

Mini Review

Int J Oral Biol 48:9-18, 2023
pISSN: 1226-7155 • eISSN: 2287-6618
<https://doi.org/10.11620/IJOB.2023.48.2.9>

Trends in the rapid detection of infective oral diseases

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

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

The rapid detection of bacteria in the oral cavity, its species identification, and bacterial count determination are important to diagnose oral diseases caused by pathogenic bacteria. The existing clinical microbial diagnosis methods are time-consuming as they involve observing patients' samples under a microscope or culturing and confirming bacteria using polymerase chain reaction (PCR) kits, making the process complex. Therefore, it is required to analyze the development status of substances and systems that can rapidly detect and analyze pathogenic microorganisms in the oral cavity. With research advancements, a close relationship between oral and systemic diseases has been identified, making it crucial to identify the changes in the oral cavity bacterial composition. Additionally, an early and accurate diagnosis is essential for better prognosis in periodontal disease. However, most periodontal disease-causing pathogens are anaerobic bacteria, which are difficult to identify using conventional bacterial culture methods. Further, the existing PCR method takes a long time to detect and involves complicated stages. Therefore, to address these challenges, the concept of point-of-care (PoC) has emerged, leading to the study and implementation of various chair-side test methods. This study aims to investigate the different PoC diagnostic methods introduced thus far for identifying pathogenic microorganisms in the oral cavity. These are classified into three categories: 1) microbiological tests, 2) microchemical tests, and 3) genetic tests. The microbiological tests are used to determine the presence or absence of representative causative bacteria of periodontal diseases, such as *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, and *T. denticola*. However, the quantitative analysis remains impossible, and detecting pathogens other than the specific ones is challenging. The microchemical tests determine the activity of inflammation or disease by measuring the levels of biomarkers present in the oral cavity. Although this diagnostic method is based on increase in the specific biomarkers proportional to inflammation or disease progression in the oral cavity, its commercialization is limited due to low sensitivity and specificity. The genetic tests are based on the concept that differences in disease vulnerability and treatment response are caused by the patient's DNA predisposition. Specifically, the IL-1 gene is used in such tests. PoC diagnostic methods developed to date serve as supplementary diagnostic methods and tools for patient education, in addition to existing diagnostic methods, although they have limitations in diagnosing oral diseases alone. Research on various PoC test methods that can analyze and manage the oral cavity bacterial composition is expected to become more active, aligning with the shift from treatment-oriented to prevention-oriented approaches in healthcare.

Keywords: Rapid detection, Infective oral diseases, Point-of-care

Received June 9, 2023; Revised June 14, 2023; Accepted June 14, 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.

서론

1891년 미생물학자 Miller [1]에 의하여 구강내 세균 감염이 신체의 다른 질환 및 다양한 정신질환에 영향을 미친다는 병소감염설(theory of focal infection)이 주장된 이후에 구강 내 세균과 전신질환 사이의 관계를 밝히는 여러 연구가 진행되었다. 미생물학의 발전으로 구강내 미생물이 궤양성 대장염[2], 암[3], 심혈관계 질환[4], 알츠하이머병[5], 당뇨병[6], 류마티스성 관절염[7], 조산[8] 등과 같은 전신적인 문제와 관련이 있다는 사실이 밝혀지고 있다. 따라서 구강 내 세균은 미생물 군집의 조성의 변화나 불균형이 나타나면 구강질환 뿐만 아니라 전신질환 까지도 예상할 수 있다는 점에서 질환의 초기 진단 측면에서 중요한 의미를 갖는다.

구강 내 세균으로 야기되는 가장 대표적인 구강질환에는 치아우식과 치은염 및 치주염을 포함하는 치주 질환이 있다. 치아우식은 구강 내 세균에 의해 생성된 산에 의해 치아 구조가 용해되어 나타나는 질환을 말한다. 치아우식은 구강 내 환경과 미생물의 종류와 여부, 타액의 분비량 그리고 당분 함유 식품의 섭취 정도 등과 같이 복잡한 요소가 상호작용되어 일어난다. 대표적으로 산을 생성하는 세균에는 *Streptococcus mutans*군과 *Lactocaseibacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* 등이 있다[9].

치주염은 치주병인균과 숙주 사이의 면역의 염증성 반응으로 나타나는데, 개시 및 진행은 치은 연하의 치면세균막으로부터 야기된 병원균으로 시작된다[10]. 보통 치은 조직에서의 염증반응인 치은염에서 발전하여 치주조직을 포함하는 파괴와 치조골의 소실이 일어나 치근단 방향으로 상피부착이 이동해 치주염이 된다[11].

치주 질환을 일으키는 대표적인 치주병인균에는 *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Tannerella forsythia* 그리고 *Treponema denticola* 등이 있다(Table 1) [12,13]. 치주 질환의 경우, 질환의 전개가 느리지만 증상이 없으므로 빠른 진단이 이뤄질수록 치료의 예후가 더 좋다고 알려져 있다[14]. 또한, 건강한 성인에게도 *Porphyromonas gingivalis*, *Fretibacterium fastidiosum*, *Filifactor alocis* 및 *Tannerella forsythia* 등의 치주병인균이 low-level로 존재한다[15]. 따라서 치주 질환의 원인이 되는 혐기성 세균이 존재하는 치면세균막의 불균형이 일어나면 질환이 야기되므로 세균 조성의 변화를 알아내는 일은 매우 중요하다.

