태로 잘 멸균되어 있었다(Fig. 25).

100배에서 약간 거친 표면양상을 나타내고(Fig. 27)

500배에서는 바위에 파개비가 붙어있는 것과 같은 형태가 전반에 걸쳐 나타나고(Fig. 29), 2,000배에서는 표면에 다공성의 구멍이 보이고 커다란 구멍이 있는 부위는 표면에서 솟아올라 있는 양상을 나타내는 것을 볼 수 있었다(Fig. 31).

10,000배 이상에서는 작은 입자들이 보이기는 하지만 부드럽고 고운 입자로 이루어진 양상을 나타내었다(Fig. 33, 35).

RBM군의 임플란트 표면의 경우, 30배에서는 Oxidized군과 마찬가지로 깨끗한 표면양상을 보이며 세균이 없는 상태로 잘 멸균되어 있었다(Fig. 37).

100배와 500배에서 화강암 표면과 같이 약간 거친 표면양상을 나타내고(Fig. 39, 41) 2,000배부터는 나뭇잎이 쌓여있는 것과 같은 표면양상을 나타내고 있다(Fig. 43, 45).

50,000배에서 표면을 살펴보면 좁쌀모양의 수산화인회석 입자들이 표면에 부착되어 있는 양상을 관찰할 수 있었다(Fig. 47).

다음으로 이러한 정상 표면에 인공치면세균막을 형성한 후의 소견을 살펴보면 Uncoated군 임플란트 표면의 경우, 임플란

트 표면 전반에 걸쳐 치면세균막이 형성된 것이 관찰되었으나 전체를 덮고 있지는 않은 상태로 약 1/2정도를 차지하고 있었다(Fig. 2, 4).

치면세균막 부위를 관찰하였을 때 세균과 부산물이 시편 표면을 완전히 덮은 상태였고(Fig. 6) 10,000배 이상의 고배율에서는 *S. mutans*군의 모양을 확인할 수 있었다(Fig. 10, 12).

SLA군 임플란트 표면의 경우, 임플란트 표면 전반에 걸쳐 치면세균막이 형성되어 있었으나 전체를 덮고 있지는 않은 상태로 약 1/2정도를 차지하고 있었다(Fig. 14, 16).

치면세균막 부위를 관찰하였을 때 세균과 부산물이 시편 표면을 완전히 덮은 상태였다(Fig. 18, 20).

10,000배와 50,000배에서 세균이 관찰되었으나 다른 임플란트 시편과 비교할 때 세균보다는 부산물이 더 많은 양상을 보이며 세균이 부산물에 덮인 채로 있는 부위가 많은 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 22, 24).

Oxidized군 임플란트 표면의 경우, 임플란트 표면 전반에 걸쳐 치면세균막이 형성되어 있었으나 전체를 덮고 있지는 않은 상태로 약 1/2정도를 차지하고 있었다(Fig. 26, 28).

2,000배에서 세균이 덮인 부위에서 크기가 큰 구멍의 경우 다공성 양상이 관찰되었으나(Fig. 32) 10,000배로 확대하여 작은 구멍부위를 관찰하여보면 세균덩어리에 의해 입구가 좁아진 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 34).

50,000배의 경우 세균의 형태를 확인할 수 있었으며 부산물도 존재하였으나 세균의 윤곽을 전체적으로 확인할 수 있었다(Fig. 36).

RBM 임플란트 표면의 경우, 임플란트 표면 전반에 걸쳐 치면세균막이 형성되어 있었으나 전체를 덮고 있지는 않은 상태로 약 1/2정도를 차지하고 있었다(Fig. 38, 40).

2,000배에서 세균이 덮인 부위는 나뭇잎모양의 표면 형태와 유사한 양상을 나타내었고(Fig. 44) 10,000배 이상에서 세균과 부산물을 관찰할 수 있었으며(Fig. 46) 50,000배의 경우 세균의 윤곽을 전체적으로 관찰할 수 있었다(Fig. 48).

### Uncoated Implant Group

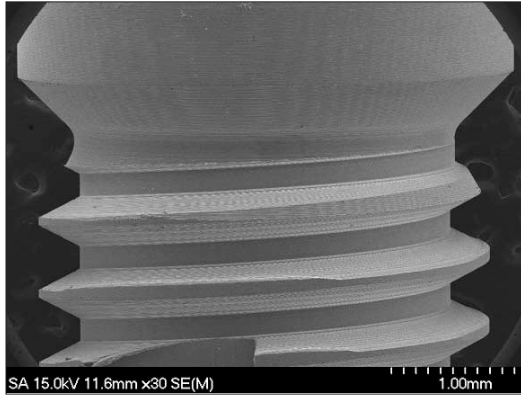


Fig. 1. Normal (×30)

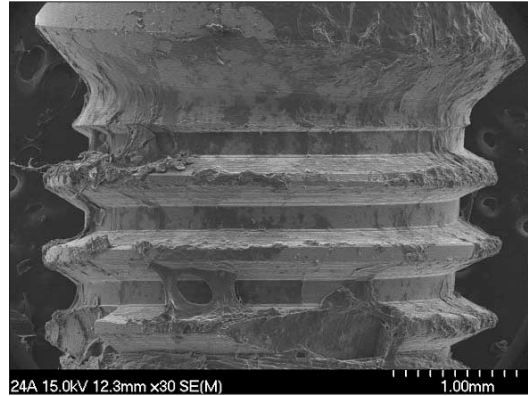


Fig. 2. Dental Plaque (×30)

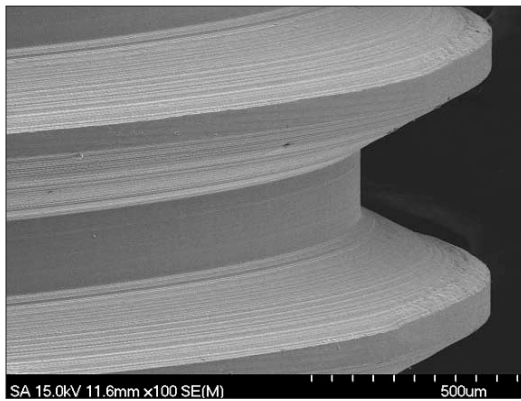


Fig. 3. Normal (×100)

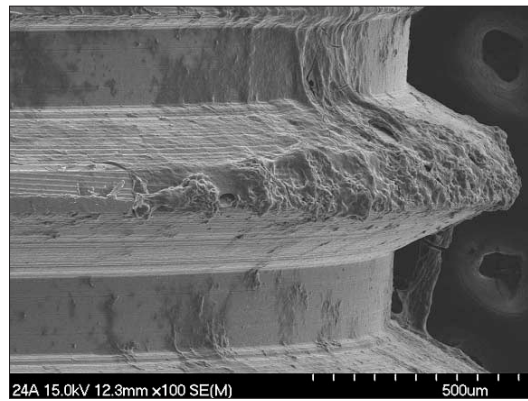


Fig. 4. Dental Plaque (×100)

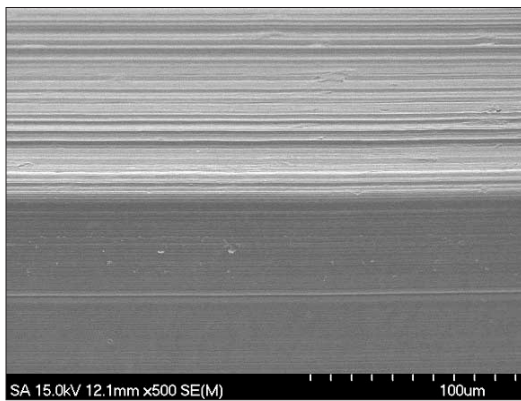


Fig. 5. Normal (×500)

