

Validity of the New Caries Activity Test using Real-Time Polymerase Chain Reaction

Doyoun Kwon¹, Heejin Kim¹, Okhyung Nam², Misun Kim³, Sungchul Choi², Kwangchul Kim³, Hyoseol Lee²

¹Department of Pediatric Dentistry, Graduate School, Kyung Hee University

²Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Kyung-Hee University

³Department of Pediatric Dentistry, Kyung Hee University Dental Hospital at Gangdong

Abstract

Periogen is a new caries activity test using real-time polymerase chain reaction. The aim of this study was to assess the validity of Periogen by evaluating the correlation with dmft, dmfts indices and comparing with Cariview and caries risk assessment tool (CAT).

83 children under 6 participated in this study. Dmft, dmfts indices and CAT were collected through an examination of oral health status. Plaque samples for Periogen and Cariview were collected and manipulated according to the manufactures' instructions.

The correlation coefficient of Periogen, Cariview and CAT with the dmfts index were 0.38, 0.56 and 0.66 in each ($p < 0.01$). The sensitivity of Periogen, Cariview and CAT were 43%, 76% and 95% and specificity were 80%, 72% and 74% respectively. Area under curve under the receiver operating characteristic curves in each method indicated 0.69, 0.81 and 0.85.

CAT and Cariview were more effective in evaluation the risk of dental caries than Periogen so far. To be used Periogen clinically, more improvements for higher validity were needed.

Key words : Caries activity test, Validity, Periogen, Cariview, Caries risk Assessment Tool, Real-time polymerase chain reaction

I. 서 론

치아우식증에 의한 치질의 파괴는 자연적으로 회복이 불가능하다. 특히 어린이와 청소년의 경우 스스로 구강위생을 관리하는 능력이 성인에 비해 떨어지며, 이 시기의 예방은 일생을 걸쳐서 지속되는 구강건강의 기본이라는 점에서 지속적인 예방, 관리가 더욱 중요하다. 치아우식증은 치아, 치태, 음식 뿐 아니라

여러 가지 인자에 의해 영향을 받는데, 최근 소수의 사람에서 다수의 치아우식증이 발생하는 것으로 보고되고 있다[1]. 따라서 개개인의 우식 위험 정도를 측정하여, 그 위험 정도에 따라 적절한 치료 및 예방적 처치를 적용하는 것이 불특정다수를 대상으로 일률적으로 예방처치를 적용하는 것보다 효과적이며, 비용적인 면에서 또한 효율적이다.

Mutans streptococci (*S. mutans*, *S. sobrinus*)와 *Lactobacilli* 등

Corresponding author : Hyoseol Lee

Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Kyung-Hee University, 26, Kyungheedaero, Dongdaemun-gu, Seoul, 02447, Republic of Korea
Tel: +82-2-958-9363 / Fax: +82-2-966-4572 / E-mail: stberryfield@gmail.com

Received September 19, 2017 / Revised January 12, 2018 / Accepted December 27, 2017

※This research was supported by the Basic Science Research Program of the National Research Foundation of Korea (NRF), funded by the Ministry of Education, Science, and Technology (NRF-2016R1C1B1015005).

이 치아우식증을 유발하고 진행하는데, 관여하는 주요 원인균으로 알려져 있다[2,3]. 기존의 미생물학적 면에 기초하여 개발된 치아우식 위험 검사법은 배양을 통해 원인 균의 집락 수를 세는 방식을 채택하였다. *S. mutans*를 선택적으로 배양하여 평가하는 Dentocult SM[®] 검사법이 이전에 널리 사용되었으며, 이를 개량 발전하여 *S. mutans*와 *Lactobacilli*를 선택적 배양하여 치아우식 위험도를 평가하는 CRT[®] bacteria 검사법 등이 현재 사용되고 있다. 하지만 이런 배양을 통해 집락의 수를 평가하는 방식은 배양을 위한 추가적인 장비와 시간이 필요하다는 점에서 번거롭고, 임상 상황에서 배양 조건을 맞추지 못하거나, 오염 등의 이유로 결과가 정확하게 나오지 않는 문제점이 있었다.

한편 최근 생태학적 치태 가설은 치아의 탈회를 치태의 환경적 특징과 연관지어 설명한다. 치태는 동적인 미생물 생태계로 치태의 환경적 특징인 pH에 따라 미생물이 적응을 하며, 성격과 구성이 바뀐다고 하였다[4,5]. 이를 기반으로 치아우식 원인균의 배양을 통해 집락의 수를 측정하는 방법이 아니라, 치태 내의 미생물의 산 생성 능력을 평가함으로써, 우식 위험도를 평가하는 방식 또한 사용되고 있다. Cariview[®] (AIOBIO, Seoul, Korea)는 치태내 미생물의 산 생성 능력을 평가하는 검사법으로, 치태내 미생물의 선별적인 배양이 아니라 전반적인 배양을 통해 치태 내 미생물이 생성한 유기산의 pH를 측정한다. 또한 지시약을 통한 비색법을 이용하여 색 변화를 관찰함으로써 우식 위험도를 평가하고 있다[6].