전통적으로 구강 내 세균을 검출하는 방법으로 세균배양법이 있는데, 이는 새로운 세균 검출 능력과 항생제 저항성으로 'gold standard'라고 불릴 정도로 미생물 동정에 자주 사용된다. 그러나 혐기성 세균에 대해서는 10^3 - 10^4 정도의 세포가 있어야 배양이 된다는 민감도의 문제가 있어 대부분의 원인균이 혐기성 세균인 치주 질환에서는 적합하지 않은 방법이다[16]. 최근에는 세균 배양을 하지 않는 culture-independent technique으로 DNA-DNA hybridization, in-situ hybridization 그리고 중합효소연쇄반응(Polymeric chain reaction; PCR)을 이용한 방법을 이용한다[17]. 1990년대 중반부터 미생물 검출 방법의 발전으로 적은 양의 세균을 가지고도 검출이 가능한 PCR의 발전으로 세균 배양

Table 1. Oral pathogens associated with periodontitis

Very strong association	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> <i>Porphyromonas gingivalis</i> Spirochaetes of acute necrotizing gingivitis
Strong association	<i>Tannerella forsythia</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Campylobacter rectus</i> <i>Eubacterium nodatum</i> <i>Treponema</i> sp.
Moderate association	<i>Streptococcus intermedius</i> <i>Prevotella nigrescens</i> <i>Peptostreptococcus micros</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Eubacterium</i> sp. <i>Eikenella corrodens</i>
Unclear association	<i>Selenomonas</i> sp. Gr (-) enteral microorganisms <i>Staphylococcus</i> sp. <i>Curvibacter gracilis</i>

Data from the article of Consensus report. (Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. Ann Periodontol 1996;1:926-32) [13].

이 가지는 한계를 넘어설 수 있게 되었다[18]. 초기 PCR은 세균 존재 유무만을 판단하는 정성적인 방법에 국한되었으며 PCR을 이용한 구강 내 세균 동정은 chair-side에서 시행하기 어렵고 시간과 비용이 든다는 단점이 있다. 그러나 최근에는 Real-time PCR의 등장으로 정량적인 방법으로 세균을 동정할 수 있게 되었으며[19], chair-side에서 간편하게 구강 내 세균 조성을 판단하여 환자의 동기부여 및 교육에 사용될 수 있는 dental point-of-care (PoC) device의 연구가 발전되고 있다 [20].

본 논문은 구강 내 세균 검출 방법 발전에 따른 각 방법의 장단점과 한계에 대해 알아보고 최근 발전하고 있는 PoC 진단법의 필요성 및 종류와 그 특성에 대하여 정리하여 보고자 한다.

본론

1. 기존 구강질환 진단의 방법과 한계

기존 치주 질환을 진단하기 위해서 사용된 임상적인 방법으로는 부착 수준의 측정, 치주낭 깊이 측정, 탐침 후 출혈, 방사선 사진을 통한 치조골 소실의 평가 등이 있다[21-23]. 그러나 이러한 방법들은 이미 파괴된 조직을 기준으로 진단을 내려야 한다는 한계를 가지며 질환의 진행성을 판단할 수 없으며, 개인별 질환 취약성에 대한 정보를 얻을 수 없다[24]. 또한, 임상 검사는 검사자마다 결과가 달라질 수 있으며 측정하는 프로브의 형태나 종류가 달라서 생기는 오차의 가능성이 있다[25].

임상적인 방법 이외에 전통적으로 가장 많이 이용되고 있는 구강질환 진단법에는 세균 배양법과 PCR이 있다. 앞서 언급하였듯이 세균배양법은 구강 내 세균을 획득한 후 배지에 도말하여 배양해 구강 내 세균의 존재의 유무를 판단하는 방법으로 쉽고 간단하다는 장점이 있다. 그러

나 혐기성 세균 배양기간이 최대 7일-10일까지 소요되므로 결과를 받기까지 시간이 오래 걸리고 검출할 수 있는 균이 한정되며 선택배지를 사용한다 하더라도 100% 특정 세균 종을 배양하는 데는 한계가 있다는 단점이 있어 시간과 비용이 더 많이 들게 된다.

적은 양의 세균을 가지고 검출이 가능한 PCR이 개발되면서 구강 내 미생물 동정에 많이 이용되고 있다[18]. 초기 PCR은 정성적인 방법에 국한되고 정량적인 확인은 어렵다는 단점이 있었으나 Real-time PCR 방법이 확립되어 원인균의 존재 여부를 확인하는 것은 물론 지수적 증식단계를 조사하여 정량적인 확인까지 가능하게 되었다[26]. Real-time PCR 에는 SYBR Green qPCR과 프라이머 쌍 이외의 표적핵산 염기서열에 특이적인 프로브를 첨가한 TaqMan법이 있다. Taq-Man법을 기초로 하여 동시적인 다균검출법으로서 다중실시간중합효소연쇄반응법(Multiplex real-time polymerase reaction; MRT-PCR) 시스템을 활용해 *P. intermedia*와 *S. mutans*의 16S rDNA를 표적유전자로 하여 검출하고 SYBR Green qPCR과 세균배양법과 비교한 연구에서는 MRT-PCR > SYBR Green qPCR > 세균배양법 순으로 타액 내 세균을 많이 검출하였다. 기존의 세균배양법이나 SYBR Green qPCR에 비해 시간과 비용이 단축되었다. Real-time PCR 이나 qPCR 과 같이 PCR 기술의 발전으로 보다 단시간에 구강 내 세균의 동정이 가능해짐에 따라 실험실 분석이 필요한 검사 대신 chair-side에서 시행할 수 있는 여러 가지 진단법들이 개발되고 있다.