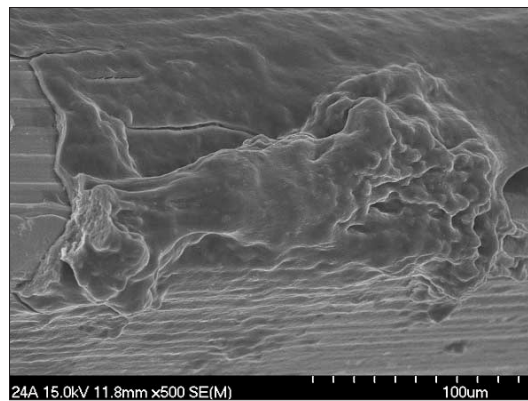


Fig. 6. Dental Plaque (×500)

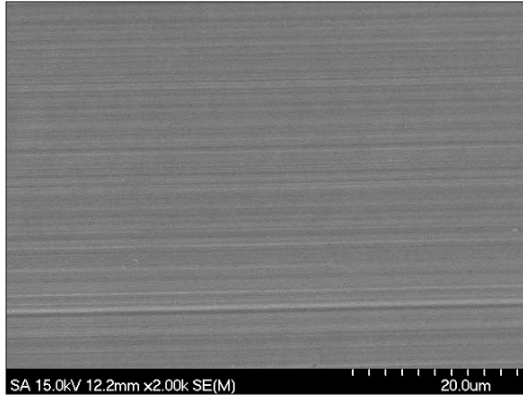


Fig. 7. Normal (×2,000)

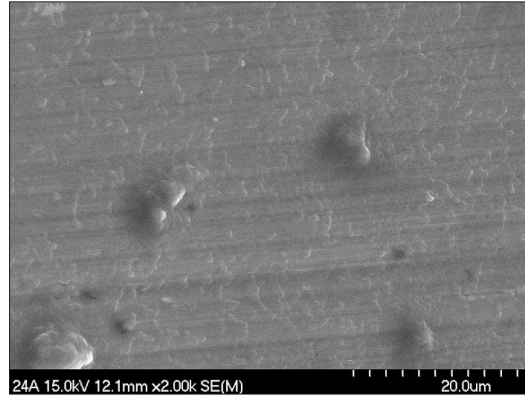


Fig. 8. Dental Plaque (×2,000)

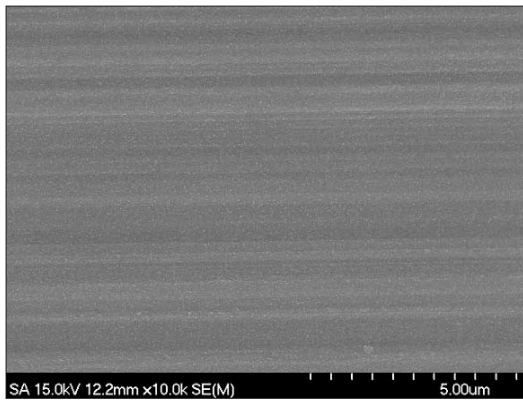


Fig. 9. Normal (×10,000)

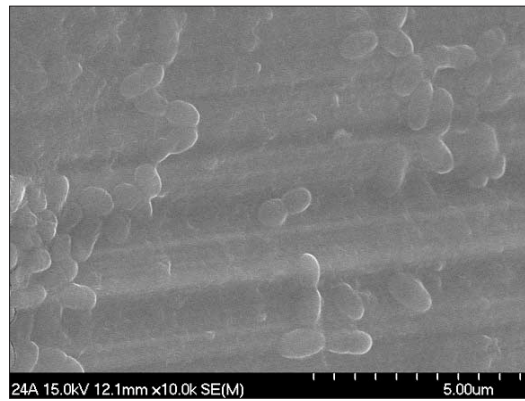


Fig. 10. Dental Plaque (×10,000)

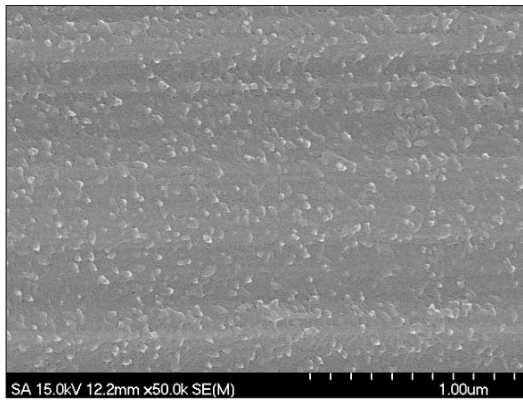


Fig. 11. Normal (×50,000)

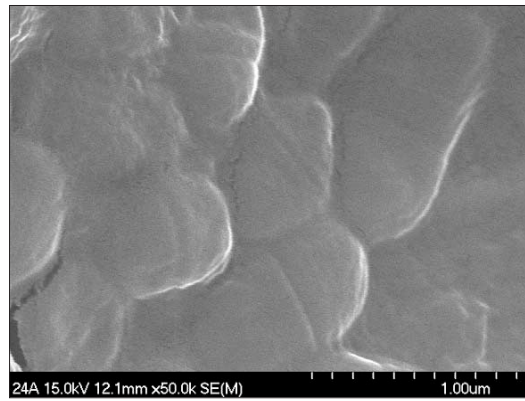


Fig. 12. Dental Plaque (×50,000)

### SLA Implant Group

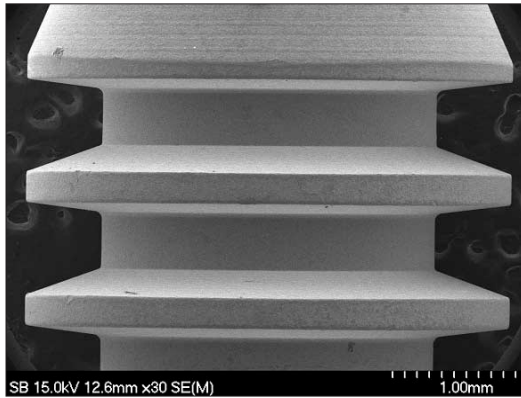


Fig. 13. Normal (×30)

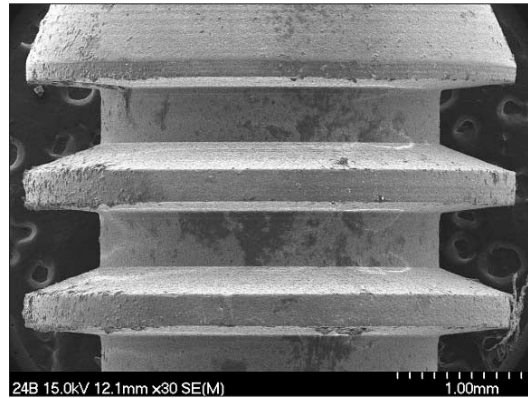


Fig. 14. Dental Plaque (×30)