세균종에 특이한 primer를 사용한 real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) 방법은 정확하게 특정 미생물을 찾아낼 수 있을 뿐 아니라, 이에 대한 정량적인 분석 역시 가능하다. 이러한 정확한 정량적인 분석을 통해 임상적인 질병 상황을 더 잘 파악하고 예측할 수 있다. 또한 배양을 통해 집락의 수를 평가하는 방식에 비해 번거로움과 오염의 위험을 최소화 할 수 있다는 장점이 있다[7-9].

Periogen[®] (Microis, Seoul, Korea)은 RT-PCR 기술을 응용한 방법으로, 구강 미생물 종합검사 혹은, 치주질환 고위험 미생물 검사를 통해 치주질환의 위험도를 평가하는 방법으로 먼저 사용되었다. 하지만 최근 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacilli*를 RT-PCR 방법을 이용하여 정량적으로 분석함으로써, 치아우식 위험도를 평가하는 검사법으로도 사용되고 있다.

현재 치아우식 위험 검사법으로 Periogen[®]의 유효성에 대한 임상 연구가 아직 없는 상태이다. 또한 치태 내 치아우식 원인균을 정량적으로 측정하는 방법, 치태의 산 생성 능력을 평가하는 방법 그리고 구강검사와 설문지를 통한 임상가의 판단 중, 우식 위험도를 평가하는데 어떤 방법이 더 유효한지에 대해서는 정해진 결론이 없다.

이 연구의 목적은 새로 개발된 우식 위험 검사법인 Periogen[®]의 유효성을 평가하고, 기존의 방법인 Cariview[®], 임상가가 치아우식 위험도를 평가하는 Caries risk Assessment Tool (CAT)과 유효성을 비교해 보는 것이다.

II. 연구 대상 및 방법

이 연구는 경희대학교 치과병원의 임상 연구 윤리 위원회(Institutional Review Board, IRB)의 승인 하에 진행되었다(KHD IRB 1601-5).

1. 연구 대상

2016년 3월부터 2016년 12월까지 경희대학교 치과병원 소아치과에 내원한 만 6세 미만의 소아를 대상으로 하였다. 구강 검사 실시 전에 실험대상자 및 보호자에게 연구에 대해 설명하였으며, 서면으로 동의서 작성 하였다.

2. 연구 방법

1) 구강 검사

숙련된 검사자가 WHO에서 제공된 기준을 사용하여, 시진으로 구강 검사를 하였다. 구강 검사 기록을 바탕으로 치아우식 경험 지수(dmft, dmfts indices)를 구했다.

2) Caries risk Assessment Tool (CAT)

2006년 미국 소아치과 학회에서 채택되었으며, 이후 2010년 개정된 CAT의 한글 번역본이 사용되었다[10]. 간단한 설명 후, 보호자가 각 문항에 대한 답변을 시행하였다(Fig. 1).

3) Periogen[®] 검사

Periogen[®]은 개인의 구강 내 치태를 구성하고 있는 미생물 중, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacilli*를 RT-PCR 방법을 이용하여 정량적으로 측정하는 방법이다. 멸균된 면봉으로 피검자의 협측 치경부 치태를 채취한 후(2 - 3회), 면봉을 가글액(애니가글, (주) LCC, 서울, 한국)과 함께 바이알에 투입하였다. 채취된 치태가 묻은 면봉과 가글액은 5일 이내에 제조사로 보내 분석하였다. 7일 후, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacilli*에 대한 정량적인 수치가 제공되었으며, 0 - 100 사이의 숫자로 점수화 되어, 치아우식 위험도를 나타내었다(Table 1).

설문지			
인자	고위험	중위험	보호인자
생물학적 인자			
영아/주양육자의 심한 우식상태	예		
부모/양육자의 낮은 사회경제적인 상태	예		
식사 사이에 하루에 3회 이상 당분이 포함된 과자나 음료섭취	예		
모유 또는 분유를 물고 자는 습관	예		
전신질환이 있는 어린이		예	
최근에 이민을 온 어린이		예	
보호인자			
상수도불소화 지역 거주 또는 불소보조제 복용			예
불소치약을 사용하여 양치하는 어린이			예
전문가 불소도포를 받는 어린이			예
치과정기검진을 하는 어린이			예
임상적인 인자			
1개 이상의 우식, 상실, 충전 치면	예		
진행중인 초기우식 또는 법랑질 결손	예		
높은 mutans streptococci 레벨	예		
치태 부착			예

Fig. 1. Caries risk Assessment Tool.