2. 구강질환과 바이오마커

질환 진단을 위해서는 대부분 질환에서 특이적으로 나타나는 마커를 이용한다. 이러한 마커는 세 가지의 종류로 나뉘는데, 1) 질환의 현 상태를 알려주는 마커, 2) 질환의 발전 가능성을 알려주는 예측지표로서의 마커, 3) 현재 건강한 조직에서의 질환 개시 가능성을 알려 주는 마커이다[27].

바이오마커란, 정상 상태의 생리적 상태, 병적인 상태 혹은 치료 개입 시, 숙주세포의 약리학적 반응을 객관적으로 나타내고 평가될 수 있는 특징적인 생물학적 지표라고 볼 수 있다. 바이오마커는 지녀야 할 특징이 있는데, 유효해야하고 사용하기에 안전해야 하며, 쉽게 측정되야 하고, 마커로서 감당할 수 있어야 되고 비침습적으로 검출이 가능해야 하며 질환에 대한 높은 민감도와 특이성을 가져야 한다[28].

1) 바이오마커의 유래

(1) 타액

타액은 채취가 쉽고 치주조직에 어떤 외상을 가하지 않는 비침습적인 방법으로 다량으로 채취할 수 있다는 장점이 있는 체액으로서 질환이 있는 환자의 타액 내에는 1,000가지 이상의 바이오마커가 존재한다고 알려져 있다(Table 2) [29]. 또한, 혈액과 비교하였을 때, 타액은 응고되지 않으면서 감염성 인자들은 존재한다는 장점이 있다.

그러나 개인마다 타액의 양이나 조성의 변이가 매우 심하고 사람마다 환경에 따라 다른 변이가 나타난다는 단점이 있다. 이로 인해 횡적 및 종단연구 시 샘플의 표준화 및 정량화의 어려움이 있다[30]. 이 중에

Table 2. Common biomarkers released to oral saliva

Markers of periodontal soft tissue inflammation	Markers of alveolar bone loss
PGE ₂	Alkaline phosphatase
β-glucuronidase	Osteoprotegerin
IL-1β	Osteocalcin
IL-6	Collagen telopeptidase
TNF-α	Pyridinoline cross-links of type I collagen
Matrix Metalloproteinase (MMP-8,9 and 13)	RANKL
	osteonectin

Reused from the article of Srivastava et al. (Point of care- a novel approach to periodontal diagnosis-a review. J Clin Diagn Res 2017;11:ZE01-6) [29].

서도 타액이 가지는 가장 큰 한계는 바이오마커로 사용되는 물질의 양이 적어 진단검사의 민감도가 매우 높아야 한다는 것이다[31]. 뿐만 아니라, 유신과 세포잔유물들로부터 분리를 해내야 한다는 어려움이 있다.

(2) Gingival crevicular fluid

치은열구삼출액(Gingival crevicular fluid, GCF)은 치주조직으로부터 유래된 염증성 삼출액으로서 serum 및 세포 반응의 산물로 나타난 물질들, 염증 매개자들 그리고 세균에 대항하는 항체 등으로 구성되어 있다[32]. 치주 질환의 병인론에 있어서 숙주 반응은 중요한 결정요인 이므로 치은열구삼출액의 염증 매개자의 양은 질환의 위험을 판단할 수 있는 기준이 된다[33]. Zia 등[34]에 의하면 치은열구삼출액 내에는 65 개 이상의 화학물질이 있어 이 마커들은 다양한 치주 질환의 예후를 판단하는 표지자로서 사용될 수 있다고 보고되었다(Table 3). 그러나 치은열구삼출액 채취 시 치아의 여러 부위에서 치은열구삼출액을 얻어야 하고 실험실 내 샘플을 처리하는 과정이 오래 걸려 시간이 오래 걸리고 비싸다는 단점이 있다[35].

(3) Peri-implant crevicular fluid

PICF (Peri-implant crevicular fluid)란, 치은조직의 혈관계에서 시작되어 삼투적으로 매개된 삼출액으로서 자연치아의 치은열구삼출액 과 유사한 조성을 가진다[36]. 특히 PICF 내의 염증성 매개자인 IL-1β 와 plasma tumor necrosis factor-α의 경우 임플란트 주위 치주낭의 PICF에서 많이 채취할 수 있었고 이는 임플란트 주위염의 초기 진단에 유용하게 사용될 것으로 예상된다[37].

