

A meta-analysis of microbiota implicated in peri-implantitis

Han-gyoul Cho, Ran-Yi Jin, and Seung-Ho Ohk*

Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Chonnam National University, Gwangju 61186, Republic of Korea

Peri-implantitis is a disease affecting the tissue surrounding dental implants, destroying both soft and hard tissues. A total of 2,015 studies were collected by searching items in the National Library of Medicine, including keywords, such as “peri-implantitis,” “microbiota,” and “microbiome.” Of them, 62 studies were screened and considered eligible for analysis. Only 16 studies qualified all criteria mentioned here: “Using PCR methods for microorganism detection,” “Suggesting quantified results,” “Stating obvious clinical diagnosis criteria (‘Bleeding on probing,’ ‘Probing pocket depth,’ ‘Suppuration,’ and ‘Radiographic bone loss’).” Only 8 studies were included in the meta-analysis because the others had special issues. *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, and Epstein-Barr virus were the microbiological subjects of analysis. The odds ratio (OR) between the healthy implants and peri-implantitis were calculated for each microorganism to compare two groups, and the forest plots were suggested as the visual materials. *P. gingivalis* (1.392 < OR < 2.841), *T. forsythia* (1.345 < OR < 3.221), *T. denticola* (2.180 < OR < 5.150), *A. actinomycetemcomitans* (1.975 < OR < 6.456), *P. intermedia* (1.245 < OR < 3.612), and Epstein-Barr virus (1.995 < OR < 9.383). The species showed that their 95% confidence interval of odds ratio was higher than 1, indicating that they were detected more frequently in peri-implantitis than in healthy implants. Meanwhile, other species, such as *Fusobacterium nucleatum* and *Staphylococcus aureus*, were not included in the meta-analysis because the number of studies was insufficient.

Keywords: Microbiota, Peri-implantitis, Meta-analysis

Introduction

임플란트 매식술이 치아 상실 부위에 대한 주된 치료 방법으로 자리 잡은 현재, 임플란트의 장기적 생존율은 임상적으로 중요한 요소로 평가되고 있고 이에 대해 여러 연구에서 보고되어 왔다. Moraschini 등 [1]의 종단 연구들에 대한 체계적 문헌 검토에 따르면, 임플란트의 생존율은 1년 이내에서는 99%로 나타나나, 10년 이내에서는 96%, 20년 이내에서는 91%로 감소한다. Lekholm 등 [2]의 연구에서도 임플란트의 20년 생존율을 91%로 보고하고 있다. 임플란트의 장기적 실패에 영향을 미치는 주된 요인은 매식체의 골유착이 유지되지 못하는 것이고,

이의 가장 큰 원인 중 하나로 임플란트 주위염(peri-implantitis)이 지적되고 있다 [3].

임플란트 주위 점막염(peri-implant mucositis)은 임플란트 주위의 연조직에 발생한 가역성 염증 과정으로 정의되며, 임플란트 주위염은 임플란트 주위의 연조직뿐 아니라 경조직까지 침범한, 비가역성의 염증에 의한 구조적 파괴로 정의된다 [4]. 따라서 임플란트 주위염에 대한 진단은 골조직의 소실 여부를 기준으로 하는 경우가 대부분이다. 이러한 임플란트 주위염의 발생은 당뇨와 같은 전신질환, 치주질환 기왕력, 미흡한 구강 위생 관리, 흡연 등의 보조적인 인자 [5]에 의해 영향을 받기도 하지만, 기본적으로는 여러 종류의 혐기성 세균들에 의해 발생

Received July 5, 2023; Revised September 7, 2023; Accepted September 8, 2023

*Correspondence to: Seung-Ho Ohk, E-mail: shohk@chonnam.ac.kr <https://orcid.org/0000-0001-9828-1143>

Copyright © The Korean Academy of Oral Biology

© This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

하는 질환이다[3]. 임플란트 주위염이 발생한 조직에서 발견되는 생물막(biofilm)의 세균에는 이른바 ‘red complex’로 불리는 *Treponema denticola*, *Tannarella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*를 포함해, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella nigrescens*, *Campylobacter rectus*, *Staphylococcus aureus*, enteric bacilli, *Candida albicans* 등이 보고되고 있다[6].

임플란트 주위염은 지대주 나사 풀림, 크라운 파절 등 비교적 간단히 해결되는 보철적, 기계적 문제에 비해 훨씬 더 해결하기 힘든 임플란트 실패 요인이다[7]. 임플란트의 실패를 일으키는 치주적 문제(임플란트 주위염)는 기계적 문제와 발생 빈도는 유사하나, 완벽한 해결 방법이 존재하지도 않고, 치료 기간이 길며, 환자 자신의 위생 관리에 대한 동기 부여가 필요하기 때문에 임상가들에게는 더욱 부담되는 문제이다[7]. 임플란트 주위염을 유발하는 생물학적 인자, 즉 미생물총에 대해 많은 연구자들이 주목하고 있는 것도 바로 이 때문이다.

임플란트 주위염에 대한 치료법은 다양한 것들이 제시되고 있으나 큰 틀에서는 벗어나지 않으며 자연치에 대한 치주염의 치료 프로토콜과 유사한 점이 많다[4]. 임플란트 주위 점막염이나, 경도에서 중등도의 임플란트 주위염은 보존적 방식으로 처치할 수 있다. 치료의 목표는 임플란트 표면에 존재하는 염증 유발 인자들을 제거하고 더 이상의 염증 재발이 일어나지 않도록 환경을 조성하는 것이다. 이 과정에는 임플란트 주위의 비외과적 소파 및 연마과정, 레이저 및 광역학 요법, chlorohexidine 등을 이용한 소독 처리 등이 포함된다. 정도가 심한 임플란트 주위염의 경우에는 삭제형, 재생형 외과적 수술을 요하기도 한다[4]. 이러한 과정이 끝나면 유발 미생물들의 재군집을 방지하기 위한 목적으로 보조적 국소 혹은 전신적 항생제 요법이 사용된다[8]. 이에 tetracycline, minocycline hydrochloride, doxycycline, 그리고 amoxicillin과 metronidazole의 병용 투여 등 여러 가지가 포함되는데[9-11], 대부분의 연구에서는 이러한 항생제 요법들이 치은 출혈, 화농, 그리고 임플란트 주위 탐침 깊이를 유의하게 감소시켰다고 보고하고 있으나, 그렇지 않은 연구도 보고되기도 한다[12]. 그럼에도 앞서 서술한 임플란트 주위염 치료의 목표인 ‘생물학적 염증 인자’의 완전한 제거와 재발 방지를 달성하기 위해서는 보조적 요법으로 항생제의 사용은 필수적이며, 항생제의 종류 선택의 중요성이 커지게 되었다[8].

사실 앞서 언급한 항생제 요법은 일반적인 치주염에서의 매뉴얼에서 크게 벗어나지 않는다. 치주염과 임플란트 주위염의 유발 세균총에 약간의 차이가 있음에도 장기적 관찰 결과 효과가 있었던 이유는 항생제들의 광범위한 스펙트럼 때문도 있었지만, 치주염과 임플란트 주위염의 깊은 연관성 때문이었을 수 있다[13]. 두 질환의 유발 세균총이 기본적으로 유사하기도 하고, 치주염의 기왕력이 임플란트 주위염의 발생의 주요 위험 요인으로 알려져 있기 때문이기도 하다[14,15]. 그러므로 온전히 임플란트 주위염에 초점을 맞춘 치료법을 수립하기 위해서는 건강한 상태의 임플란트 주위 조직과, 임플란트 주위염에 이환된 조직에서 발견되는 미생물 군집의 비교에 대한 고찰이 필요하다.