4) Cariview® 검사

치태를 구성하는 모든 미생물의 산 생성 능력을 평가하기 위해 상품화된 Cariview® Kit를 이용하여 제조사의 지시대로 실시하였다. 멸균된 면봉으로 피검자의 협측 치경부 치태를 채취한 후(2 - 3회), 면봉을 즉시 배양액에 투입하였다. 면봉을 통해 채취된 치태를 37°C로 맞춰진 배양기에 넣고, 48시간 동안 배

Table 1. Periogen® criteria

Assessment	Criteria (Score by PCR analysis)
Healthy	0 - 19.9
Warning	20 - 39.9
Danger	40 - 59.9
Highly danger	60 - 100

Table 2. Cariview® criteria

Assessment	Criteria (Score by optical analysis)	pH
Low risk	0 - 39.9	5.5 - 7.0
Moderate risk	40 - 69.9	4.5 - 5.5
High risk	70 - 100	3.0 - 4.5

양하였다. 48시간 배양 후 지시약을 배양액에 10방울 첨가하여 색 변화를 관찰하였다. 색상이 변화된 배양액이 담긴 바이알을 Cariview® 광학분석기를 통해 촬영한 후, 제조사에 의뢰하였다. 의뢰된 사진은 0 - 100 사이의 숫자로 점수화 되어, 치아우식 위험도를 나타내었다(Table 2).

Ⅲ. 연구 성적

1. 피험자 분포

83명의 피험자 중 남자 43명, 여자 40명으로 나타났다. 연령은 5세(26.5%)와 3세(22.9%)에서 높은 분포를 보였다(Table 3). 치아우식 경험 지수인 dmft, dmfts indices의 평균은 각각 3.11 ± 4.81, 4.78 ± 8.20이었다. Periogen® 점수는 4개의 등급으로 분류되었으며, 등급별로 건강 58명(69.9%), 주의 21명(25.3%), 위험 3명(3.6%), 매우 위험 1명(1.2%)으로 분포하였다. Cariview® 점수는 3개의 등급으로 분류되었으며, 각 등급에 대해, 저위험 42명(50.6%), 중위험 31명(37.3%), 고위험 10명(12.0%)으로 분포하였다. CAT는 설문지와 구강검사를 토대로 임상가가 판단에 따라 3개의 등급으로 구분되었으며, 저위험 30명(36.1%), 중위험 6명(7.2%), 고위험(56.6%)의 분포를 보였다(Table 3, 4).

2. 분산분석

Periogen®, Cariview®, CAT 등급과 치아우식 경험 지수(dmft, dmfts indices)의 평균을 비교하고자 시행한 분산분석 결과 Table 4, 5, 6과 같았다. Periogen® 점수가 증가함에 따라 치아우

Table 3. Distribution of the subjects

Category	Classification	Number of Subjects (%)
Gender	Boy	43 (51.8)
	Girl	40 (48.2)
Age (Year)	1	6 (7.2)
	2	14 (16.9)
	3	19 (22.9)
	4	17 (20.5)
	5	22 (26.5)
	6	5 (6.0)
dmft index	0	43 (51.8)
	1 - 5	17 (20.5)
	6 - 10	10 (12.0)
	> 10	13 (15.7)
dmfts index	0	43 (51.8)
	1 - 3	10 (12.0)
	4 - 10	17 (20.5)
	> 10	13 (15.7)
Periogen®	Healthy	58 (69.9)
	Warning	21 (25.3)
	Danger	3 (3.6)
	Highly danger	1 (1.2)
Cariview®	Low risk	42 (50.6)
	Moderate risk	31 (37.3)
	High risk	10 (12.0)
CAT	Low risk	30 (36.1)
	Moderate risk	6 (7.2)
	High risk	47 (56.6)
Total		83 (100)

CAT = Caries risk Assessment Tool

식 경험 지수 또한 증가하는 경향을 보였다. 매우 위험은 1명의 분포만을 가지고 있어 위험군에 포함시켜 사후검정 실시한 결과, 오직 건강과 주의 사이에 dmfts index만이 통계적으로 유의한 차이를 보였다. Cariview® 점수가 증가함에 따라 치아우식 경험 지수 또한 증가하는 경향을 보였으나, 중위험과 고위험 사이에는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. CAT 등급은 저위험에서 고위험으로 갈수록 치아우식 경험 지수가 증가하는 경향을 보였으나, 저위험과 고위험 사이에서만 유의한 차이를 보였다(Table 4, 5, 6).

3. 상관분석

각 치아우식 위험 평가법과 치아우식 경험 지수(dmft, dmfts indices) 간의 스피어만 상관분석 결과 Table 7과 같았다. Periogen® 점수와 dmft, dmfts indices간의 상관계수는 각각 0.37($p < 0.01$), 0.38($p < 0.01$)로 나타났다. Cariview® 점수는 dmft, dmfts indices와 상관계수 0.57($p < 0.01$), 0.56($p < 0.01$)을 보였다. CAT 등급의 경우, dmft, dmfts indices와 상관계수 0.60($p < 0.01$), 0.66($p < 0.01$)을 보였다. 모든 치아우식 위험 평가법이 상관계수의 크기는 다르나, 중등도의 상관관계를 보인 것으로 나타났다(Table 7). 상관계수의 경우 -0.1 - 0.1은 상관 관계 없음, 0.1 - 0.3은 약한 상관관계, 0.3 - 0.7은 중등도 상관관계, 0.7 - 1.0은 강한 상관관계를 나타낸다. Periogen® 점수와 Cariview® 점수의 경우 상관계수 0.22($p < 0.05$)로 약한 상관관계를 보였으며, Periogen® 점수와 CAT 등급은 상관계수 0.39($p < 0.01$), Cariview® 점수와 CAT 등급은 상관계수 0.38($p < 0.01$)로 모두 중등도의 상관관계를 보였다.