2) 구강 내 Biomarker의 종류

(1) PGE₂

Prostaglandin은 arachidonic acid의 대사로부터 유래된 것으로 염증이 있는 부위에서 자주 관찰된다[38]. 특히 조직 파괴와 관련되어 섬유모세포의 대사의 변화 및 골흡수와 관련이 깊다[39]. 최근에는 치은열구삼출액의 PGE₂ 양이 치주질환을 야기하는 염증과 상관관계가 있다고 보고된다[40]. Kumar et al. [41]에 의하면 치은열구삼출액의 PGE₂

Table 3. Common biomarkers released to gingival crevicular fluid

Inflammatory and immune products	Bacterial proteases	Host derived enzymes	Tissue breakdown products	Bone specific proteins
<ul style="list-style-type: none"> • Prostaglandin E₂ • Cytokines • Antibacterial antibodies • Acute phase proteins • Complement • Vasoactive intestinal peptide 	<ul style="list-style-type: none"> • Alkaline phosphatase • Aminopeptidases • Chondroitin sulphatase • Collagenase • Fibrinolysin • Glucosidases 	<ul style="list-style-type: none"> • Alkaline phosphatase • β-Glucuronidase • Elastase • Cathepsins • Serine protease (G) • Nonspecific neutral • Proteinases 	<ul style="list-style-type: none"> • Glycosaminoglycan • Hyaluronic acid • Chondroitin-4-sulfate • Chondroitin-6-sulfate • Hydroxyproline • Fibronectin fragments • Connective tissue and bone proteins 	<ul style="list-style-type: none"> • Pyridinium crosslink urine pyridinoline • Pyridinium cross-link collagen peptide fragment • Tartrate-resistant acid phosphatase • Hydroxyproline • Galactosyl hydroxylysine • Glycosaminoglycans

Reused from the article of Srivastava et al. (Point of care- a novel approach to periodontal diagnosis-a review. J Clin Diagn Res 2017;11:ZE01-6) [29].

를 비침습적으로 채취할 수 있으며 조직 파괴를 알려주는 마커로서 사용되므로 치주치료의 효과를 결정하기 위한 치은 염증의 마커로서 사용될 수 있다고 한다.

(2) Interleukin-1β

IL-1β는 염증반응 시에 나타나는 매개자로서 만성 혹은 급성으로 조직의 염증이 생기면 단핵구와 대식세포에서 분비된다[42]. Pro-inflammatory cytokine으로서 IL-1β는 치주염에서 증과 면역 조절 및 골 흡수에 관여한다[43]. IL-1β의 생물학적 효과는 조직 내 농도와 관련이 있으며 건강한 사람과 비교하여 치주염이 있는 경우 치은열구삼출액에서 더 많이 발견된다[44]. 일반적으로 IL-1β는 염증부위에서 혈류를 증가시키고, 백혈구와 중성구가 많이 모이게 하여 결국 골 흡수와 관련된 역할을 한다[45]. 따라서 치주염의 보조적 치료를 위해서는 IL-1β을 막을 수 있는 후향적인 연구가 필요하다[45].

(3) Interleukin-6

IL-6은 여러 면역반응이나 비면역반응의 염증에서 나타나는 급성단계의 반응물로 단핵구나 대식세포에서 분비되는 cytokine이다[46]. IL-6와 치주염의 상관관계에 대해서는 많은 연구가 진행되었는데, 특히 치주염의 정도(mild, moderate, severe)에 따라 IL-6의 양이 증가한다는 결과는 IL-6가 진단으로서의 마커로 사용될 수 있는 가능성을 알려준다[47]. 실제로 IL-6는 치주염 혹은 임플란트 주위 질환을 진단하는 바이오마커로서 유효하고 민감도 및 특이성이 높다[30].

(4) Tumor necrosis factor-α

TNF-α는 염증성 매개자로 염증이 있는 부위의 내피세포 및 치은 섬유모세포로부터 방출된다. 이 물질은 치주염과 상관관계가 높은 matrix metalloproteinase (MMP)나 prostaglandin E factor 2와 같은 매개자들의 부착을 유도해 양을 증가시키는 상향조절을 하게 한다[48]. 결과적으로 파골세포가 유도되어 골흡수가 진행된다. 이와는 반대로 osteocalcin 유전자의 발현을 하향조절하여 골 생성을 억제하게 된다. 결국 TNF-α의 증가는 치주염의 악화를 유도하는 요인이라고 볼 수 있다[49].

(5) MMP-8,9 and 13

MMP는 생리적인 재생이 일어날 때 세포외기질과 기저막을 구성하는 단백질의 분해와 관련된 모든 단백질 군을 의미한다[50]. 특히 MMP-8은 대표적인 교원 분해성의 효소로서 치주염과 임플란트 주위 조직의 파괴와 높은 상관관계를 가진다[51]. MMP-8의 양은 질환이 심각할수록 양이 증가하므로 MMP-8를 측정하는 것은 과거, 현 상태, 그리고 질환의 예후를 평가할 수 있는 마커로서 사용될 수 있다[52]. 최근에는 MMP-8 기반의 검사는 chair-side kit로서 사용이 가능하며 민감도가 높고 시간 절약이 되며, 특이성과 정확도가 높아 치주질환을 진단하는 데에 효과적이다. 단순히 치주조직의 상태를 알려줄 뿐만 아니라 질환에 대한 개인의 취약성 및 치료의 예후에 대한 정보도 제공하므로 요즈음 각광을 받는 바이오마커이다[51,52].