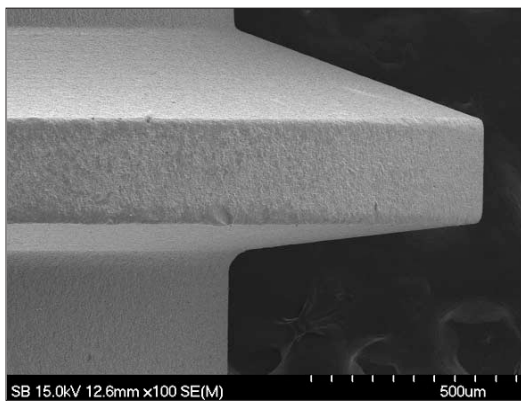


Fig. 15. Normal (×100)

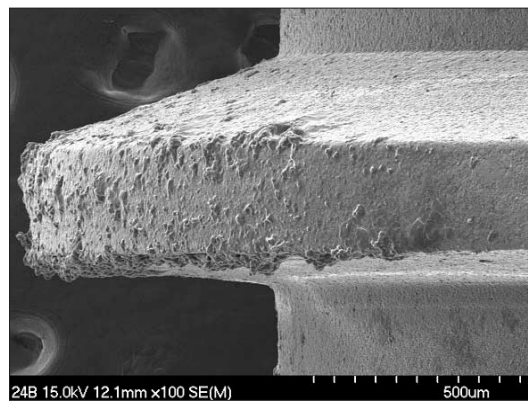


Fig. 16. Dental Plaque (×100)

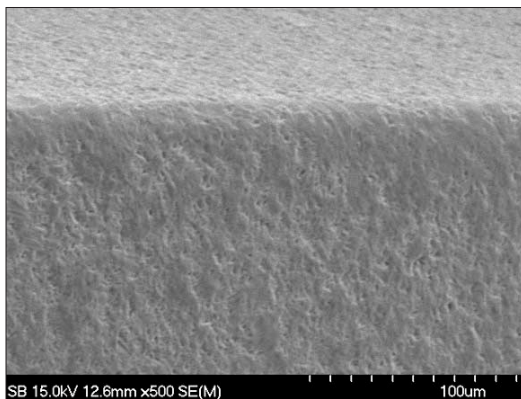


Fig. 17. Normal (×500)

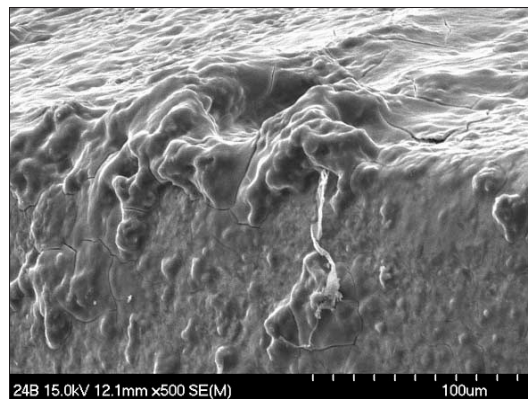


Fig. 18. Dental Plaque (×500)

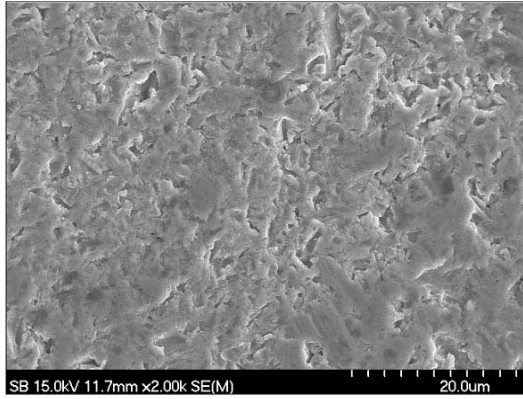


Fig. 19. Normal ( $\times 2,000$ )

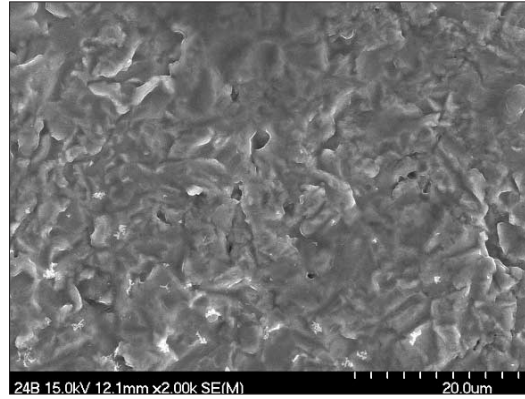


Fig. 20. Dental Plaque ( $\times 2,000$ )

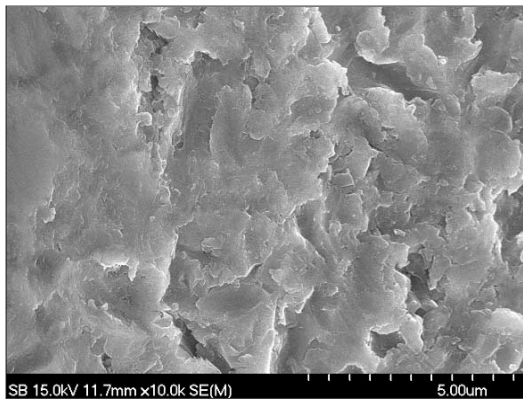


Fig. 21. Normal ( $\times 10,000$ )

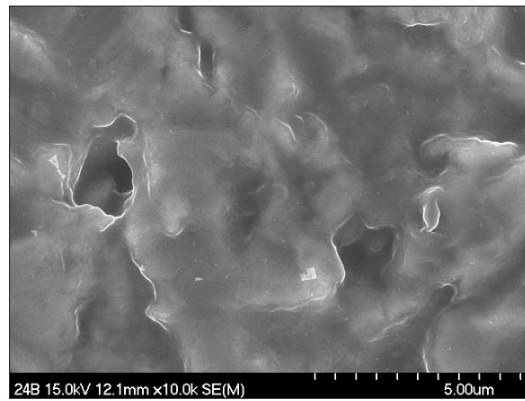


Fig. 22. Dental Plaque ( $\times 10,000$ )

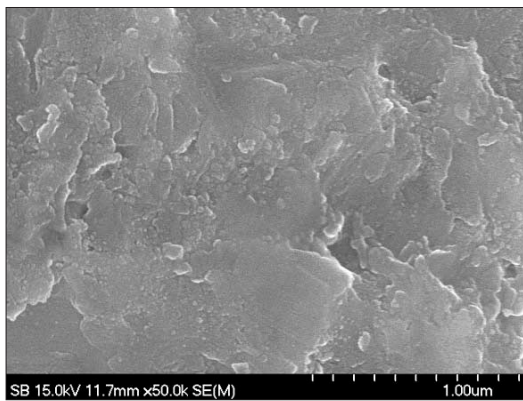


Fig. 23. Normal ( $\times 50,000$ )

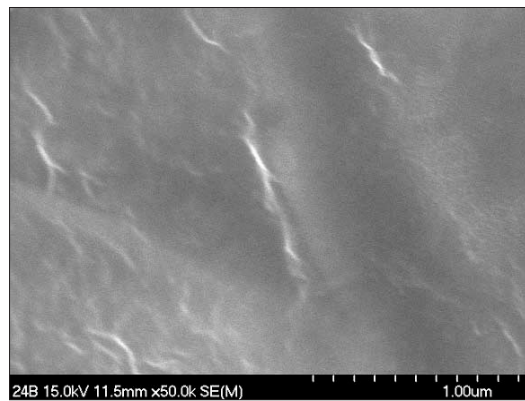


Fig. 24. Dental Plaque ( $\times 50,000$ )