임플란트 주위염의 미생물총에 대해 많은 선행 연구가 있었다. La-faurie 등[16]은 임플란트 주위염, 치주염, 그리고 건강한 임플란트(healthy implants)의 미생물군집의 유사성과 차이성에 대한 체계적

문헌 고찰을 시행한 바 있다. 이 연구에서는 세균 배양, PCR, DNA 혼성화, DNA 시퀀싱 등 여러 방식을 통해, 건강한 조직에 비해 임플란트 주위 조직에서 많이 나타나는 세균으로 앞서 언급한 red complex균들(*T. denticola*, *T. forsythia*, *P. gingivalis*)과 orange complex균들(*P. intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*), 그리고 *A. actinomycetemcomitans*, *E. corrodens*, *P. micra*, *C. rectus* 등의 균들이 있음을 보고했다. 그러나 이 연구에서는 미생물 분석 기법에 따른 종류별 표본이 적었으며 많은 다른 연구에서 임플란트 주위염의 발병 유도에 관여하는 것으로 알려진 기회성 감염균인 *S. aureus*에 대한 비교 내용이 부족하였다[17]. Pérez-Chaparro 등[18]의 체계적 문헌 고찰에서도 치주염을 유발하는 그람양성 혐기성균들(*P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *C. rectus*)이 임플란트 주위염에 관여함을 보고하였으나, 비교한 세균의 종 수가 많지 않았다는 점에서 한계가 있었다. Rakic 등[19]의 체계적 문헌 고찰에서는 앞서 언급된 그람양성 혐기성균과, 기회성 감염균이 비슷한 비율로 존재함을 보고하였고, Epstein-Barr virus (EBV)와 비당분해성 그람양성 혐기성 간균의 존재에 주목하였다. 한편 *S. aureus*는 유의하게 관여하지 않는다고 지적하였다. 그러나 이 체계적 문헌 고찰에서 참고한 단면조사연구와 환자-대조군 연구들의 조건이 이질성이 크다는 점에서 한계가 있었다. 따라서 미생물 군집의 종별 정량적 비교를 위해서는 메타분석이 더욱 효과적일 것으로 보인다.

본 연구의 목적은 임플란트 주위염에 이환된 조직과 건강한 임플란트 주위의 미생물 군집을 비교한 메타분석을 시행함에 있다. 앞선 연구들의 한계점을 극복하기 위해, 많은 종류의 미생물총에 대해 비교하면서도 연구 간 이질성이 커지지 않도록 명확한 여러 가지 조건들을 설정하고 이에 부합하는 연구들만을 메타분석 과정에 포함시켰다.

Materials and Methods

1. 연구 질문

건강한 상태의 임플란트 주위 조직과 임플란트 주위염이 발생한 조직에서 검출되는 미생물의 종류에 유의한 차이가 있는가?

2. 분석 대상 연구 선정 및 수집

1) 문헌 정리 및 검색 전략

참고할 문헌의 선별은 Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses guidelines (PRISMA)의 프로토콜에 따른다(Fig. 1). 문헌들의 검색은 U.S. National Library of Medicine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed>) (MEDLINE)에서 실시하였으며, 키워드로 ‘peri-implantitis’, ‘microbiota’, ‘microbiome’ 등이 포함되도록 하였다. MeSH 키워드 검색을 포함하였다. 사용한 검색어는 다음과 같다:

“Dental Implants” [Mesh] OR dental implant OR “Peri-Implantitis” [Mesh] OR peri-implantitis OR peri-implant) AND

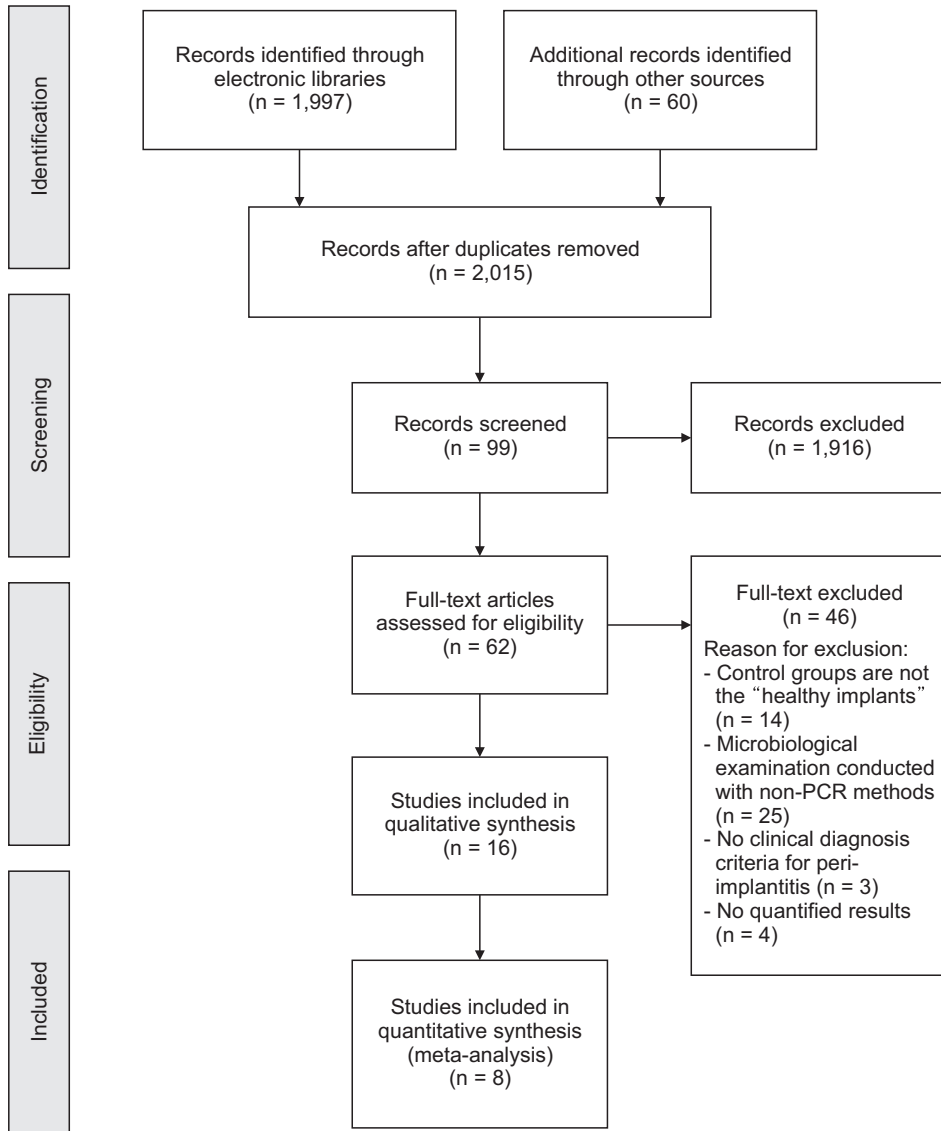


Fig. 1. PRISMA flowchart of literature search strategy.

“Microbiology” [Mesh] OR microbiology OR “Bacteriology” [Mesh] OR bacteriology OR “Bacteria” [Mesh] OR bacteria OR bacterial OR “Fungi” [Mesh] OR fungi OR fungal OR “Microbiota” [Mesh] OR “Viruses” [Mesh] OR virus OR microbiota OR microbiome OR microbial OR microbiological OR “Biofilms” [Mesh] OR biofilm OR flora

또한, 검색 필터를 통해 최근 15년 이내의 연구(2007/08/01–2022/08/01), 사람을 대상으로 한 영문 문헌으로 제한하였다. 또한, 다른 정보원을 통해 찾아낸 논문들을 포함하여, 중복을 제거한 총 2,015개의 연구를 1차적인 검색 결과로 선정하였다.

2) 문헌 선택 및 제외 기준

건강한 임플란트 주위 조직을 대조군으로 임플란트 주위염의 미생물 군집의 구성을 비교한 환자-대조 연구(case-control study) 위주로 선택하였다. 다음과 같은 조건에 해당하는 연구를 제목과 초록을 통해 제

외하였다.