3. Point-of-Care 진단법

1) Point-of-Care 진단법의 소개

새로운 진단 기술들은 바이오마커 등을 사용해 질환의 활성도를 평가하며 (1) 현재 질환 활성도를 알려주는 지표, (2) 질환의 예후를 알려주는 지표, (3) 건강한 조직에서 질환이 시작될 가능성을 알려주는 지표를 포함해 3가지 범주로 나뉘질 수 있다[27]. 질환을 진단하는 이상적인 진단법은 다음과 같은 요건이 충족되어야 한다[35].

1. 높은 특이성과 민감도, 재현 가능성과 정량적이어야 한다.
2. 검사 방법이 단순해야 하고 신속해야 하며, 1단계 혹은 2단계의 간단한 절차로 이뤄져야 한다.
3. 비침습적이어야 한다.
4. 검사 표본을 다루기 쉬워야 하고, 저장과 이동이 용이해야 한다.
5. Chair-side에서 시행할 수 있어야 한다.
6. 경제적이어야 한다.

PoC 기술은 체내의 바이오마커를 측정함으로써 질환의 상태를 판단할 수 있는 진단 방법 중 하나로 위에 제시된 이상적인 진단법의 기준에 상당히 충족되는 진단법이다[30]. 임신 테스트기, 코로나 바이러스 자가 키트 검사도 PoC 진단법 중의 하나라고 볼 수 있다. World Health

Organization에서는 PoC 장치들이 가져야 할 필요조건들에 대해 'AS-SURED' 기준을 제시하였는데, 이는 구하기 쉽고(affordable), 검사 민감도가 높으며(sensitive), 질환 특이적이어야 하고(specific), 사용하기 편하며(user friendly), 결과가 단시간에 나와야 하고(rapid), 내구성이 좋아야 하고(robust), 복잡한 장비가 필요하지 않고(no complex equipment), 사용자가 실현 가능한 장치(deliverable end-users)여야 한다[53].

PoC 진단법의 장점으로는 혈액을 채취하거나 샘플을 실험실적으로 처리하는 과정이 필요하지 않아 경제적이다[20]. 따라서 진단을 내리는데에 시간이 절약되므로 chair-side에서 치료계획을 세우는 데 큰 도움이 될 수 있다. 또한, PoC 진단법을 사용할 때에 기술이 크게 필요하지 않아 사용하는 데 접근이 용이하며 여러 환자군에게서 사용이 가능하다는 점과 특히 구강 내에서 채취되는 타액이나 치은열구액 등은 비침습적으로 쉽게 채취가 가능하다는 장점이 있다.

그러나 아직 실제 임상에서 PoC 진단을 사용하기에는 한계가 있다. 기존에 사용되는 임상적인 검사를 바탕으로 유효한 검사 방법이 되어야 하나, 아직까지 검사의 유효성을 증명하기에는 어려움이 있어 실제 상용화가 되기까지의 시간을 확신할 수 없다[28].

2) Point-of-Care 진단법의 종류 및 원리

PoC 진단법에는 일반적으로 3개의 그룹인 1) Microbiological Test Kits, 2) Biochemical Test Kits, 3) Genetic Test Kits으로 나뉘어진다.

(1) Microbiological Test Kits

Microbiological test kits는 치주질환을 일으키는 대표적인 치주 병원균인 *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* 및 *T. denticola* 등의 존재 유무를 알아낸다[30]. 특히 이 kit들은 치료 중에 치주 병원균의 감소 혹은 박멸이 되었는지 확인하는 데에 주로 사용된다.

① Omnigene® diagnostics

이 시스템은 치은연하에 존재하는 치주 병원균을 탐지해내는 DNA 탐침 시스템으로서, 8개의 대표적인 치주질환 병원균인 *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *C. rectus*, *B. forsythus*, 그리고 *T. denticola*에 특이적인 DNA 탐침을 제공한다[54].

샘플은 타액으로부터 채취하며 연구실로 보내 동정한 결과를 환자나 의사에게 문서화되어 전달된다. 분석은 수 시간 혹은 수 일 내에 이뤄지며 환자의 구강 내의 치주 병원균의 수를 동정할 수 있다는 장점이 있으므로 의사는 치료를 하면서 중간 중간 필요시 검사를 시행함으로써 환자의 구강 내 세균 변화를 알아낼 수 있다[54].

② MyPerioPath

MyPerioPath는 타액에서 채취한 샘플을 이용한 DNA test로서 치주 감염의 원인이 되는 병원균의 양과 질을 평가한다. 또한, 치료의 효과를 평가할 수 있는데, 질환의 심각성에 따라 필요에 따라 MyPerioPath를

재평가함으로써 치료 전후의 상태를 평가할 수 있다. MyPerioPath에 의해 동정된 병원균은 2가지로 통성혐기성균과 혐기성균으로 분류되어 항생제 선택 시 도움이 된다[55].

③ PerioScan®

PerioScan은 치면세균막에 존재하는 trypsin-like protease의 활성을 통한 BANA (N-benzoyl-DLarginine-2 naphthylamide)의 수화 반응을 이용해 병원균을 알아내는 chair-side 보조진단법이다(Fig. 1). 수화 반응이 일어나면 무색의 BANA가 chromophore-β-naphthylamide를 방출함으로써 붉은색으로 변하는 것을 통해 병원균의 존재를 알아내는 원리이다. 수화반응을 일으키는 병원균에는 *P. gingivalis*나 *T. denticola* 및 *T. forsythia*가 특이적이며, 15분 안에 결과가 나온다는 장점을 가진다[55].