### Oxidized Implant Group

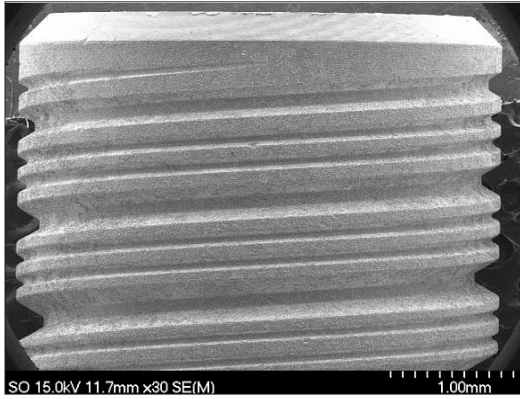


Fig. 25. Normal (×30)

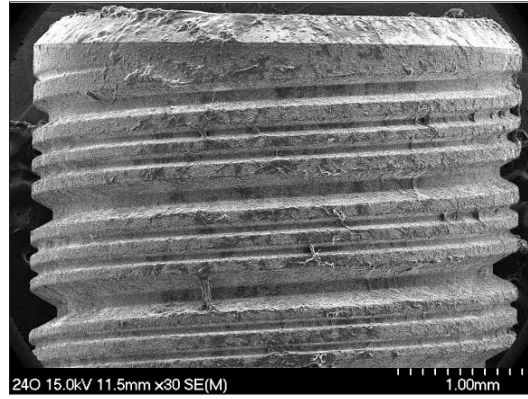


Fig. 26. Dental Plaque (×30)

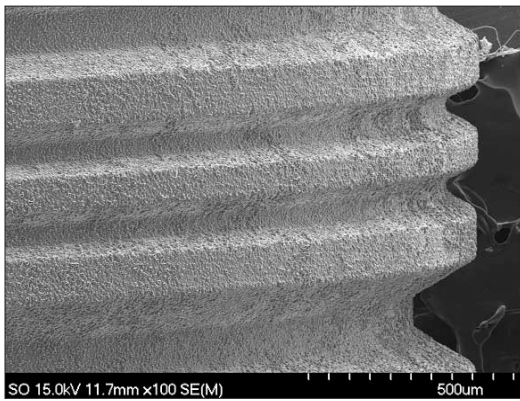


Fig. 27. Normal (×100)

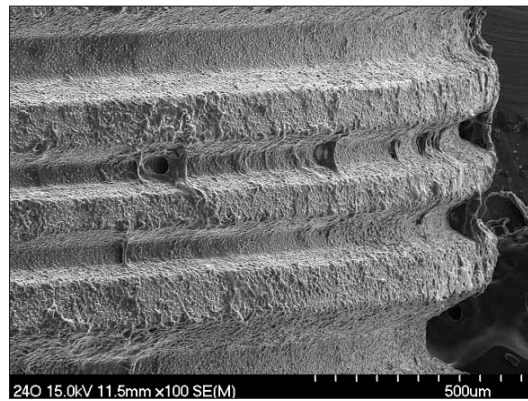


Fig. 28. Dental Plaque (×100)

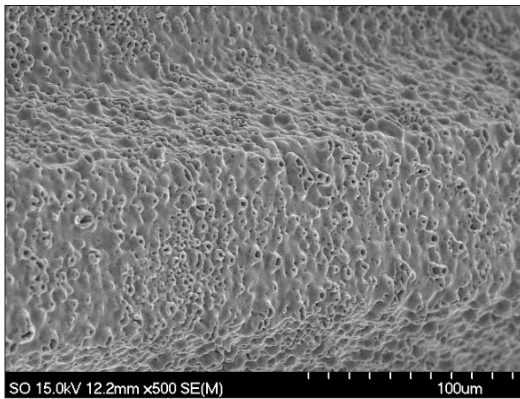


Fig. 29. Normal (×500)

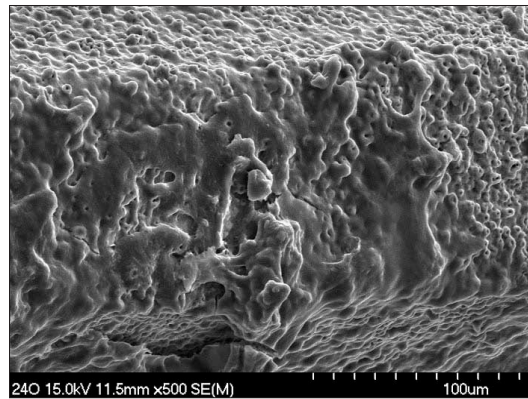


Fig. 30. Dental Plaque (×500)

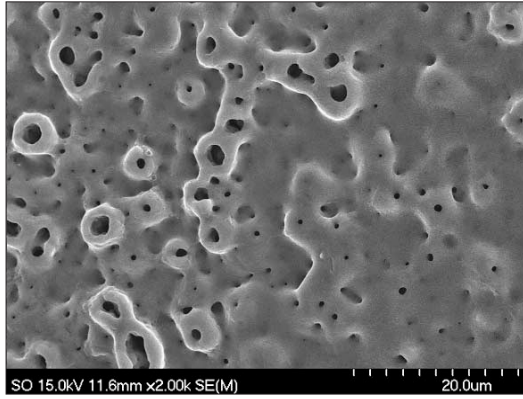


Fig. 31. Normal (×2,000)

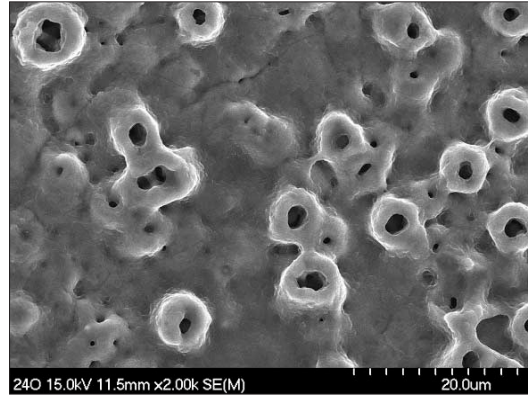


Fig. 32. Dental Plaque (×2,000)

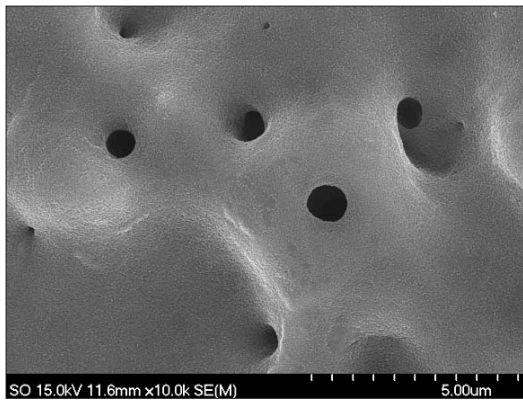


Fig. 33. Normal (×10,000)

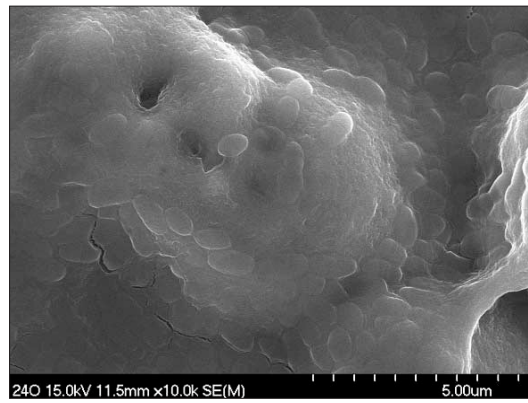


Fig. 34. Dental Plaque (×10,000)