- 주제(임플란트 주위염의 미생물 군집의 구성)에 부합하지 않는 연구
 - 본 연구에 적합하지 않은 형식의 연구: review articles (리뷰 논문), cohort studies (코호트 연구), case report (증례 보고) 등
 - *In vitro* studies (체외 연구)를 비롯한 비임상적 연구
- 위 기준에 따라 스크리닝 한 결과 총 99개의 논문을 얻을 수 있었다. 이 중 원문의 내용이 본 연구에 적격인지 여부를 판단하여, 37개의 연구를 제외하고 62개의 연구를 선별했다. 62개의 연구의 원문을 다시 검토하여, 다음의 조건을 만족하는 연구만이 포함되도록 하였다.
- 대조군이 반드시 ‘건강한 상태의 임플란트’일 것
 - 미생물 검출 방식이 PCR을 이용한 방법일 것
 - 실험군인 임플란트 주위염에 대한 명확한 임상 검사 기준을 따른 것: 임플란트 주위염의 주요 진단 항목[20]인 탐침 시 출혈(bleeding on probing, BOP), 임플란트 주위 치주낭깊이(probing pocket depth, PPD), 방사선상 확인되는 골 소실(radiographic bone

loss)을 반드시 포함할 것

- 데이터가 수량화되어 있을 것: 미생물 존재 여부를 positive/negative로만 처리한 연구는 제외
- 샘플의 크기가 최소 10개 이상일 것
- 분석 대상 미생물종이 최소 2종류 이상일 것

다음 조건에 부합하지 않은 연구들을 모두 제외하여, 총 16개의 연구가 질적 합성에 포함되었다[21–36]. 제외 사유별 제외된 연구의 수는 Fig. 1에 서술하였다. 질적 합성에 포함된 연구들의 저자, 발행 연도, 임플란트 주위염의 진단 항목, 분석한 미생물 종의 종류는 Table 1에 서술하였으며, 이 중 단 8개의 연구만이 메타분석(양적 합성)에 포함되었다. 나머지 8개의 연구는 실험 조건 및 결과 산출 방식이 양적 분석을 시행

할 수 없는 여건에 있었기 때문에 메타분석에서 제외되었다. 이 연구들의 자세한 제외 사유들은 Table 1의 ‘special matters’에 서술하였다.

3. 자료 분석 및 통계 처리

각 연구들에서는 대조군인 건강한 임플란트 주위 조직과 실험군인 임플란트 주위염 이환 조직에서의 미생물의 검출 빈도수를 비교하고 있고, 미생물종의 종류는 Table 1에서 정리한 바와 같다. 모든 연구를 통틀어 언급된 미생물종은 *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. micra*, *F. nucleatum*, *C. rectus*, *E. nodatum*, *E. corrodens*, *Capnocytophaga*

Table 1. General characteristics of the studies included in meta-analysis

No.	Authors	Year	Clinical diagnosis items for peri-implantitis	Types of microorganisms	Special matters
1	Ziebolz et al. [21]	2017	BOP, PPD, radiographic bone loss	Pg, Tf, Td, Aa, Pi, Pm, Fn, Cr, En, Ec, Cs	
2	Verdugo et al. [22]	2015	BOP, PPD, SUP, radiographic bone loss	Pg, Tf, Td, Aa, Pi, Fn, HCMV, EBV	
3	Jankovic et al. [23]	2011	BOP, PPD, SUP, PI, radiographic bone loss	HCMV, EBV	
4	Cortelli et al. [24]	2013	BOP, PPD, CAL, mucosal marginal bleeding, SUP, radiographic bone loss	Pg, Tf, Td, Aa, Pi, Cr	
5	Zhuang et al. [25]	2016	BOP, PPD, radiographic bone loss	Pg, Td, Aa, Pi, Fn, Sa	
6	Casado et al. [26]	2011	BOP, PPD, SUP, Mob, radiographic bone loss	Pg, Tf, Td, Aa, Pi	
7	Ata-Ali et al. [27]	2015	BOP, PPD, SUP, radiographic bone loss	Pg, Tf, Td	
8	Kato et al. [28]	2017	BOP, PPD, SUP, radiographic bone loss	Pg, EBV	
9	Jankovic et al. [29]	2011	BOP, PPD, SUP, PI, radiographic bone loss	HCMV, EBV	Almost same article with No. 3 (same author, same experimental contents)
10	da Silva et al. [30]	2014	BOP, PPD, radiographic bone loss	Microorganisms were clustered by their genus instead of specific species	Unable to include in quantitative synthesis
11	Apatzidou et al. [31]	2017	BOP, PPD, SUP, CAL, radiographic bone loss	Microorganisms were clustered by their genus instead of specific species	Unable to include in quantitative synthesis
12	Tamura et al. [32]	2013	BOP, PPD, SUP, radiographic bone loss	Microorganisms were clustered by their genus instead of specific species	Unable to include in quantitative synthesis
13	Al-Ahmad et al. [33]	2018	BOP, PPD, radiographic bone loss	Microorganisms were clustered by their genus instead of specific species	Unable to include in quantitative synthesis
14	Faveri et al. [34]	2011	BOP, PPD, radiographic bone loss	<i>Methanobrevibacter oralis</i> , <i>Methanobacterium congolens/curvum</i>	Archaea: low clinical importance
15	Parthiban et al. [35]	2017	BOP, PPD, PI, radiographic bone loss	Pg, Tf, Td, Aa, Pi, Pm, Fn, Cr, Ec, Cs	Quantitative results are analysed as loads instead of frequency
16	Sato et al. [36]	2011	BOP, PPD, radiographic bone loss	Pg, Tf, Td, Aa	Control groups were not the healthy implants

BOP, bleeding on probing; PPD, probing pocket depth; SUP, suppuration; PI, visible plaque index; CAL, clinical attachment level; Mob, mobility; HCMV, human cytomegalovirus; EBV, Epstein-Barr virus; Pg, *P. gingivalis*; Tf, *T. forsythia*; Td, *T. denticola*; Aa, *A. actinomycetemcomitans*; Pi, *P. intermedia*; Pm, *P. micra*; Fn, *F. nucleatum*; Cr, *C. rectus*; En, *E. nodatum*; Ec, *E. corrodens*; Cs, *Capnocytophaga* sp.; Pn, *P. nigrescens*; Sa, *S. aureus*.

spec, *P. nigrescens*, *S. aureus*, human cytomegalovirus, EBV이며, 이 중 3번 이상 언급된 *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, EBV에 대해 각 미생물종별로 따로 분류하여 데이터를 정리하였다. 대조군과 실험군에서의 미생물 종별 검출 빈도(detected frequency)는 Tables 2–7에 정리하였다. 또한 해당 미생물종의 전반적인 분석을 위해, 그 미생물종에 해당하는 모든 연구에서의 표본을 전부 반영한 ‘Combined’ 항목으로 빈도를 계산해 추가하였다.

본 연구의 가설을 증명 혹은 반박하기 위해서는 특정 미생물의 검출 빈도가 건강한 임플란트에서와 임플란트 주위염에 이환된 임플란트에서 통계적으로 유의한 차이가 있는지 분석하는 과정이 필요하다. 이에 대한 임의효과크기는 각 미생물 종별로, 각각의 연구들과 ‘Combined’ 항목에 대한 오즈비(odds ratio, OR)를 계산한다. 신뢰구간(confidence interval, CI)은 95% 범위에서 산출하였다. 또한 이를 시각적으로 나타내기 위해 forest plot을 제시하였다. 검출 빈도가 0으로 나타난 항목의 경우 오즈비를 구하는 것이 불가능하므로 forest plot 또한 그

Table 2. Studies of *Porphyromonas gingivalis*

Author	Healthy implants		Peri-implantitis implants	
	Total No.	Detected frequency	Total No.	Detected frequency
Ziebolz et al. [21]	115	72 (62.61)	16	11 (68.75)
Verdugo et al. [22]	23	15 (65.22)	23	14 (60.87)
Cortelli et al. [24]	53	6 (11.32)	50	27 (54.00)
Zhuang et al. [25]	22	5 (22.73)	22	7 (31.82)
Casado et al. [26]	10	9 (90.00)	10	8 (80.00)
Ata-Ali et al. [27]	54	6 (11.11)	24	9 (37.50)
Kato et al. [28]	15	4 (26.67)	15	14 (93.33)
Overall	292	117 (40.07)	160	90 (56.25)

Values are presented as number (%).