하지만 존재의 유무는 판단할 수 있으나 정량적인 분석이 부족하고 *P. gingivalis*나 *T. denticola* 및 *T. forsythia*이외의 병원균은 동정해내기 어렵다. 또한, 분석하는 사람에 따라 분석 결과가 달라질 수 있어 결과의 정확성이 낮다[55].

④ Evalusite

Evalusite는 membrane-based 효소면역분석법으로 *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*에 특이적으로 반응해 탐지해낼 수 있는 chair-side 보조진단법이다. Paper point를 이용해 치은열구액을 채취한 후 detergent가 존재하는 sample tube에 처리한다. *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* 및 *P. intermedia*에 특이적인 항체가 코팅된 막에 치면 세균막에서 얻은 샘플을 처리하면 항원-항체 복합체가 형성되며 ELISA (enzyme-linked immunosorbent) 반응에 의해 색이 나타나게 되며 이를 통해 동정을 하게 된다[54].

이는 막을 이용해 대표적인 3가지 병원균을 검출해낸다는 장점은 있지만 여러 단계로 구성되어 복잡한 과정을 거치며, 검사자에 따라 결과가 달라질 수도 있다는 점, 또한 영구적인 결과를 보관할 수 없고 3가지 병원균 이외의 다른 병원균은 검출할 수 없다는 단점이 있다[54].

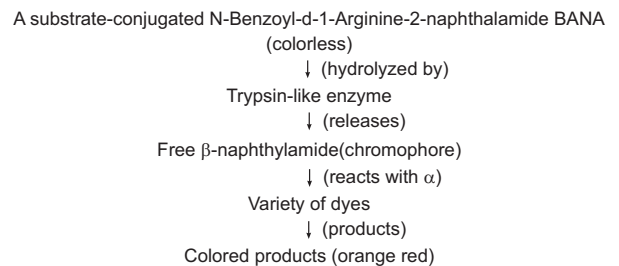


Fig. 1. Principle of PerioScan. Reused from the article of Srivastava et al. (Point of care- a novel approach to periodontal diagnosis-a review. J Clin Diagn Res 2017;11:ZE01-6) [29].

⑤ Toxicity Prescreening Assay

TOPAS (Toxicity Prescreening Assay)는 치은감염의 표지자로 서 여겨지는 세균의 독소와 단백질을 검출하여 간접적으로 평가하는 chair-side 보조진단법이다. 이 진단법의 원리는 활발하게 작용을 하는 병원균의 경우 대사의 활성이 높게 평가된다는 것으로 검사 결과로 나오는 색의 농도에 따라 치주 질환의 활성 정도를 파악할 수 있다는 장점이 있다.

(2) Biochemical Test Kits

Biochemical test kits는 타액이나 치은열구액에 있는 바이오마커를 이용하여 구강 내 세균을 동정하는 방법이다. 바이오마커에는 효소나 염증매개자 그리고 세포외기질 성분 등이 있으며 이들은 치주 조직에 변화를 대표할 수 있다. 일반적으로 이 보조진단법들은 복잡한 과정을 거쳐야 하고 민감도와 특이성이 낮아 임상에서 사용하기에는 한계가 있다[56].

① Periogard

Periogard는 AST (aspartate aminotransferase)의 측정이 기반이 되는 검사이다(Fig. 2). AST는 세포질내에 존재하는 효소로서 세포가 사멸할 때 방출된다고 알려져 있다. 치주 병인론에서 세포의 사멸은 매우 중요한 의미를 가지므로 치은열구액의 AST의 양은 초기 치주조직의 파괴를 알 수 있는 마커로서 충분한 가능성이 있다고 볼 수 있다[54]. 활성이 없는 부위에 비하여 활성이 있는 부위에서는 총 AST의 양이 측정 30초 안에 높게 증가한다[57].

Periogard의 원리는 AST 존재 하에 aspartate와 α -keto-glutaric acid가 반응하여 oxaloacetate와 glutamate가 형성된다. 색 변화를 일으키는 염색약을 첨가해 변화된 색의 강도와 AST 활성도를 비례한다고 보는 것이다. 그러나 실제로는 색 변화의 차이를 감별하기가 어렵고 검사가 복잡하다는 단점이 있어 사용하기에 한계가 있다[54].

② Pocket watch (PerioWatch)

Pocket Watch는 AST를 측정하는 보다 간단한 방법이다(Fig. 3). Pyridoxal phosphate의 존재 하에 AST는 α -keto-glutaric acid로부터

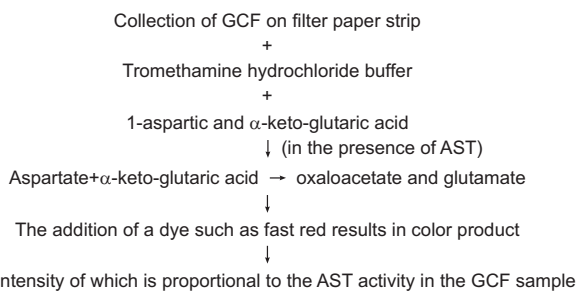


Fig. 2. Principle of Periogard.

Reused from the article of Srivastava et al. (Point of care- a novel approach to periodontal diagnosis-a review. J Clin Diagn Res 2017;11:ZE01-6) [29].