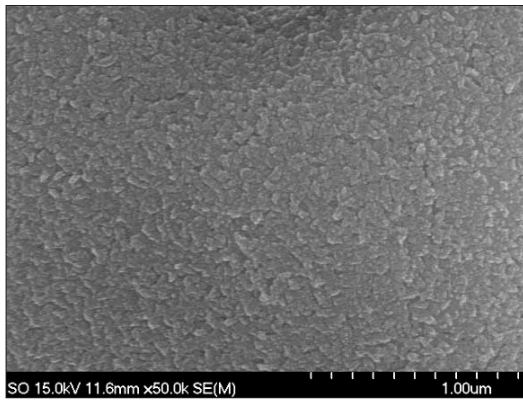


Fig. 35. Normal (×50,000)

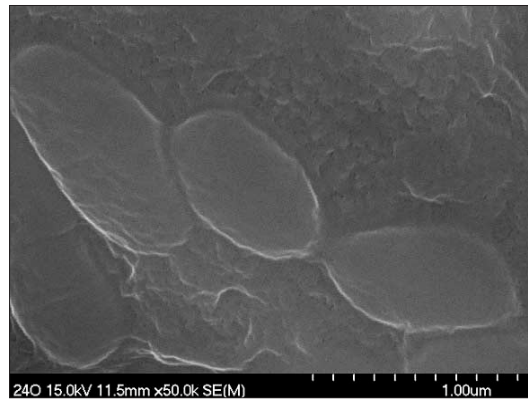


Fig. 36. Dental Plaque (×50,000)

### RBM Implant Group

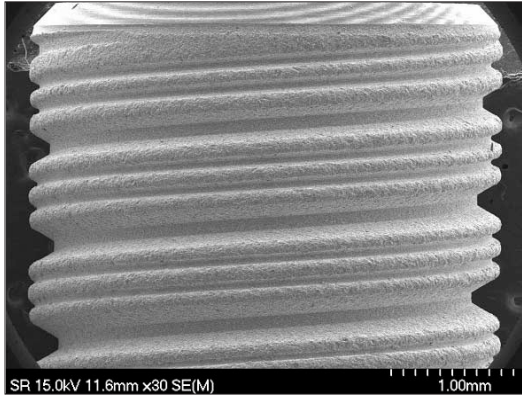


Fig. 37. Normal (×30)

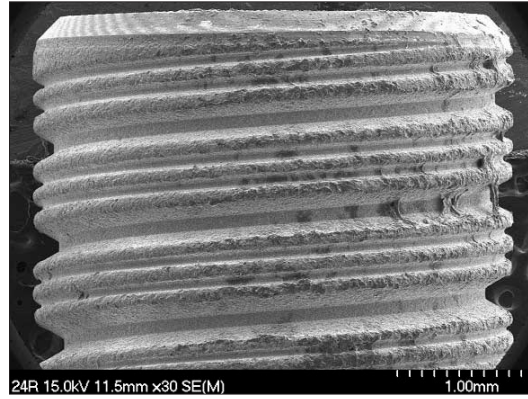


Fig. 38. Dental Plaque (×30)

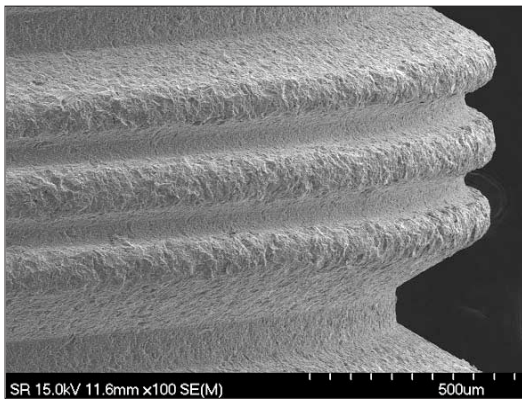


Fig. 39. Normal (×100)

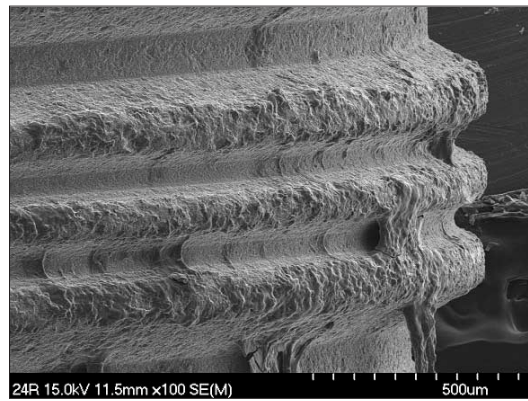


Fig. 40. Dental Plaque (×100)

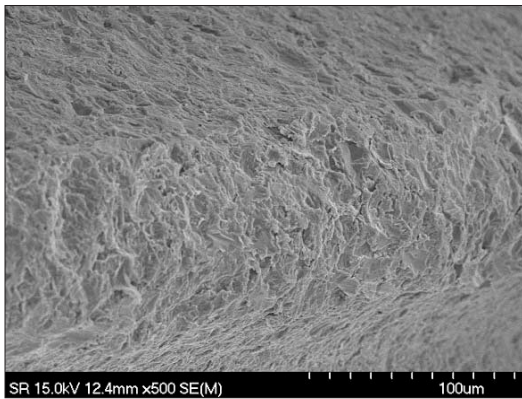


Fig. 41. Normal (×500)

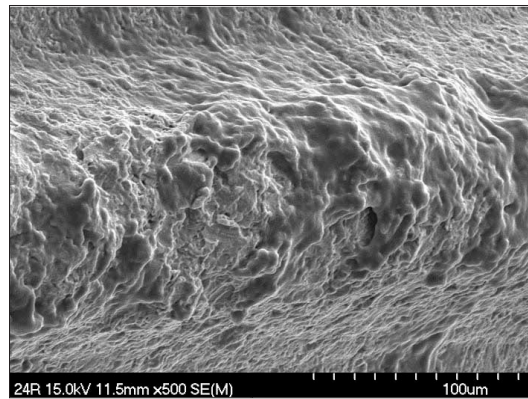


Fig. 42. Dental Plaque (×500)

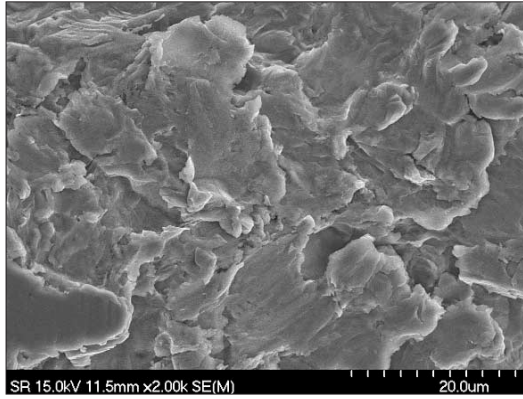


Fig. 43. Normal (×2,000)