Table 3. Studies of *Tannerella forsythia*

Author	Healthy implants		Peri-implantitis implants	
	Total No.	Detected frequency	Total No.	Detected frequency
Ziebolz et al. [21]	115	53 (46.09)	16	10 (62.50)
Verdugo et al. [22]	23	20 (86.96)	23	22 (95.65)
Cortelli et al. [24]	53	4 (7.55)	50	20 (40.00)
Casado et al. [26]	10	8 (80.00)	10	9 (90.00)
Ata-Ali et al. [27]	54	12 (22.22)	24	8 (33.33)
Overall	255	97 (38.04)	123	69 (56.10)

Values are presented as number (%).

Table 4. Studies of *Treponema denticola*

Author	Healthy implants		Peri-implantitis implants	
	Total No.	Detected frequency	Total No.	Detected frequency
Ziebolz et al. [21]	115	31 (26.96)	16	8 (50.00)
Verdugo et al. [22]	23	8 (34.78)	23	18 (78.26)
Cortelli et al. [24]	53	5 (9.43)	50	27 (54.00)
Zhuang et al. [25]	22	3 (13.64)	22	4 (18.18)
Casado et al. [26]	10	7 (70.00)	10	7 (70.00)
Ata-Ali et al. [27]	54	9 (16.67)	24	8 (33.33)
Overall	277	63 (22.74)	145	72 (49.66)

Values are presented as number (%).

Table 5. Studies of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Author	Healthy implants		Peri-implantitis implants	
	Total No.	Detected frequency	Total No.	Detected frequency
Ziebolz et al. [21]	115	12 (10.43)	16	4 (25.00)
Verdugo et al. [22]	23	3 (13.04)	23	3 (13.04)
Cortelli et al. [24]	53	4 (7.55)	50	21 (42.00)
Zhuang et al. [25]	22	0 (0.00)	22	2 (9.09)
Casado et al. [26]	10	3 (30.00)	10	4 (40.00)
Overall	223	22 (9.87)	121	34 (28.10)

Values are presented as number (%).

Table 6. Studies of *Prevotella intermedia*

Author	Healthy implants		Peri-implantitis implants	
	Total No.	Detected frequency	Total No.	Detected frequency
Ziebolz et al. [21]	155	20 (17.39)	16	8 (50.00)
Verdugo et al. [22]	23	7 (30.43)	23	10 (43.48)
Cortelli et al. [24]	53	11 (20.75)	50	16 (32.00)
Zhuang et al. [25]	22	0 (0.00)	22	1 (4.55)
Overall	253	38 (68.58)	111	35 (31.53)

Values are presented as number (%).

Table 7. Studies of Epstein-Barr virus

Author	Healthy implants		Peri-implantitis implants	
	Total No.	Detected frequency	Total No.	Detected frequency
Verdugo et al. [22]	23	1 (4.35)	23	9 (39.13)
Jankovic et al. [23]	25	3 (12.00)	30	14 (46.67)
Kato et al. [28]	15	9 (60.00)	15	13 (86.67)
Overall	63	13 (20.63)	68	36 (52.94)

Values are presented as number (%).

항목에 대해서는 공백으로 처리하되 해당 미생물종에서의 Combined 항목의 표본에는 포함하여 계산하였다. 모든 통계 과정은 Microsoft Excel 2016 프로그램(Microsoft)을 사용하였다.

Results

1. 양적 합성(메타분석) 결과

어떤 미생물종 항목에서 오즈비에 대한 95% 신뢰구간에 1이 포함될 경우, 그 미생물종의 검출 빈도는 대조군(건강한 임플란트)에서와 실험군(임플란트 주위염)에서 유의한 차이가 없음을 뜻한다. 오즈비와 그 신뢰구간이 모두 1보다 높은 쪽에 있을 경우, 해당 미생물종이 대조군에 비해 실험군에서 유의하게 더 자주 검출됨을 의미한다. Figs. 2-7은 앞서 언급한 6종의 미생물종에 대한 각각의 메타분석 결과와 이를 나타낸 forest plot 그래프이다.

1) *Porphyromonas gingivalis*

*P. gingivalis*를 표적 미생물로 분석한 7개의 연구에 대한 메타분석이다. Cortelli 등[24], Ata-Ali 등[27], Kato 등[28]의 연구에서는 실험군에서의 *P. gingivalis*의 검출 빈도가 대조군에 비해 유의하게 더 높았음이 나타났으나, 나머지 연구들에서는 유의한 차이가 없었음이 나타났다. 통합 오즈비(combined OR)에 해당하는 'Combined' 항목은 전체 표본 수 중 *P. gingivalis*가 검출된 빈도에 대한 오즈비를 계산한 것으로, 95% 신뢰구간이 1을 포함하지 않고 모두 높은 쪽에 있으므로, *P. gingivalis*는 실험군에서 더 많이 검출됨이 통계적으로 유의하다고 할 수 있다(Table 8, Fig. 2).

2) *Tannerella forsythia*

*T. forsythia*를 표적 미생물로 분석한 5개의 연구에 대한 메타분석이다. 오직 Cortelli 등[24]의 연구에서만 실험군에서의 *T. forsythia*의 검출 빈도가 대조군에 비해 유의하게 더 높았음이 나타났다. 한편 'Com-

bined' 항목의 경우, 95% 신뢰구간이 1을 포함하지 않고 모두 높은 쪽에 있으므로, *T. forsythia*는 실험군에서 더 많이 검출됨이 통계적으로 유의하다고 할 수 있다(Table 9, Fig. 3).

3) *Treponema denticola*

*T. denticola*를 표적 미생물로 분석한 6개의 연구에 대한 메타분석이다. Verdugo 등[22], Cortelli 등[24]의 연구에서만 실험군에서의 *T.*

*denticola*의 검출 빈도가 대조군에 비해 유의하게 더 높았음이 나타났다. 한편 'Combined' 항목의 경우, 95% 신뢰구간이 1을 포함하지 않고 모두 높은 쪽에 있으므로, *T. denticola*는 실험군에서 더 많이 검출됨이 통계적으로 유의하다고 할 수 있다(Table 10, Fig. 4).

4) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

*A. actinomycetemcomitans*를 표적 미생물로 분석한 5개의 연구

Table 8. Meta-analysis of the detection of *Porphyromonas gingivalis*

Author	Sample size		OR	CI min	CI max
	Healthy implants	Peri-implantitis implants			
Ziebolz et al. [21]	115	16	1.314	0.428	4.034
Verdugo et al. [22]	23	23	0.830	0.250	2.757
Cortelli et al. [24]	53	50	9.196	3.331	25.388
Zhuang et al. [25]	22	22	1.587	0.415	6.068
Casado et al. [26]	10	10	0.444	0.034	5.880
Ata-Ali et al. [27]	54	24	4.800	1.468	15.693
Kato et al. [28]	15	15	38.500	3.749	395.424
Combined			1.923	1.392	2.841

OR, odds ratio; CI, confidence interval; min, minimum; max, maximum.

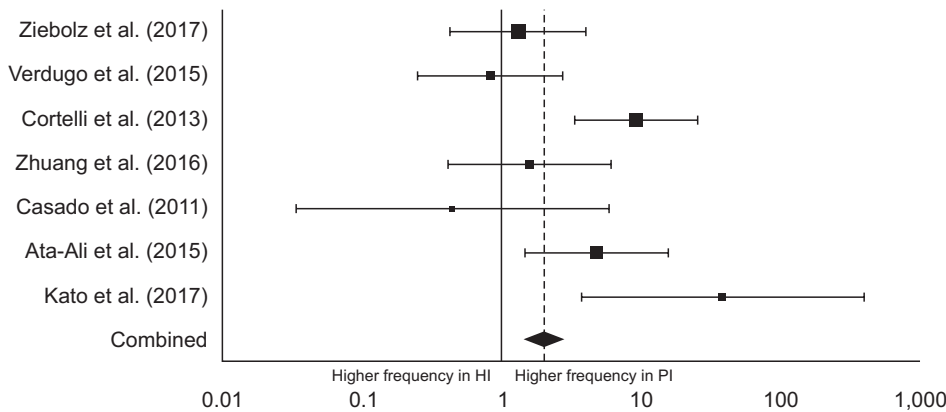


Fig. 2. Meta-analysis of the detection of *Porphyromonas gingivalis*. HI, healthy implants; PI, peri-implantitis.