Table 4. Difference of caries index according to Periogen® class

Periogen® Class	Caries Index		N
	dmft Mean ± S.D	dmfts Mean ± S.D	
Healthy	2.24 ± 4.08	3.19 ± 6.50	58
Warning	4.81 ± 5.95	8.24 ± 10.94	21
Danger	9.00 ± 3.61	13.00 ± 7.00	3
Highly danger	0.00	0.00	1

Table 5. Difference of caries index according to Cariview® class

Cariview® Class	Caries Index		N
	dmft Mean ± S.D	dmfts Mean ± S.D	
Low risk	1.12 ± 2.62	1.69 ± 4.15	42
Moderate risk	4.77 ± 5.54	7.45 ± 10.22	31
High risk	6.30 ± 6.17	9.50 ± 9.63	10

Table 6. Difference of caries index according to Caries risk Assessment Tool class

CAT Class	Caries Index		N
	dmft Mean ± S.D	dmfts Mean ± S.D	
Low risk	0.13 ± 0.57	0.13 ± 0.57	30
Moderate risk	1.67 ± 2.42	2.33 ± 3.20	6
High risk	5.19 ± 5.47	8.06 ± 9.63	47

CAT = Caries risk Assessment Tool

Table 7. Correlation between caries activity test and caries index

Caries Activity Test	Caries Index	
	Caries Experience Tooth (dmft)	Caries Experience Tooth Surfaces (dmfts)
Periogen®	0.37**	0.38**
Cariview®	0.57**	0.56**
CAT	0.60**	0.66**

Spearman's rank correlation coefficient (** : $p < 0.01$)

CAT = Caries risk Assessment Tool

4. 민감도, 특이도 분석

Periogen®의 경우 치아우식 경험 지수가 0이 아닌 피험자를 주의, 위험 및 매우 위험으로 판단하는 민감도 분석 결과 43%를 나타냈다. 치아우식 경험지수가 0인 피험자를 건강으로 판단하는 특이도 분석 결과 80%를 나타냈다. Cariview®는 치아우식 경험 지수가 0이 아닌 피험자를 중등도 및 고위험으로 판단하는 민감도 분석 결과 76%, 치아우식 경험 지수가 0인 피험자를 저위험으로 판단하는 특이도 분석 결과 72%를 나타냈다. 같은 기준으로 CAT는 민감도 95%, 특이도 74%를 나타냈다(Table 8).

5. Receiver Operating Characteristic (ROC) curve 분석

치아우식 위험 평가법의 적절한 기준치를 결정하기 위해 시행한 ROC curve 분석 결과, Periogen®은 10점에서 기준으로 할 경우, 민감도 0.65, 특이도 0.70으로 최대를 나타냈다(Table 9). Cariview®는 50점을 기준으로 할 때, 민감도 0.76, 특이도 0.80으로 최대를 나타냈으며, CAT의 경우 중등도를 기준으로 할 때, 민감도 0.95, 특이도 0.74로 최대를 나타냈다. 각 검사법의 정확성을 비교하기 위해 ROC 곡선의 곡선하면적(Area Under Curve; AUC)을 계산한 결과 Periogen®은 0.69로 덜 정확한 검사법, Cariview® 과 CAT는 각각 0.81과 0.85로 중등도의 정확한 검사법을 보였다(Table 10). 보통 AUC 수치에 따라 비정보적(AUC =

Table 8. Sensitivity and Specificity of caries activity test at cut-off point

Caries Activity Test	Sensitivity	Specificity
Periogen®	0.43	0.80
Cariview®	0.76	0.72
CAT	0.95	0.74

CAT = Caries risk Assessment Tool

Table 9. Coordinate of ROC curve

Caries Activity Test	Sensitivity	Specificity	Cut off Point
Periogen®	0.703	0.630	5
	0.676	0.652	7
	0.649	0.674	9
	0.649	0.696	10
	0.622	0.717	12
	0.568	0.717	13
	0.541	0.739	14
	0.514	0.783	15
	0.757	0.717	35
	0.757	0.739	41
Cariview®	0.757	0.783	46
	0.757	0.804	50
	0.703	0.804	51
	0.676	0.826	52
	0.622	0.826	58
	0.595	0.848	59
CAT	0.973	0.652	Low risk
	0.946	0.739	Moderate risk
	0	1	High risk

CAT = Caries risk Assessment Tool

Table 10. AUC of ROC curve

Caries Activity Test	AUC	Cut off Point
Periogen®	0.69	10
Cariview®	0.81	50
CAT	0.85	Moderate risk