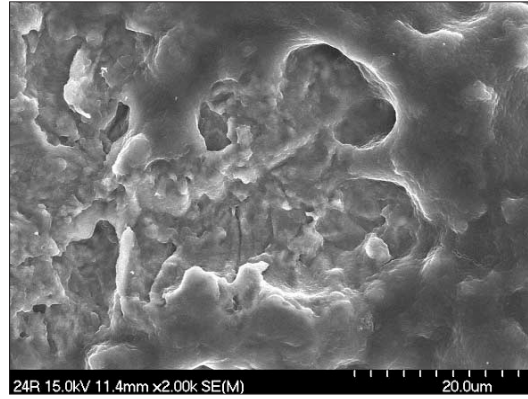


Fig. 44. Dental Plaque (×2,000)

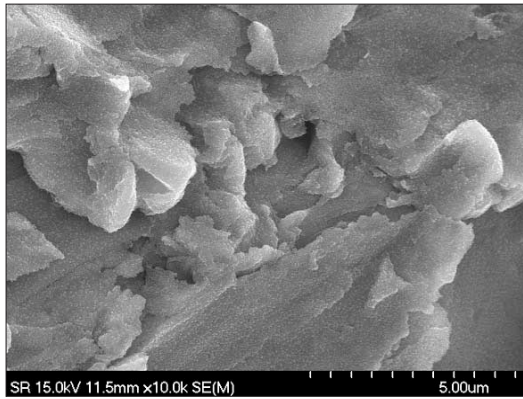


Fig. 45. Normal (×10,000)

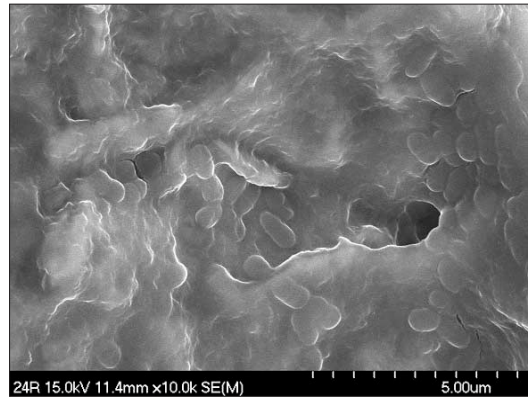


Fig. 46. Dental Plaque (×10,000)

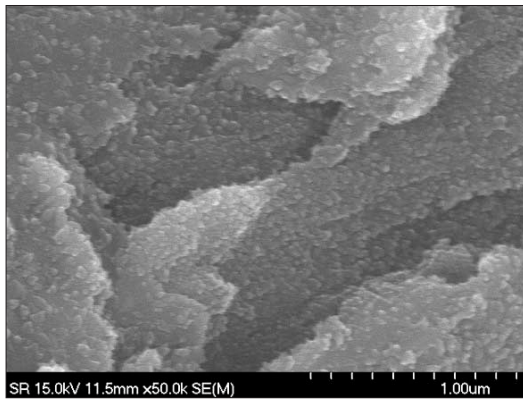


Fig. 47. Normal (×50,000)

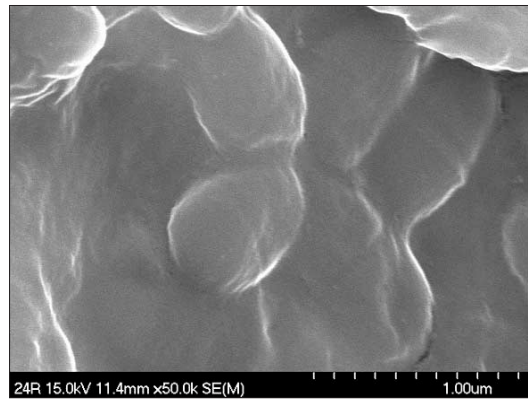


Fig. 48. Dental Plaque (×50,000)

#### IV. 총괄 및 고찰

임플란트의 임상적인 성공은 임플란트 표면의 특성, 외과적 술식, 환자의 골질과 골량, 성공적인 치유과정, 적당한 보철적 수복 및 성공적인 구강 관리 등을 포함한 다양한 요인들에 의해 좌우 된다<sup>22,23</sup>. 임플란트 표면의 특성과 관련하여 표면처리를 한 거친 면의 임플란트와 표면을 처리하지 않은 상업용 순수 타이타늄 절삭면 임플란트를 비교하였을 때, 표면 처리를 한 거친면의 임플란트에서 골형성이 더 좋았다고 보고되었다<sup>24</sup>. 이에 임플란트 표면의 처리를 통해 골유착을 증대시키기 위한 다양한 방법들이 시도되어 왔으며 초기의 평활한 타이타늄 표면과 표면에 산화처리를 하거나 입자를 분사시키는 방법을 이용한 방법들이 사용되고 있다.

현재까지 모든 임플란트 표면처리에 대한 연구는 골유착을 좀 더 증가시키기 위한 방향으로 모색되었다. 하지만 여러 연구들에서 골유착을 위한 임플란트 표면 처리의 변화가 구강내 환경에서 세균성 치태 형성과 성장을 증가시켜 그에 따른 골소실을 야기할 수 있다고 하였다<sup>25,26</sup>.

Nakazato 등<sup>16</sup>은 임플란트 표면의 치태 형성 실험에서 세균의 종류, 타액, 체액 및 임플란트 표면의 물리적 특성들에 따라 치태 형성의 차이가 있다고 하였다. 본 연구는 치태와 관련된 여러 구강내 세균 중, 특히 치면세균막의 초기형성에 중요한 역할을 하는 *S. mutans*균의 부착양상과 부착정도를 알아봄으로써 임플란트 표면에 대한 이해와 추후 적절한 표면 처리방법을 모색하기 위한 기초자료를 얻고자 시행하였다.

세균을 이용한 치면세균막의 형성을 위하여 먼저 임플란트 표면에 펠리클을 형성하였다. 이러한 펠리클은 세균이 부착하게 되는 중요한 물질로서 펠리클을 형성하지 않은 상태로 *S. mutans*를 배양하면 세균은 배양되지만 임플란트 시편 표면에 강하게 부착되지 못하고 쌓여있는 것과 같은 양상을 나타내게 된다. 따라서 구강내에서와 같이 표면에 부착되도록 하기 위해서는 펠리클을 사람의 타액을 이용하여 형성해주는 것이 필요하다.

또한 타액성 단백질의 성분이 미생물의 부착에 영향을 미친다는 보고<sup>18</sup>가 있으므로 본 연구에서는 모든 시편에 같은 타액성 단백질 성분이 부착하도록 동일한 조건 내에서 펠리클을 형성하여 주었다. 24시간 펠리클을 형성한 후 *S. mutans*를 접종하고 24시간 동안 배양하여 인공치면세균막을 형성하였다. 형성된 인공치면세균막의 상태를 평가하기 위해 치면세균막이 형성된 시편에 약 2초 동안 voltex mixer를 이용하여 세균의 일부를 떼어낸 후 10배 희석법으로 배양하여 세균수를 측정하였다. 이것을 통해 세균의 생존여부 및 활성도를 알 수 있는데 임플란트의 부피차이를 고려하지 않은 측정값을 사용한 경우 Uncoated군, RBM군, SLA군, Oxidized군 순으로 나타났고 Uncoated군보다 Oxidized군이 통계적으로 유의하게 높게 나타난 것을 볼 수 있었다. 그러나 여기에서 문제가 될 수 있는 것은 실험에 사용된 임플란트의 크기가 같은 것을 구하려고 했지만 구할 수 없어 다른 크기, 즉 부피를 가진 임플란트 시편들이 사

용되었다는 것이다. 따라서 이것을 보정하여 값을 산출하여 비교할 필요가 있었다. 이를 위해 아르키메데스의 원리를 응용하여 작은 물을 담을 수 있는 실린더 모양의 기구를 만들어 먼저 물을 가득 채운 후 총량을 측정하고 임플란트 시편을 실로 묶어 기구안에 넣어 넘친 물과 임플란트를 제거하고 남은 양을 측정하여 v/w%를 구하여 부피의 차이를 고려한 보정값을 구하여 사용하였다. 이와 같이 각 임플란트의 부피차이를 고려하여 값을 보정한 경우 세균 수는 RBM군, Oxidized군, Uncoated군, SLA군 순으로 나타나 RBM군에 비해 SLA군에서 유의하게 높게 나타나 보정을 하지 않은 경우와 차이가 있는 것을 볼 수 있었다.