Table 9. Meta-analysis of the detection of *Tannerella forsythia*

Author	Sample size		OR	CI min	CI max
	Healthy implants	Peri-implantitis implants			
Ziebolz et al. [21]	115	16	1.950	0.644	5.721
Verdugo et al. [22]	23	23	3.300	0.371	34.355
Cortelli et al. [24]	53	50	8.167	2.546	26.200
Casado et al. [26]	10	10	2.250	0.170	29.769
Ata-Ali et al. [27]	54	24	1.750	0.604	5.071
Combined			2.081	1.345	3.221

OR, odds ratio; CI, confidence interval; min, minimum; max, maximum.

에 대한 메타분석이다. Cortelli 등[24]의 연구에서만 실험군에서의 Aa의 검출 빈도가 대조군에 비해 유의하게 더 높았음이 나타났다. 한편 ‘Combined’ 항목의 경우, 95% 신뢰구간이 1을 포함하지 않고 모두 높은 쪽에 있으므로, *A. actinomycetemcomitans*는 실험군에서 더 많이 검출됨이 통계적으로 유의하다고 할 수 있다(Table 11, Fig. 5).

이다. Ziebolz 등[21]의 연구에서만 실험군에서의 *P. intermedia*의 검출 빈도가 대조군에 비해 유의하게 더 높았음이 나타났다. 한편 ‘Combined’ 항목의 경우, 95% 신뢰구간이 1을 포함하지 않고 모두 높은 쪽에 있으므로, *P. intermedia*는 실험군에서 더 많이 검출됨이 통계적으로 유의하다고 할 수 있다(Table 12, Fig. 6).

5) *Prevotella intermedia*

*P. intermedia*를 표적 미생물로 분석한 4개의 연구에 대한 메타분석

6) Epstein-Barr virus

EBV를 표적 미생물로 분석한 3개의 연구에 대한 메타분석이다.

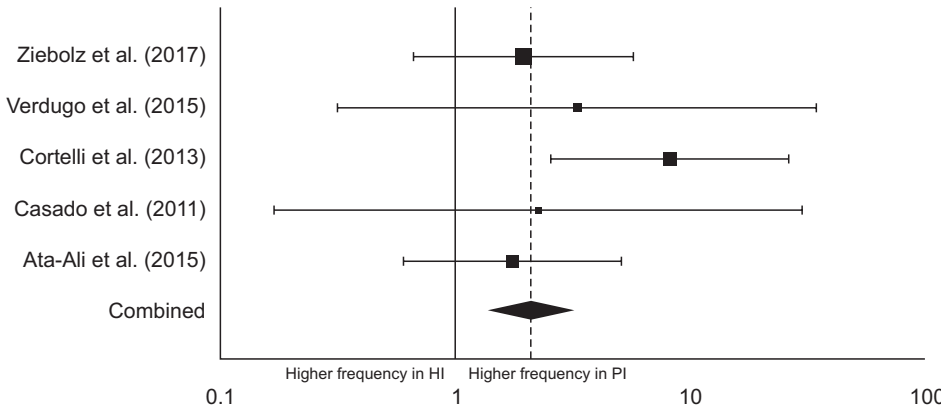


Fig. 3. Meta-analysis of the detection of *Tannerella forsythia*. HI, healthy implants; PI, peri-implantitis.

Table 10. Meta-analysis of the detection of *Treponema denticola*

Author	Sample size		OR	CI min	CI max
	Healthy implants	Peri-implantitis implants			
Ziebolz et al. [21]	115	16	2.710	0.936	7.845
Verdugo et al. [22]	23	23	6.750	1.820	25.035
Cortelli et al. [24]	53	50	11.270	3.843	33.051
Zhuang et al. [25]	22	22	1.407	0.276	7.182
Casado et al. [26]	10	10	1.000	0.148	6.772
Ata-Ali et al. [27]	54	24	2.500	0.824	7.587
Combined			3.350	2.180	5.150

OR, odds ratio; CI, confidence interval; min, minimum; max, maximum.

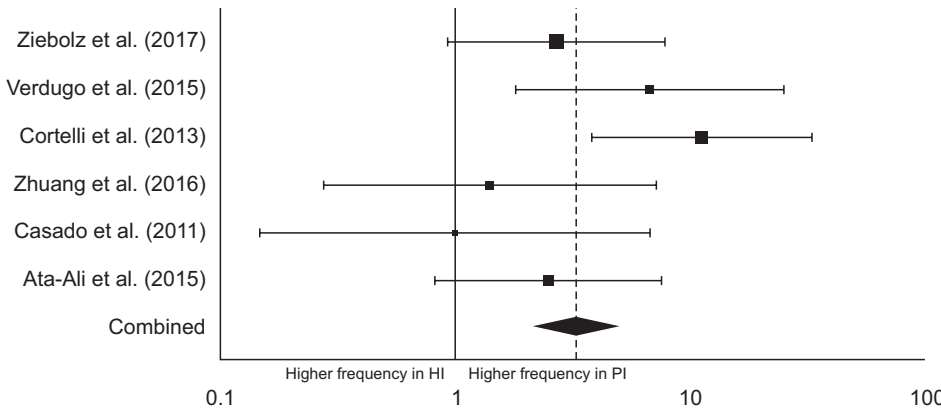


Fig. 4. Meta-analysis of the detection of *Treponema denticola*. HI, healthy implants; PI, peri-implantitis.

Table 11. Meta-analysis of the detection of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Author	Sample size		OR	CI min	CI max
	Healthy implants	Peri-implantitis implants			
Ziebolz et al. [21]	115	16	2.860	0.796	10.289
Verdugo et al. [22]	23	23	1.000	0.180	5.563
Cortelli et al. [24]	53	50	8.870	2.770	28.402
Zhuang et al. [25]	22	22	-	-	-
Casado et al. [26]	10	10	1.556	0.244	9.913
Combined			3.571	1.975	6.456

OR, odds ratio; CI, confidence interval; min, minimum; max, maximum; -, unable to calculate OR since the data include '0'.

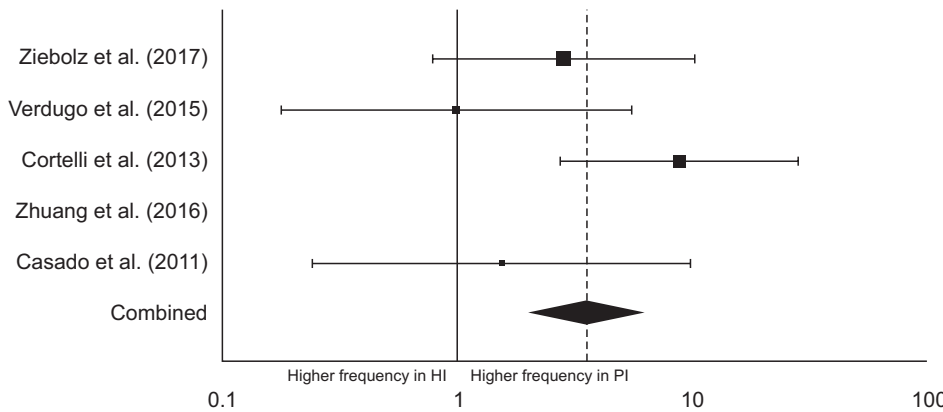


Fig. 5. Meta-analysis of the detection of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. HI, healthy implants; PI, peri-implantitis.