AUC = Area Under Curve, ROC = Receiver Operating Characteristic, CAT = Caries risk Assessment Tool

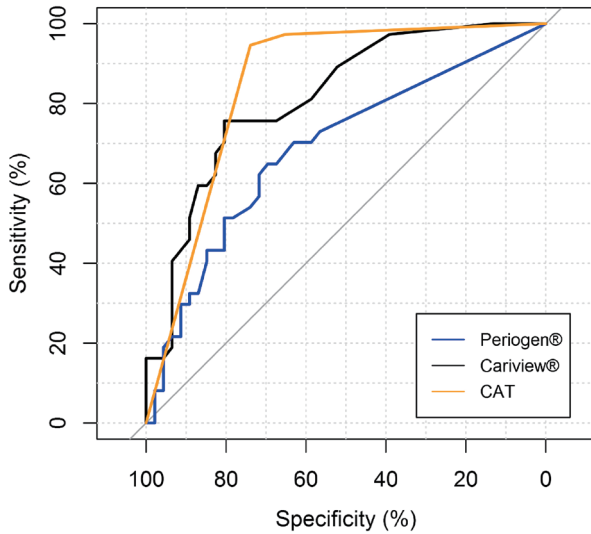


Fig. 2. ROC curve of Caries activity test.

0.5), 덜 정확한($0.5 < AUC \leq 0.7$), 중등도의 정확한($0.7 < AUC \leq 0.9$), 매우 정확한($0.9 < AUC < 1$), 완벽한 검사($AUC = 1$)로 분류할 수 있다[11,12] (Fig. 2).

IV. 총괄 및 고찰

이 연구는 83명의 만 6세 미만 소아를 대상으로 한 임상연구로, RT-PCR 방법을 이용한 새로운 치아우식 위험 검사법인 PerioGen®의 타당성과 유효성을 평가하고, 여러 치아우식 위험 검사법들과 이를 비교해 보고자 하였다.

PerioGen®은 치아우식 위험도 평가에서 다른 검사법과 비교하였을 때, 가장 낮은 유효성을 나타냈다. 반면 환자 설문조사와 임상검사를 통한 임상가의 판단인 CAT가 치아우식 위험도를 가장 잘 보여주는 것으로 나타났다.

이 연구에서 치아우식증의 양성, 음성 여부를 결정하는 cut-off point는 PerioGen®에서는 건강과 주의 사이로 나뉘었으며, Cariview®와 CAT의 경우 저위험과 중위험 사이에서 구분했다. Cariview®는 결과 구간의 pH에 근거하여 치질의 탈회가 발생하는 pH 5.5와 대응하는 40점 정도부터 중위험으로 설정하였으며, 타액의 완충능을 넘어서 치질의 탈회가 비가역적 수준인 pH 4.5와 대응하는 70점 정도부터 고위험으로 평가하였다[6]. 반면 PerioGen®은 미생물의 정량적인 수치와 치아우식 위험도를 나타내는 점수 사이의 연관성에 대한 정보가 제공되지 않았다. 따라서 제조사에서 정한 기준에 따라 치아우식 위험도를 평가하기

위해서는 미생물의 정량적인 수치를 통해 치아우식 위험도 점수를 산출하는 방법에 대한 타당성을 먼저 검증해야 할 것이다. 일반적으로 진단 검사의 정확성의 경우 양성과 음성을 나누는 기준점에 따라 다르게 측정되는데, 기준점이 낮아질수록 민감도는 증가하는 반면 특이도는 감소한다. 따라서 검사법의 진단 정확성을 판단하기 위해서는 최적의 기준점에 대한 고려가 필요하다[13]. 이러한 사항들에 대해서 검증해 보고자 시행한 ROC 곡선 분석에서, PerioGen®은 최적 cut-off point 10점으로 제조사에서 지시한 주의 기준(20점)의 절반에 해당하는 지점에서 최적 cut-off point를 나타냈다. 반면 Cariview®는 최적 cut-off point 50점으로 제조사에서 지시한 중위험 기준(40점)보다 다소 높은 지점에서 최적 cut-off point를 나타냈다. CAT는 임상가의 판단과 동일하게 중등도에서 최적 cut-off point를 나타냈다. 제조사에서 정한 cut-off point와 실험 결과의 통계 분석을 통한 cut-off point 값이 다소 다른데, 이는 치아우식증의 존재 여부가 명확히 구별되는 질환이 아니며, 연속적인 특징의 질환이기 때문이라 생각할 수 있다[1,14].