Fujioka 등<sup>27</sup>은 임플란트 표면의 *S. mutans*균 부착 양상에 대한 실험에서 그 부착 정도는 임플란트 표면의 접촉각과 표면 자유 에너지와 연관성이 있다고 하였다. 하지만, Nakazato 등<sup>16</sup>은 그런 연관성이 구강 내 타액 및 체액에 의해 임플란트 표면이 덮여지는 상태에서는 크게 작용하지 않는다고 하였다. 따라서 본 실험에서는 임플란트 표면의 형태적 특성만을 비교 대상으로 하여 초음파 처리 전후의 차이를 통한 세균 부착상태를 살펴보았다.

인공치면세균막에 초음파를 5초 간격으로 4번을 처리하여 세균의 부착정도를 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하여 비교하였을 때 부피를 고려하지 않은 경우, 군간 세균 부착 정도에 통계적으로 유의한 차이가 있었고 Uncoated군에 비해 RBM군의 세균수가 통계적으로 유의하게 높게 나타났으나 부피차이를 고려한 경우에 Oxidized군, RBM군에 비해 Uncoated군, SLA군의 세균수가 높게 나타나 유의한 차이를 나타낸 것을 볼 수 있었다. 즉, 세균의 부착을 평가할 때 부피가 미치는 영향을 고려할 필요가 있다고 보여진다. 만일 실험에 사용한 시편을 구강 내에 식립한 후 시편이 구강 내에 노출되어 구강내 세균, 특히 *S. mutans*가 부착하여 치면세균막을 형성한다고 가정하였을 때 본 실험에서와 같이 24시간 동안 형성된 것과 같은 양의 치면세균막이 표면에 부착한다고 생각하면 전체적으로 부착되는 양은 표면 처리된 Oxidized군과 RBM군이 많겠지만 국소적으로 치은과 접촉하는 부위의 단위면적당 부착세균 양은 Uncoated군과 SLA군이 높을 수 있음을 보여준다. 이러한 경우 세균의 부착이 한부위에 밀집되어 치면세균막이 급격히 성장하게 된다면 그 하방에 혐기성 세균이 출현할 수 있는 환경이 조성될 수 있다. 이는 임플란트 주위 치주조직에 염증을 야기할 수 있는 위험성이 높아질 수 있음을 의미한다. 따라서 시편의 크기와 관련하여 부피를 보정한 값을 사용하여 분석에 사용하는 것은 유용한 방법이라고 생각되어진다.

그러나 부피를 보정하지 않은 전체 세균의 부착 양도 고려할 필요가 있는데 이는 시간이 경과하면서 세균이 만들어내는 독소와 같은 부산물들이 증가할 것이기 때문이다. 또한 구강관리의 측면에서 더 넓은 부위를 깨끗하게 처리해야 하는 문제가 있을 수 있으므로 결과 분석 시 두 가지 값을 함께 고려할 필요가 있다고 생각된다.

전자 현미경을 이용하여 임플란트의 표면과 인공치면세균

막 형성 정도를 관찰한 소견에서, 정상적인 임플란트 표면에서는 관찰되지 않던 인공치면세균막이 모든 시편에서 형성된 것이 확인되었다. 또한 형성된 인공치면세균막은 10,000배 이상의 고배율에서 *S. mutans* 균체와 세균의 부산물들로 이루어져 있음을 관찰할 수 있었다.

또한, 24시간 동안 형성된 치면세균막의 부착정도를 살펴보면 실험에 사용된 모든 임플란트 시편의 표면의 약 1/2정도를 치면세균막이 덮고 있는 상태로 관찰되었다. 치면세균막이 형성되지 않은 곳은 펠리클이 형성된 상태지만 정상소견을 나타내는 것을 관찰할 수 있었다. 인공치태부착부위는 임플란트 표면의 오목부분과 볼록 부분 모두에서 유사하게 관찰되었다. 전체적으로 임플란트 표면의 정상소견은 인공치면세균막이 형성됨에 따라 세균과 부산물에 의해 덮혀진 것을 볼 수 있었다.

이상의 생균수와 흡광도의 측정 분석결과와 그리고 주사전 자현미경의 소견을 통해 *S. mutans*을 이용한 인공치면세균막 형성시 임플란트 표면에 따라 부착정도가 차이가 있으며 24시간 배양한 경우 시편에 따라 약 1/2정도의 부위에서 세균과 부산물로 구성된 인공치면세균막을 관찰할 수 있었다. 본 연구의 한계로 생각할 수 있는 것은 실험에 사용된 시편의 크기가 달랐다는 것이다. 시편의 크기가 다른 경우 부착상태와 정도에 영향을 미칠 수 있으므로 처음 실험설계 단계에서는 같은 지름과 높이를 가진 시편을 사용하는 것을 원칙으로 하였으나 실제로 같은 지름과 높이를 가진 다른 종류의 임플란트를 구하기가 어려웠다. 따라서 차선의 방법으로 부피의 차이를 보정한 값을 함께 구하여 분석에 이용하게 되었다. 그러나 같은 지름과 길이를 가진 임플란트를 이용하지 못했기에, 동일한 조건에서 실험을 수행하지 못한 부분은 연구의 한계라고 생각된다.

또한 본 실험에서는 24시간 동안의 인공치면세균막 형성상태만을 관찰하여 비교하였는데 좀더 정확한 치면세균막 형성 과정을 살펴보기 위해서는 치면세균막 초기상태와 진행상태를 함께 비교해 보는 것이 필요할 것으로 생각되었다. 이를 위해 추후 다양한 시간 경과에 따른 치면세균막 형성양상을 연구해 볼 필요가 있다고 생각되며 앞으로 치면세균막 형성과 더불어 임플란트 표면에 따라 형성된 치면세균막을 효과적으로 제거할 수 있는 방법을 연구하는 것도 필요할 것으로 생각되었다.