Table 12. Meta-analysis of the detection of *Prevotella intermedia*

Author	Sample size		OR	CI min	CI max
	Healthy implants	Peri-implantitis implants			
Ziebolz et al. [21]	115	16	4.750	1.594	14.159
Verdugo et al. [22]	23	23	1.758	0.523	5.907
Cortelli et al. [24]	53	50	1.797	0.737	4.380
Zhuang et al. [25]	22	22	-	-	-
Combined			2.121	1.245	3.612

OR, odds ratio; CI, confidence interval; min, minimum; max, maximum; -, unable to calculate OR since the data include '0'.

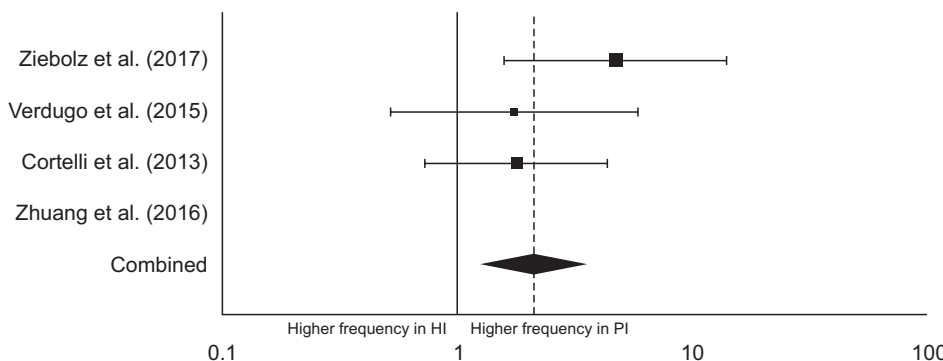


Fig. 6. Meta-analysis of the detection of *Prevotella intermedia*. HI, healthy implants; PI, peri-implantitis.

Table 13. Meta-analysis of the detection of Epstein-Barr virus

Author	Sample size		OR	CI min	CI max
	Healthy implants	Peri-implantitis implants			
Verdugo et al. [22]	23	23	14.143	1.612	124.112
Jankovic et al. [23]	25	30	6.417	1.577	26.111
Kato et al. [28]	15	15	4.333	0.708	26.532
Combined			4.327	1.995	9.383

OR, odds ratio; CI, confidence interval; min, minimum; max, maximum.

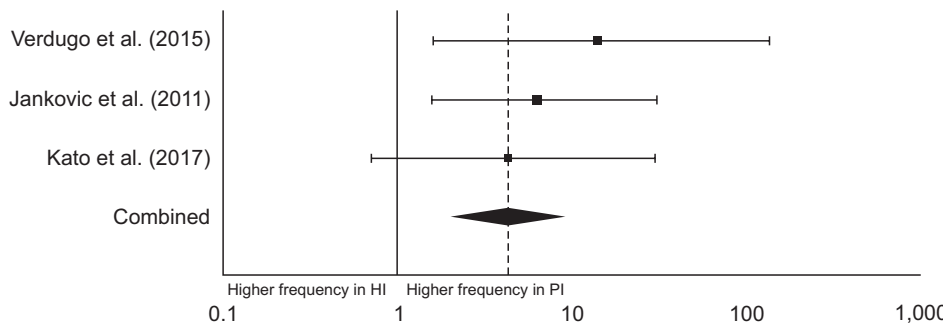


Fig. 7. Meta-analysis of the detection of Epstein-Barr virus. HI, healthy implants; PI, peri-implantitis.

Verdugo 등[22], Jankovic 등[23]의 연구에서는 실험군에서의 EBV의 검출 빈도가 대조군에 비해 유의하게 더 높았음이 나타났다. 한편 ‘Combined’ 항목의 경우, 95% 신뢰구간이 1을 포함하지 않고 모두 높은 쪽에 있으므로, EBV는 실험군에서 더 많이 검출됨이 통계적으로 유의하다고 할 수 있다(Table 13, Fig. 7).

2. 메타분석의 결과 종합

종합하면, 메타분석을 시행한 6종의 미생물(*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, EBV)에서 모두 건강한 임플란트에 비해 임플란트 주위염에서 검출되는 빈도에 대해 유의한 차이가 있다고 볼 수 있었다. 한편 *P. micra*, *F. nucleatum*, *C. rectus*, *E. nodatum*, *E. corrodens*, *Capnocytophaga* sp., *P. nigrescens*, *S. aureus*, human cytomegalovirus에 대해서는 문헌 수가 부족하여 메타분석을 시행하지 못하였다.

Discussion

우선 본 메타분석의 자료 수집 과정에서 취득한 ‘임플란트 주위염의 미생물학적 탐구’에 관련된 연구들은 크게 세 가지 방식으로 진행되었는데, 첫째는 단순히 임플란트 주위염 발생 부위에서만 미생물의 군집 구성에 대한 분석을 한 경우, 둘째는 임플란트 주위염과 치주염의 미생물의 군집 비교, 마지막은 임플란트 주위염과 건강한 임플란트에서의 미생물의 군집 비교이다. 이 세 가지 중 본 연구에서 마지막 비교 방식에 주목한 이유는 임상적으로 의미가 있을 것으로 보였기 때문이다. 건강한 상태에서 없었던 미생물이 임플란트 주위염이 발생한 이후에 많아

지기 시작했다면, 그 미생물종은 임플란트 주위염의 발병 혹은 진행, 악화에 연관성이 있을 수 있고, 정상 미생물총으로의 회복을 늦추는 데에 관여할 가능성이 있는 것이다[6]. 따라서 이는 앞서 서론에서 언급했듯이 임플란트 주위염에 대한 치료 프로토콜을 수립하는 데 있어 이론적 근거가 될 수 있을 뿐 아니라, 임플란트 주위염의 발병 과정을 밝혀내는 분자생물학적 연구에도 도움이 될 수 있다.

P. gingivalis, *T. forsythia*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*는 공통적으로 임플란트 주위염뿐 아니라 대표적인 치주염 유발균이기도 하다[37]. 앞의 3종을 묶어 치주염 유발의 주된 그룹으로 ‘red complex’라고 부른다. 앞서 서론에서 언급했듯이, 현재 임플란트 주위염의 치료 전략은 기존의 치주염의 치료 전략 프로토콜을 따르는 경우가 많은데, 두 질환의 원인균 조성이 유사하다는 것은 이것이 어느 정도 합리적이라는 의미이기도 하다[37]. 이는 항생제의 선택에 있어서도 마찬가지일 것이다. 물론 앞서 서술한 내용들을 뒷받침하기 위해서는 향후 임플란트 주위염의 치료 전과 후의 미생물학적 조성 변화에 대한 연구가 많이 이루어져야 할 것이다.

또한 주목할 만한 점은, 각각의 단독 실험 결과에서는 건강한 임플란트와 임플란트 주위염에서의 특정 미생물의 검출 빈도가 유의한 차이가 없다고 밝혀진 연구가 여럿 있었음에도 불구하고, 여러 연구들의 통합된 데이터에 대해 통계 처리한 결과에서는 유의한 차이가 있다고 결론지어졌다는 점이다. 예를 들자면, Table 9의 *T. forsythia*의 경우 한 저자의 연구를 제외한 나머지 연구들에서 모두 오즈비의 신뢰구간이 1을 포함하여 통계적 유의성을 띄지 않지만, 통합한 결과는 그렇지 않다. 이는 각각의 단독 실험에서는 표본의 크기가 크지 않아 신뢰구간이 넓게 형성되어 1을 포함하기가 쉬운 반면, 데이터를 통합할 경우 표본의 크기가 커지면서 신뢰구간의 범위가 작아져 1에서부터 멀어지기 쉽다고

해석할 수도 있다. 이와 같은 맥락으로 만약 분석 대상 논문 수를 대폭 늘려 표본의 크기를 더욱 늘렸다면 더 신뢰할 만한 결과를 얻어낼 수 있었을 것이다. 물론 그만큼 연구들의 동질성 검토에 더 많은 노력이 요구된다.