RT-PCR은 세균을 검출하고 정량화 하는데, 매우 유용하게 이용되는 기술로, RT-PCR을 이용한 우식 유발 세균의 검출은 많은 선행 연구에서 기존의 배양과 같은 방법에 비해 높은 민감도와 특이도를 보이는 것으로 나타났다[15,16]. 하지만 RT-PCR을 이용한 *S. mutans*의 검출은 혐기성 세균이나 바이러스에 비해 일반적이지 않다. 이는 그람 양성 세균의 두터운 세포막으로 인해 DNA의 추출이 어렵기 때문이다[17]. 2007년, Heo 등[18]의 연구에 따르면, Cytoperio® (PerioGen® 이전 상품명)을 이용한 *S. mutans*의 검출에서 dmft에 따른 *S. mutans*의 수준에 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다($p = 0.98, r = 0.298$). 이 연구에서도 다른 우식 위험검사법에 비해 PerioGen®은 낮은 민감도와 AUC를 나타냈다. 두터운 peptidoglycan 층을 지닌 그람 양성 세균은 DNA를 추출하기 위해서는 세포막에 대한 기계적인 용해, 효과적인 효소 용해, 열충격 등의 과정이 필요하다[19,20]. PerioGen®에서는 RT-PCR을 위한 DNA 추출에 proteinase K를 포함한 Ex-gene Clinic SV mini Kit (GeneAll, Korea)가 사용되었다. 하지만 Proteinase K는 histone 단백질을 분해하는 효소로 그람 음성 세균에는 효과적이거나 그람 양성 세균에서는 효과적이지 않은 효소로 알려져 있다[20]. 따라서 PerioGen®의 RT-PCR을 위한 DNA 추출 과정에서 그람 양성인 우식 유발 세균들의 DNA 추출이 효율적으로 이루어졌다고 보기 힘들다. PerioGen®의 낮은 민감도와 AUC는 이와 영향이 있을 것으로 생각되며, PerioGen®이 임상적으로 더욱 신뢰성 있게 사용되기 위해서는 이러한 DNA 추출 능력에 대한 의문을 추가적으로 검증, 보완해야 할 것으로 생각된다.

치아우식증은 감염성 질환이지만, 단순히 우식 유발 세균의 존재 여부에 따라서 발병되는 질환이 아니며, 여러가지 인자들이 복합적으로 작용하는 질환이다. 최근 연구에 따르면, *S. mutans*의 수준이 높아도 오히려 치아우식이 존재하지 않는 경우도 존재한다[21,22]. 또한 타액의 산성도 및 완충능력과 치아우식 위험도 관에도 유의한 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있다[23]. 이처럼 치아우식증은 미생물적인 요소 이외에도 치아, 음식, 불소, 타액, 생활습관, 사회 경제적 요인 등 여러 요소들이 관여를 한다[14]. 따라서 미생물적인 측면에서 치아우식 위험도를 측정된 Periogen® 검사에 비해, 생물학적 인자, 보호인자, 임상적 인자 등 여러가지 측면에서 위험도를 평가한 CAT가 치아우식 위험도 예측에서 더 나은 결과를 보였다.

치아우식증은 소수의 사람에서 다수로 발견되는 것으로 보고된다[1]. 따라서 치아우식의 예방을 위해서는 높은 민감도로 우식위험도가 높은 환자를 선별하고, 환자와 보호자에게 이를 주기적으로 환기하는 것이 중요할 것으로 생각된다. 또한 치아우식증은 여러가지 인자들에 영향을 받으므로, 치아우식 위험도에 대한 평가를 위해서는 환자의 사회 경제적 요인, 구강위생 및 관리, 불소의 사용 등 여러가지 인자들을 복합적으로 고려한 판단이 필요할 것으로 생각된다[24]. Periogen®의 경우 멸균된 면봉을 이용하여 치태를 채취한 후 업체를 통해 분석이 진행되기 때문에, 임상적으로 사용하기 편리하며, 시각적인 자료와 수치를 통해 치아우식 위험도를 제공한다는 장점이 존재한다. 하지만 복합적인 요소들이 작용하는 치아우식 위험도에 대해, 다른 요소에 대한 고려 없이 구강 내 우식 유발 세균만을 양적으로 측정하여 평가하였다. 결과적으로도 다른 검사법들에 비해 낮은 민감도와 AUC를 보였다. 따라서 치아우식 위험도를 평가하는 진단법으로 임상에서 사용되기에는 현재 한계점이 많은 것으로 생각된다.

이번 연구는 한계점을 가지고 있는데, 먼저 이번 연구에서 사용한 dmft, dmfts indices는 발견된 치아우식증의 활성상태에 대해서는 구분하지 못하였다. 시진 뿐 아니라, 탐침 및 다른 진단 장비 등을 이용하여 실제 진행성의 활성 우식을 진단한다면, 더 정확한 검사가 될 것이다. 인접면 치아우식증의 경우 육안으로 관찰이 불가능한 경우, 검사자의 기록에 누락이 되는 경우가 있으므로, 실제 보다 우식 위험도가 저평가 되었을 가능성이 있다. 육안 검사와 더불어 방사선사진 혹은 여러 다른 진단 도구를 병행해서 실험을 진행하였다면, 더 정확한 평가가 가능했을 것이라 생각된다.