## V. 결 론

본 논문은 서로 다른 형태의 임플란트 표면에 *S. mutans* 균을 이용하여 인공치면세균막을 형성하였을 때 세균의 부착양상을 알아보기 위한 실험이다. 실험 재료는 임플란트 표면 처리 방법에 따라 4개 군으로 분류하였다. 즉, 아무런 표면 처리도 하지 않은 순수 타이타늄 절삭면을 가진 Uncoated implant군(Osstem, Korea)와 SLA(Sandblasted large grit and acid-etched)로 표면 처리된 SLA implant군(Bicon, Inc. USA), 산화 처리된 표면을

갖는 Oxidized implant군(Osstem, Korea), 그리고 수산화인회석으로 표면 처리한 (Resorbable blasting media: RBM) RBM implant군(Osstem, Korea)의 총 4개 군으로 구성하였고 각 군당 5개의 임플란트를 실험 시편으로 사용하였다. 5개의 시편 가운데 2개는 주사전자현미경을 이용하여 24 시간의 인공치면세균막 형성에 따른 표면상태의 변화를 관찰하고 3개는 *S. mutans* 균을 이용하여 24시간동안 형성된 인공치면세균막의 임플란트 표면에 대한 부착정도 및 부착 세균의 상태를 생균수와 흡광도를 측정 후 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 인공치면세균막 형성 후 생균수를 측정할 결과 임플란트의 부피차이를 고려하지 않은 경우 Uncoated군(658.0±102.0), RBM군(878.0±170.0), SLA군(946.0±42.0), Oxidized군(992.0±40.0)으로 Uncoated군보다 Oxidized군이 통계적으로 유의하게 높게 나타났다(p<0.05). 그러나 각 임플란트의 부피차이를 고려하여 값을 보정한 경우 세균수는 RBM군(197.8±45.2), Oxidized군(207.04±8.34), Uncoated군(261.6±40.6), SLA군(315.4±14.0)으로 나타나 RBM군에 비해 SLA군에서 유의하게 높게 나타난 것을 볼 수 있었다(p<0.05). 즉, 각 임플란트 시편에 부착된 *S. mutans*는 24시간 배양 후 생존하여 활성을 보이며 부착시 임플란트의 부피차이를 함께 고려할 필요가 있는 것으로 나타났다.
2. 인공치면세균막 형성 후 세균의 부착정도를 비교하였을 때 부피를 고려하지 않은 경우, Uncoated군에 비해 RBM군에서 높게 나타나 군간 세균 부착 정도 차이가 통계적으로 유의하였다(p<0.05). 부피차이를 고려한 경우에는 Oxidized군, RBM군에 비해 Uncoated군, SLA군의 흡광도가 높게 나타나 유의한 차이를 나타냈다(p<0.05).
3. 주사전자현미경 소견에서는 모든 시편의 표면에 인공치면세균막이 형성된 것이 확인되었고 형성된 인공치면세균막은 10,000배 이상의 고배율에서 *S. mutans*균과 세균의 부산물들로 이루어져 있음을 관찰할 수 있었다. 24시간 동안 형성된 치면세균막의 부착정도는 모든 실험 임플란트 표면의 일부, 약 1/2정도를 치면세균막이 덮고 있는 상태였으며 정상표면이 함께 관찰되는 상태였다. 임플란트 표면의 나사선을 따라 오목부분과 볼록 부분 모두에서 세균과 부산물이 함께 부착된 것을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과에서 *S. mutans*을 이용한 인공치면세균막 형성시 임플란트 표면에 따라 부착정도가 차이가 있으며 24시간 배양한 경우 시편에 따라 약 1/2정도의 인공치면세균막이 세균과 부산물이 혼재된 형태로 형성됨을 관찰할 수 있었다.

## 참고문헌

1. Finger M, Guerra IR: Prosthetic consideration reconstructive implantology. Dent North Am 1986;30:69-83.
2. Zarb GA, Schmitt A: The longitudinal clinical effectiveness of osseointegrated dental implants. The Toronto study: part I surgical results. J Prosthet Dent 1990;63:451-457.
3. Meffert RM, Langer B, Fritz ME: Dental implant: A review. J Periodontol 1992;63:859-870.

4. Hobo S, Ichida E, Garcia LT : Osseointegration and occlusal rehabilitation. Quintessence Publishing Co., 1989.
5. Albreksson T, Zarb G, Worthington P, et al. : The long-term efficacy of currently used dental implants: A review and prognosis criteria for success. Int J Oral Maxillofac Implants 1986;1:11-25.
6. Lavelle CL: Mucosal seal around end osseous dental implants. Oral Implantol 1981;9:357-371.
7. Silverstein LH, Garg A, Callan D, et al.: The key to success: maintaining the long-term health of implants. Dent Today 1998;17(2):104-108.
8. Silverstein LH, Kurtzman GM: Oral hygiene and maintenance of dental implants. Dent Today 2006;25(3):70-75.
9. Lindhe J, Berglundh T, Ericsson I, et al.: Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. Clin Oral Impl Res 1992;3:9-16.
10. Lang NP, Bragger U, Walther O, et al.: Ligature-induced peri-implant infection in cynomolgus monkey. Clin Oral Impl Res 1993;4:2-11.
11. Shou S, Holmstrup P, Keiding NE: Microbiology of ligature-induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teeth in cynomolgus monkeys(Macaca fascicularis). Clin Oral Impl Res 1996;7:190-200.
12. Isidor E: Loss of osseointegration caused by occlusal load of oral implants. Clin Oral Implants Res 1996;7:143-152.
13. Isidor E: Histological evaluation of peri-implant bone at implants subjected to occlusal overload or plaque accumulation. Clin Oral Implants Res 1997;8:1-9.
14. Gristina AG: Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. Science 1987;237:1588-1595.
15. Gibbons RJ, J. van Houte: Bacterial adherence in oral microbial ecology. Annu Rev Microbiol 1975;29:19-44.
16. Nakazato G, Tsuchiya H, Sato M: *In vivo* plaque formation on implant materials. Int J Oral Maxillofac Implants 1989;4:321-326.
17. Slots J, Rams TE: Microbiology of periodontal disease, p. 425-443. In Slots J, Taubman MA (ed), Contemporary oral microbiology and immunology. Mosby Year Book, St. Louis, Mo 1992.
18. 이승호, 구영, 이용무, et al.: 타이타늄 임플란트 표면에 형성된 타액성 단백질에 관한 생체연구. 대한치주과학회지 2003;33(2):127-137.
19. 이선구, 임성빈, 정진형, et al.: 다양한 구강위생기구를 이용하여 임플란트 표면의 Prophylaxis 시행시 표면형태의 변화분석. 대한치주과학회지 2004;34(1):1-17.
20. 김우영, 이만섭, 박준봉, et al.: 염산테트라사이클린의 적용시간에 따른 임플란트 표면변화에 관한 주사전자현미경적 연구. 대한치주과학회지 2002;32(3):523-537.
21. 송우석, 권영혁, 이만섭, et al.: 구연산의 적용시간에 따른 임플란트 표면변화에 대한 주사전자현미경적 연구. 대한치주과학회지 2002;32(4):697-709.
22. Albreksson T, Zarb G, Worthington P, et al.: The long-term efficacy of currently used dental implants. A review of proposed criteria of success. Int J Oral Maxillofac Implants 1986;1:11-25.
23. Meffert RM: The soft tissue interface in dental implantology. Int J Oral Implantol 1988;5:55-58.
24. Bruser D, Warrer K, Karring T, et al.: Titanium implants with a true periodontal ligament; An alternative to osseointegrated implants? Int J Oral Maxillofac Implants 1990;5:113-116.
25. Hemidahl A, Kondell P, Nord CE, et al.: Effect of insertion of osseointegrated prosthesis on the oral microflora. Swed Dent J 1983;41:199-204.
26. Christersson CE, Fornalik MS, Baier RE, et al.: *In vitro* attachment of oral microorganisms to solid surfaces. Scand J Dent Res 1987;95:151-158.
27. Fijioka HY, Akagawa Y, Minagi S, et al.: Adherence of *streptococcus mutans* to implant materials. J Biomed Mater Res 1987;21:913-920.