본 연구에서는 미생물의 분석 기법으로 PCR 방식만을 채택했다. 구강미생물의 분석 기법으로는 이 외에도 배양, DNA 혼성화, 파이로시퀀싱 등 여러 가지가 있고, 다른 연구들의 경우 각 분석 기법별로 분류하여 체계적 문헌 고찰이나 메타분석을 시행한 경우가 많았다. 본 연구에서 오직 PCR 방식만을 선택한 이유는 연구들의 동질성을 높이기 위함 이었고, 실험실 과정이 다른 검출 방식들에 비해 상당히 표준화되어 있기 때문이기도 하다. 미생물 검출 표적에 사용되는 DNA는 세균의 리보솜 16S rRNA 유전자에서 유래한 것이며, 각 세균들에 특이적인 프라이머의 염기서열은 이미 널리 알려져 있다[33]. 본 연구에서 참고한 모든 논문의 실험 과정은 이와 같은 표준화된 과정 아래 진행되었고 바이러스에 해당하는 human cytomegalovirus, EBV 또한 마찬가지로였다 [23]. 이는 각 연구들의 동질성을 높이는 데 크게 기여하였다.

본 연구의 한계에 대해 언급하고자 한다. 우선 본 연구에서 대상으로 한 미생물의 종 수는 단 6종에 그쳤다. 이전의 선행 연구들에 대한 한계가 메타분석의 대상이 된 미생물 종 수가 부족했다는 점이고[38], 특히 *S. aureus*에 대해 다른 연구들에서 중점적으로 다루지 않았다는 점을 극복하고자 했으나, 같은 조건에 맞는 연구를 찾아 보니 메타분석 기준에 부합하는 연구는 단 하나(Zhuang 등[25])밖에 얻지 못하였다. 참고로 해당 연구에서 *S. aureus*의 검출 빈도는 실험군과 대조군에서 유의한 차이가 없었다. *S. aureus*를 다룬 다른 연구들은 미생물 분석기법이 배양이거나, 건강한 부위와의 비교가 아닌 오직 임플란트 주위염 부위에서만 단독으로 측정했거나 하는 등 기준에서 벗어나 메타분석 할 수 없었다. *S. aureus*뿐 아니라 다른 많은 미생물종에 대해서도 이러한 이유로 제외되었다. 메타분석은 분석 대상이 되는 연구들 간의 동질성이 핵심적인 만큼 조건을 까다롭게 설정할 수밖에 없고, 이에 부합하는 연구들만을 걸러내다 보니 연구의 절대적인 개수가 줄어들고 분석 가능한 미생물 종도 6종에 그치게 된 것이다. 다양한 미생물종의 임플란트 주위염에서의 서식 경향에 대해 더 질적인 측면에서 다방면으로 이해하기 위해서는 메타분석보다는 체계적 문헌고찰을 시행하는 것이 더 적합해 보인다[17].

본 연구에서는 미생물의 검출 '빈도(frequency)'를 주된 변수로 설정했다. '빈도'라는 변수는 미생물의 조성에 대해 모든 것을 의미하지는 못한다. 특정 미생물의 존재 여부를 비교하고자 한다면 적합한 변수이 나 여러 미생물 종들의 미생물 군집 내 점유율을 반영하지 못한다. 임플란트 주위염에 관여하는 미생물 종을 항목화 하여 나열하기에는 적합하나, 군집 내에서 많은 비중을 차지하는 종들은 어떤 것들이 있는지 정리하기 위해서는 '점유율'과 같은 다른 변수가 필요하다는 것이다. 이처럼 변수를 다르게 설정하여 메타분석을 시행하는 것도 의미가 있을 것으로 보인다.

본 연구의 주제와 관련하여 향후 진행되면 좋을 것으로 보이는 연구 주제에 대해 몇 가지 제시하고자 한다. 우선 단순히 '강한 임플란트 주위 조직'과 '임플란트 주위염 발생 조직'으로 구분하는 것은 각 표본들

의 질환 진행 정도와 골 파괴 양상을 반영하지 못하기 때문에, 임플란트 주위염의 진행 정도(mild, moderate, severe 등)에 따라 미생물 군집의 조성의 변화를 알아보는 연구가 의미가 있을 것으로 보인다. 임플란트 주위염이 더 심한 단계로 진행되는 데에 관여하는 미생물종을 알아내는 것이 갖는 임상적인 의미가 클 것으로 보이고, 이 경우에는 변수를 미생물의 종별 '점유율'로 설정하는 것이 적합해 보인다. 실제로 Sato 등[36]의 연구에서 임플란트 주위염의 진단기준인 cumulative interceptive supportive therapy를 기반으로 표본을 질환의 진행과 골 소실 정도에 따라 A, B, C, D군으로 나누어 미생물 분석을 시행한 바 있다. 이와 같은 실험 연구들이 누적되어 데이터가 충분히 쌓인다면 메타분석을 통한 정량적 비교가 가능할 것으로 기대된다.

건강한 상태의 임플란트 주위 조직과, 임플란트 주위염이 발생한 조직에서 검출되는 미생물의 종류에 유의한 차이가 있는지에 대한 메타분석을 시행하였다. *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, EBV종은 건강한 임플란트 주위 조직에 비해 임플란트 주위염 발생 조직에서 더 유의미하게 빈번하게 검출됨이 나타났다. 한편 *S. aureus*, *F. nucleatum*, *C. rectus* 등에 대해서는 표본이 부족하거나 연구 간 이질성 문제로 메타분석을 시행하지 못했다.

Acknowledgements

이 논문은 2020년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(No.: 2020R111A3072936).

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

1. Moraschini V, Poubel LA, Ferreira VF, Barboza Edos S. Evaluation of survival and success rates of dental implants reported in longitudinal studies with a follow-up period of at least 10 years: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2015;44:377-88. doi: 10.1016/j.ijom.2014.10.023
2. Lekholm U, Gröndahl K, Jemt T. Outcome of oral implant treatment in partially edentulous jaws followed 20 years in clinical function. *Clin Implant Dent Relat Res* 2006;8:178-86. doi: 10.1111/j.1708-8208.2006.00019.x
3. Charalampakis G, Leonhardt Å, Rabe P, Dahlén G. Clinical and microbiological characteristics of peri-implantitis cases: a retrospective multicentre study. *Clin Oral Implants Res* 2012;23:1045-54. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02258.x
4. Smeets R, Henningsen A, Jung O, Heiland M, Hammächer