이 임상 연구는 현재 시점에서 진행된 횡단적 연구로, 치아우식 경험 지수와 치아우식 위험 검사법의 결과를 비교하였다. 따라서 시간의 변화에 따른 치아우식 위험도를 예측하는 능력에

대한 평가를 진행하지 못했다. 이러한 치아우식 위험 검사법의 타당성의 조사를 위해서는, 현재 진행한 치아우식 위험 검사법과 미래의 새로운 치아우식 병소의 상관성을 분석하는 등의 방법이 필요하다. 하지만 이러한 연구는 시간적, 경제적으로 많은 투자를 요구하며, 치아우식증의 경우 이러한 분석을 위해서는 6개월에서 2 - 3년의 관찰기간이 필요하다[25]. 또한 여러가지 인자들이 복합적으로 관여하기 때문에, 모든 인자들을 장기간 동안 통제하는 것이 힘들다. 따라서 횡단적인 연구 혹은 후향적인 연구를 통해 현재의 치아우식 위험 검사법의 점수와 치아우식 경험 지수를 상관 분석하는 방법이 차선으로 이용되고 있다.

Periogen®은 최근 치아우식 위험 검사법으로 사용되어, 아직 이에 대한 개량이 필요할 수 있으며, 유효성에 대한 평가가 필요하다. Periogen®은 미생물에 대한 정량적인 분석을 시행하고, 사용 방법이 비교적 간편하며, 시각적인 자료를 제공해 준다는 장점이 존재한다. 하지만 현재 치아우식 위험도 평가에 임상적으로 사용되기에는 한계점이 존재한다. 따라서 임상적인 사용을 위해서는 적절한 개량이 선행되어야 할 것으로 생각된다. 이번 연구결과는 다른 치아우식 위험 검사법들과 비교했을 때, Periogen®이 더 높은 유효성을 위한 개량이 필요함을 시사하며, 이러한 개량을 위한 척도로 사용될 수 있을 것이다.

V. 결 론

이 연구는 만 6세 미만 소아 83명을 대상으로 치아우식 경험 지수(dmft, dmfts indices)와 새로운 치아우식 위험 검사법인 Periogen®의 상관성을 평가하고, Cariview®, CAT와 그 유효성을 비교하였다.

상관 분석 결과, Periogen®, Cariview®, CAT는 dmft, dmfts indices와 모두 중등도의 상관관계를 보였다.

치아우식 예측에 있어서, Periogen®, Cariview®, CAT는 각각 민감도 43%, 76%, 95%를 나타냈으며, 특이도는 각각 80%, 72%, 74%를 나타냈다. ROC 곡선의 곡선하면적(AUC)는 Periogen®, Cariview®, CAT가 각각 0.69, 0.81, 0.85로 Periogen®의 경우 덜 정확한 검사로 나타났으며, 나머지 두 검사는 중등도의 정확한 검사로 나타났다.

이를 통해 여러 가지 인자들을 복합적으로 고려하여 임상가가 판단을 내리는 CAT가 치아우식 위험도를 평가하는데 가장 양호한 것으로 나타났다. 반면 Periogen®은 세 검사법 중, 가장 낮은 민감도와 AUC 값을 보였다. Periogen®은 가장 높은 특이도를 나타냈으며, 검사 방법이 간단하고, 추가적인 장비가 필요하지 않는다는 등의 장점이 존재한다. 하지만 치아우식 위험도 평가에 임상적으로 사용되기 위해서는 더 나은 유효성을 위한 개량이

선행되어야 할 것으로 생각된다.