터 cysteine sulfuric acid의 아미노 그룹을 옮기는 촉매로 역할을 하여 β -sulfinyl pyruvate를 생성한다. Glutamate β -sulfinyl pyruvate로부터 생성되는 inorganic sulphite는 Malachite Green(MG)와 반응하여 초록색 염색제를 무색의 형태로 만들어 AST의 양을 평가할 수 있게 된다[54].

③ Periocheck

Periocheck는 치은열구액 내에 존재하는 elastase, proteinase 그리고 collagenase와 같은 neutral proteases를 알아내는 가장 빠른 chair-side 보조진단법이다(Fig. 4). 불용성의 파란색 염색약으로 표지한 collagen fibril로 코팅한 gel과 치은열구액에서 얻은 샘플을 함께 배양한다. 만일 치은열구액 내에 neutral protease가 있다면 용해성이 된 파란색의 염색제가 strip으로 퍼져 그 양에 비례하여 strip이 파란색으로 바뀌게 된다. 그러나 인접면 사이의 부위는 샘플을 채취할 수 없는 데, 이는 타액 오염의 가능성이 높기 때문이다[54].

④ Prognostik

Prognostik은 elastase와 같은 MMP의 양을 측정한다. Elastase는 다형핵백혈구의 리소솨로부터 방출되며 염증이 있는 곳에 축적되어 있다. 치은열구삼출액을 Filter paper strip으로 채취하여 형광표지자를 부착한 elastase의 기질이 포함된 완충용액 내에서 배양시킨다. 만일 elastase가 존재한다면, 4분-6분 동안 반응이 일어나면서 형광표지자가 elastase에 의해 잘려 형광을 나타내게 된다[54].

따라서, 형광의 양이 많다는 것은 치은열구삼출액 내 elastase의 양의 증가를 의미하며 질환의 활성도가 높은 곳이라고 알 수 있다[58]. 그러나 아직 임상에서 사용하기에는 한계가 있는 진단법이다.

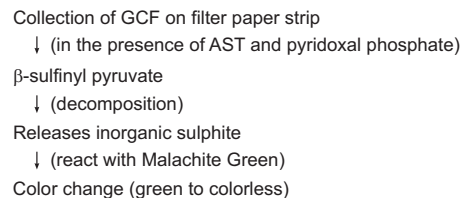


Fig. 3. Principle of pocket watch.

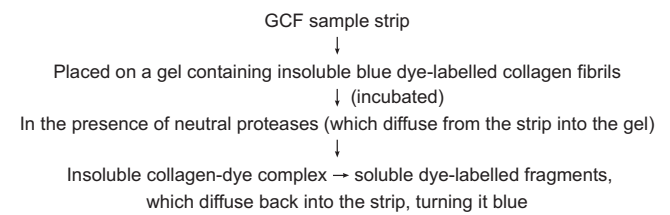


Fig. 4. Principle of Periocheck.

Reused from the article of Srivastava et al. (Point of care- a novel approach to periodontal diagnosis-a review. J Clin Diagn Res 2017;11:ZE01-6) [29].

⑤ PerioSafe® & ImplantSafe®

PerioSafe는 타액 내 존재하는 active matrix metalloproteinase-8 (aMMP-8)을 측정하는 환자 특이적인 방법이며 ImplantSafe는 치은열구액과 PICF 내에 존재하는 aMMP-8을 측정하는 위치 특이적인 보조진단법이다. 얻어진 Test-stick은 ORALyser 리더기를 통해 5분 동안 정량화되는데, 이는 믿음만한 결과를 내며 비침습적이고 안전하고 경제적인 PoC 진단 장치로서 사용될 수 있다[59].

(3) Genetic Test Kits

IL-1 α 와 IL-1 β 의 유전적 다형성은 치주 질환에 대한 개인 취약성과 관련이 있다[30]. 이들은 질환의 원인이 되거나 개시를 하진 않으나 초기 치주 질환을 악화시키는 데에 영향을 미친다고 알려져 있다[60].

① GenoType® & PST®

PST (Genetic Susceptibility Test)는 Interleukin (IL)-1의 대립유전자의 조합을 확인하여 치주 질환 및 염증의 위험도를 보는 유일한 유전학적 검사이다. 치주 질환과 관련된 IL-1 유전자의 위치는 (1) Interleukin 1 α gene, position - 889, (2) Interleukin 1 β gene, position + 3953이다. IL-1 유전자의 과발현은 골과 결합조직에서의 강한 면역 반응을 일으켜 병원균의 양이 적어도 심한 조직 파괴가 관찰될 수 있다[54]. 따라서 최근에는 환자 개인의 특성에 따라 나타나는 증상이 다양하며 치료에 대한 반응도 다양하기 때문에 유전학적 검사가 더욱 각광을 받고 있다.

② MyperiolD

MyperiolD는 타액을 이용하여 세균에 대한 특정 유전자 변이를 분석하는 유전자 기반 검사로서, 개인의 유전적인 치주 건강 상태를 평가하기 위해 사용되며, 환자마다 구강질환의 취약성을 평가하는 방법이다. 이러한 보조진단법은 치주 조직의 파괴와 관련하여 높은 위험도를 평가할 수 있는 장점이 있다[54].