- C, Stein JM. Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis—a review. *Head Face Med* 2014;10:34. doi: 10.1186/1746-160X-10-34
5. Renvert S, Quirynen M. Risk indicators for peri-implantitis. A narrative review. *Clin Oral Implants Res* 2015;26 Suppl 11:15-44. doi: 10.1111/clr.12636
 6. Ata-Ali J, Candel-Martí ME, Flichy-Fernández AJ, Peñarocha-Oltra D, Balaguer-Martínez JF, Peñarocha Diago M. Peri-implantitis: associated microbiota and treatment. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011;16:e937-43. doi: 10.4317/medoral.17227
 7. Jung RE, Zembic A, Pjetursson BE, Zwahlen M, Thoma DS. Systematic review of the survival rate and the incidence of biological, technical, and aesthetic complications of single crowns on implants reported in longitudinal studies with a mean follow-up of 5 years. *Clin Oral Implants Res* 2012;23 Suppl 6:2-21. doi: 10.1111/j.1600-0501.2012.02547.x
 8. Javed F, Alghamdi AS, Ahmed A, Mikami T, Ahmed HB, Tenenbaum HC. Clinical efficacy of antibiotics in the treatment of peri-implantitis. *Int Dent J* 2013;63:169-76. doi: 10.1111/idj.12034
 9. AlGhamdi AS. Successful treatment of early implant failure: a case series. *Clin Implant Dent Relat Res* 2012;14:380-7. doi: 10.1111/j.1708-8208.2009.00267.x
 10. Heitz-Mayfield LJA, Salvi GE, Mombelli A, Faddy M, Lang NP. Anti-infective surgical therapy of peri-implantitis. A 12-month prospective clinical study. *Clin Oral Implants Res* 2012;23:205-10. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02276.x
 11. Renvert S, Lessem J, Dahlén G, Lindahl C, Svensson M. Topical minocycline microspheres versus topical chlorhexidine gel as an adjunct to mechanical debridement of incipient peri-implant infections: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2006;33:362-9. doi: 10.1111/j.1600-051X.2006.00919.x
 12. Leonhardt A, Dahlén G, Renvert S. Five-year clinical, microbiological, and radiological outcome following treatment of peri-implantitis in man. *J Periodontol* 2003;74:1415-22. doi: 10.1902/jop.2003.74.10.1415
 13. Kotsakis GA, Olmedo DG. Peri-implantitis is not periodontitis: scientific discoveries shed light on microbiome-biomaterial interactions that may determine disease phenotype. *Periodontol* 2000 2021;86:231-40. doi: 10.1111/prd.12372
 14. Mombelli A, Marxer M, Gaberthüel T, Grunder U, Lang NP. The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1995;22:124-30. doi: 10.1111/j.1600-051x.1995.tb00123.x
 15. Dreyer H, Grischke J, Tiede C, Eberhard J, Schweitzer A, Toikkanen SE, Glöckner S, Krause G, Stiesch M. Epidemiology and risk factors of peri-implantitis: a systematic review. *J Periodontol Res* 2018;53:657-81. doi: 10.1111/jre.12562
 16. Lafaurie GI, Sabogal MA, Castillo DM, Rincón MV, Gómez LA, Lesmes YA, Chambrone L. Microbiome and microbial biofilm profiles of peri-implantitis: a systematic review. *J Periodontol* 2017;88:1066-89. doi: 10.1902/jop.2017.170123
 17. Salvi GE, Fürst MM, Lang NP, Persson GR. One-year bacterial colonization patterns of *Staphylococcus aureus* and other bacteria at implants and adjacent teeth. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:242-8. doi: 10.1111/j.1600-0501.2007.01470.x
 18. Pérez-Chaparro PJ, Duarte PM, Shibli JA, Montenegro S, Lacerda Heluy S, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. The current weight of evidence of the microbiologic profile associated with peri-implantitis: a systematic review. *J Periodontol* 2016;87:1295-304. doi: 10.1902/jop.2016.160184
 19. Rakic M, Grusovin MG, Canullo L. The microbiologic profile associated with peri-implantitis in humans: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2016;31:359-68. doi: 10.11607/jomi.4150
 20. Nguyen-Hieu T, Borghetti A, Aboudharam G. Peri-implantitis: from diagnosis to therapeutics. *J Invest Clin Dent* 2012;3:79-94. doi: 10.1111/j.2041-1626.2012.00116.x
 21. Ziebolz D, Schmalz G, Gollasch D, Eickholz P, Rinke S. Microbiological and aMMP-8 findings depending on peri-implant disease in patients undergoing supportive implant therapy. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2017;88:47-52. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2017.02.008
 22. Verdugo F, Castillo A, Castillo F, Uribarri A. Epstein-Barr virus associated peri-implantitis: a split-mouth study. *Clin Oral Investig* 2015;19:535-43. doi: 10.1007/s00784-014-1250-1
 23. Jankovic S, Aleksic Z, Dimitrijevic B, Lekovic V, Milinkovic I, Kenney B. Correlation between different genotypes of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus and peri-implant tissue status. *Aust Dent J* 2011;56:382-8. doi: 10.1111/j.1834-7819.2011.01360.x
 24. Cortelli SC, Cortelli JR, Romeiro RL, Costa FO, Aquino DR, Orzechowski PR, Araújo VC, Duarte PM. Frequency of periodontal pathogens in equivalent peri-implant and periodontal clinical statuses. *Arch Oral Biol* 2013;58:67-74. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.09.004
 25. Zhuang LF, Watt RM, Mattheos N, Si MS, Lai HC, Lang NP. Periodontal and peri-implant microbiota in patients with healthy and inflamed periodontal and peri-implant tissues. *Clin Oral Implants Res* 2016;27:13-21. doi: 10.1111/clr.12508
 26. Casado PL, Otazu IB, Balduino A, de Mello W, Barboza

- EP, Duarte ME. Identification of periodontal pathogens in healthy periimplant sites. *Implant Dent* 2011;20:226–35. doi: 10.1097/ID.0b013e3182199348
27. Ata-Ali J, Flichy-Fernández AJ, Alegre-Domingo T, Ata-Ali F, Palacio J, Peñarrocha-Diago M. Clinical, microbiological, and immunological aspects of healthy versus peri-implantitis tissue in full arch reconstruction patients: a prospective cross-sectional study. *BMC Oral Health* 2015;15:43. doi: 10.1186/s12903-015-0031-9
28. Kato A, Imai K, Sato H, Ogata Y. Prevalence of Epstein-Barr virus DNA and Porphyromonas gingivalis in Japanese peri-implantitis patients. *BMC Oral Health* 2017;17:148. doi: 10.1186/s12903-017-0438-6
29. Jankovic S, Aleksic Z, Dimitrijevic B, Lekovic V, Camargo P, Kenney B. Prevalence of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in subgingival plaque at peri-implantitis, mucositis and healthy sites. A pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2011;40:271–6. doi: 10.1016/j.ijom.2010.11.004
30. da Silva ES, Feres M, Figueiredo LC, Shibli JA, Ramiro FS, Faveri M. Microbiological diversity of peri-implantitis biofilm by Sanger sequencing. *Clin Oral Implants Res* 2014;25:1192–9. doi: 10.1111/clr.12231
31. Apatzidou D, Lappin DF, Hamilton G, Papadopoulos CA, Konstantinidis A, Riggio MP. Microbiome of peri-implantitis affected and healthy dental sites in patients with a history of chronic periodontitis. *Arch Oral Biol* 2017;83:145–52. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.07.007
32. Tamura N, Ochi M, Miyakawa H, Nakazawa F. Analysis of bacterial flora associated with peri-implantitis using obligate anaerobic culture technique and 16S rDNA gene sequence. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013;28:1521–9. doi: 10.11607/jomi.2570
33. Al-Ahmad A, Muzaffariy F, Anderson AC, Wölber JP, Ratka-Krüger P, Fretwurst T, Nelson K, Vach K, Hellwig E. Shift of microbial composition of peri-implantitis-associated oral biofilm as revealed by 16S rRNA gene cloning. *J Med Microbiol* 2018;67:332–40. doi: 10.1099/jmm.0.000682
34. Faveri M, Gonçalves LF, Feres M, Figueiredo LC, Gouveia LA, Shibli JA, Mayer MP. Prevalence and microbiological diversity of Archaea in peri-implantitis subjects by 16S ribosomal RNA clonal analysis. *J Periodontol Res* 2011;46:338–44. doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01347.x
35. Parthiban S, Ahmed N, Ramakrishnan T, Balakumar V, Raja M, Shekhar H. Herpes simplex 1 and periopathogen role in peri-implantitis. *J Contemp Dent Pract* 2017;18:399–404. doi: 10.5005/jp-journals-10024-2054
36. Sato J, Gomi K, Makino T, Kawasaki F, Yashima A, Ozawa T, Maeda N, Arai T. The evaluation of bacterial flora in progress of peri-implant disease. *Aust Dent J* 2011;56:201–6. doi: 10.1111/j.1834-7819.2011.01324.x
37. da Silva-Boghossian CM, do Souto RM, Luiz RR, Colombo AP. Association of red complex, A. actinomycetemcomitans and non-oral bacteria with periodontal diseases. *Arch Oral Biol* 2011;56:899–906. doi: 10.1016/j.archoralbio.2011.02.009
38. Sahrman P, Gilli F, Wiedemeier DB, Attin T, Schmidlin PR, Karygianni L. The microbiome of peri-implantitis: a systematic review and meta-analysis. *Microorganisms* 2020;8:661. doi: 10.3390/microorganisms8050661