References

1. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB : Dental caries. *Lancet*, 369: 51-59, 2007.
2. Köhler B, Pettersson BM, Bratthall D : Streptococcus mutans in plaque and saliva and the development of caries. *Scand J Dent Res*, 89:19-25, 1981.
3. Newbrun E, Matsukubo T, Bohannon HM, *et al.* : Comparison of two screening tests for streptococcus mutans and evaluation of their suitability for mass screenings and private practice. *Community Dent Oral Epidemiol*, 12:325-331, 1984.
4. Takahashi N, Nyvad B : Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. *Caries Res*, 42:409-418, 2008.
5. Marsh PD : Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res*, 8:263-271, 1994.
6. Lee HS, Lee ES, Kim BI, *et al.* : Clinical assessment of a new caries activity test using dental plaque acidogenicity in children under three years of age. *J Clin Pediatr Dent*, 40:388-392, 2016.
7. Hata S, Hata H, Mayanagi H, *et al.* : Quantitative detection of streptococcus mutans in the dental plaque of Japanese preschool children by real-time PCR. *Lett Appl Microbiol*, 42:127-131, 2006.
8. Corless CE, Guiver M, Fox AJ, *et al.* : Contamination and sensitivity issues with a real-time universal 16S rRNA PCR. *J Clin Microbiol*, 38:1747-1752, 2000.
9. Igarashi T, Yamamoto A, Goto N : PCR for detection and identification of streptococcus sobrinus. *J Med Microbiol*, 49:1069-1074, 2000.
10. American Academy of Pediatric Dentistry : Guideline on caries-risk assessment and management for infants, children, and adolescents. *Pediatr Dent*, 35:E157-164, 2013.
11. Swets JA : Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science*, 240:1285-1293, 1988.
12. Greiner M, Pfeiffer D, Smith RD : Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev Vet Med*, 45:23-41, 2000.
13. Song SW : Using the receiver operating characteristic (ROC) curve to measure sensitivity and specificity. *Korean J Fam Med*, 30:841-842, 2009.
14. Young DA, Featherstone JD : Caries management by risk assessment. *Community Dent Oral Epidemiol*, 41:e53-63, 2013.
15. Rupf S, Merte K, Eschrich K, *et al.* : Comparison of different techniques of quantitative PCR for determination of streptococcus mutans counts in saliva samples. *Oral Microbiol Immunol*, 18:50-53, 2003.
16. Okada M, Soda Y, Kozai K, *et al.* : PCR detection of Streptococcus mutans and S. sobrinus in dental plaque samples from Japanese pre-school children. *J Med Microbiol*, 51: 443-447, 2002.
17. Yano A, Kaneko N, Hanada N, *et al.* : Real-time PCR for quantification of Streptococcus mutans. *FEMS Microbiol Lett*, 217:23-30, 2002.
18. Heo SJ, Shin TJ, Kim YJ, *et al.* : A pilot study of relationship between early childhood caries experience and chair-side test results for caries-risk assessment. *J Korean Acad Pediatric Dent*, 44:298-305, 2017.
19. Salazar O, Asenjo JA : Enzymatic lysis of microbial cells. *Biotechnol Lett*, 29:985-994, 2007.
20. Bollet C, Gevaudan MJ, de Micco P, *et al.* : A simple method for the isolation of chromosomal DNA from gram positive or acid-fast bacteria. *Nucleic Acids Res*, 19:1955, 1991.
21. Sansone C, Van Houte J, Margolis HC, *et al.* : The association of mutans streptococci and non-mutans streptococci capable of acidogenesis at a low pH with dental caries on enamel and root surfaces. *J Dent Res*, 72:508-516, 1993.
22. Van Houte J, Lopman J, Kent R : The final pH of bacteria comprising the predominant flora on sound and carious human root and enamel surfaces. *J Dent Res*, 75:1008-1014, 1996.
23. Singh S, Sharma A, Sinha A, *et al.* : Saliva as a prediction tool for dental caries: An in vivo study. *J Oral Biol Craniofac Res*, 5:59-64, 2015.
24. Demers M, Brodeur JM, Veilleux G, *et al.* : A multivariate model to predict caries increment in Montreal children aged 5 years. *Community Dent Health*, 9:273-281, 1992.
25. Parfitt G : The speed of development of the carious cavity. *Br Dent J*, 100:204-207, 1956.

국문초록

실시간 종합효소연쇄반응 방법을 이용한 새로운 치아우식 활성 검사법의 유효성

권도윤¹ 전공의 · 김희진¹ 대학원생 · 남옥형² 교수 · 김미선³ 교수 · 최성철² 교수 · 김광철³ 교수 · 이효설² 교수

¹경희대학교 대학원 치의학과 소아치과학전공

²경희대학교 치의학전문대학원 소아치과학교실

³강동경희대학교병원 치과병원 소아치과

Periogen은 실시간 PCR 방법을 이용한 우식활성 검사법으로, 치아우식 유발균에 대한 정량적인 분석을 통해 개개인의 치아우식 위험도를 평가한다. 이 연구는 소아에서 Periogen과 치아우식 경험 지수(dmft, dmft indices)와의 상관성을 평가하고, 기존의 치아우식 위험 검사법인 Cariview, 치아우식 평가 도구(Caries Assessment Tool)와 비교할 목적으로 시행되었다.

만 6세 미만 83명의 소아를 대상으로 실험이 진행되었다. 시진을 통해 치아우식 경험 지수(dmft, dmft indices)가 기록되었으며, 간단한 설문 조사를 통해 CAT 평가 시행되었다. Periogen, Cariview는 제조사의 지시에 따라 치아우식 위험도 평가 시행되었다.

그 결과 Periogen, Cariview 그리고 CAT는 dmfts index와 상관계수가 각각 0.38, 0.56, 0.66을 보여 모두 중등도의 상관관계를 보였다 ($p < 0.01$). Periogen, Cariview 그리고 CAT의 민감도와 특이도 분석의 경우, 민감도는 각각 43%, 76%, 95%를 보였으며, 특이도는 각각 80%, 72%, 74%를 보였다. ROC 곡선의 곡선하면적(AUC)는 각각 0.69, 0.81, 0.85를 보였다.

Periogen의 경우 다른 기존의 두 가지 검사법에 비해 치아우식 위험도 평가에 있어 더 낮은 유효성을 보였다. 따라서 임상적으로 사용되기 위해서는 더 나은 유효성을 위한 개량이 필요할 것으로 보인다.