고찰

구강 내 질환을 치료하는 데에 있어서 신속하고 정확한 진단과 진단을 기반으로 한 치료 계획 설정은 매우 중요한 부분이다. 앞서 언급되었듯이 치주 질환의 경우, 질환의 전개는 느리나 증상이 없어 빠른 진단이 이뤄질수록 치료의 예후가 더 좋으므로 특히 진단과 관련된 여러 진단법들이 연구 및 개발이 되고 있다. 타액, 치은열구삼출액 그리고 PICF와 같은 구강 내 fluid에는 진단 마커로서 이용 가능한 상당수의 바이오마커가 있다고 알려져 있다. 최근에는 Interleukin과 MMP-8,9(Matrix Metalloproteinase-8,9)와 같은 마커는 치주 질환의 활성도를 평가할 수 있는 지표로서 많은 연구가 진행되고 있다. 구강 내 세균의 동정을 하는 전통적인 방법에는 세균 배양법과 중합효소연쇄반응(PCR)이 있다. 이 방법들은 신속한 진단을 내리는 데 한계가 있으며 복잡한 과정을 거쳐 실제 임상에서 사용되기에는 무리가 있다. 따라서 chair-side에서 보다 간단하게 구강 내 세균을 동정하기 위한 PoC의 진단법과 기술이

발전되었으며, 현재 구강 내 PoC 진단법은 1) microbiological test, 2) microchemical test, 3) genetic test로 분류된다. Microbiological test의 경우, 치주 질환의 대표 원인균이라고 하는 *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* 및 *denticola*의 존재 유무를 판단하는 데 사용되지만, 아직까지 정량적인 분석이 불가하며 특정 병원균 이외의 병원균을 탐지하는 데는 어려움이 있다. 대표적으로 Omnigene® diagnostics, MyPeriopath, PerioScan® (BANA), Evalusite, TOPAS가 있다. Microchemical test는 구강 내 존재하는 바이오마커의 양을 판단하여 염증이나 질환의 활성도를 판단하게 된다. 구강 내에 염증이나 질환의 진행 정도에 비례하여 특정 바이오마커가 증가한다는 사실을 기반으로 이뤄지는 진단법이지만, 일반적으로 복잡한 과정을 거쳐야 하고 민감도와 특이성이 낮아 상용화의 한계가 있다. 대표적으로 Periogard, Pocket watch (PerioWatch), Periocheck, Prognostik, PerioSafe & ImplantSafe® 등이 있다. 마지막으로 Genetic test는 환자마다 질환 취약성의 차이, 치료에 대한 효과의 차이가 환자의 DNA의 소인에 따른 결과라는 생각을 기반으로 이뤄지는 유전학적 검사이다. 특히 IL-1의 경우, 치주 질환의 취약성과 관련이 있으므로 유전학적 검사를 통해 치주 조직을 파괴하는 단백질 발현하는 유전적 소인이 있다면, 환자에게 미리 교육하여 질환의 개시나 악화를 늦추는 데에 도움이 될 수 있다.

지금까지 chair-side에서 행해질 수 있는 여러 PoC 진단법들에 대해 알아보았다. 아직까지 PoC 진단법 중에서 위에서 언급한 이상적인 진단법에 완벽하게 부합하는 진단법은 없다. 따라서 PoC 진단법으로만 진단을 내리기에는 임상에서는 한계가 있어 보인다. 그럼에도 불구하고 정확한 진단을 내리기 위한 보조 진단법으로 사용되거나 환자의 구강 위생 교육 사용에 있어서 충분한 가능성이 있어 보인다. 임상적 검사의 측정값과 방사선 사진 자료와 더불어 PoC 보조 진단법을 사용한다면 보다 더 효율적으로 진단을 내릴 수 있을 것이라 생각된다. 덧붙여 환자 특이적으로 질환에 대한 취약성, 치료에 대한 반응성 그리고 질환의 진행 상태를 평가할 수 있는 만큼 다각적으로 접근하여 치료 계획을 설정할 수 있을 것이라 예상된다. PoC 진단법은 향후 구강 내 질환의 주요 진단법으로 이용될 수 있을 만큼 연구가 진행될 필요가 있지만, 치료 중심 진료가 아닌 예방 중심 진료로 변해가는 최근 치과계의 변화를 고려해보면 PoC 진단법들의 발전 가능성이 매우 높아 보인다.

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. Miller WD. Diseases of the human body which have been traced to the action of mouth-bacteria. *Am J Dent Sci* 1891; 25:311–9.
2. Read E, Curtis MA, Neves JF. The role of oral bacteria in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021;18:731–42. doi: 10.1038/s41575-021-00488-4
3. Tuominen H, Rautava J. Oral microbiota and cancer development. *Pathobiology* 2021;88:116–26. doi: 10.1159/000510979
4. Li Y, Cui J, Liu Y, Chen K, Huang L, Liu Y. Oral, tongue-coating microbiota, and metabolic disorders: a novel area of interactive research. *Front Cardiovasc Med* 2021;8:730203. doi: 10.3389/fcvm.2021.730203
5. Kamer AR, Pushalkar S, Gulivindala D, Butler T, Li Y, Annam KRC, Glodzik L, Ballman KV, Corby PM, Blennow K, Zetterberg H, Saxena D, de Leon MJ. Periodontal dysbiosis associates with reduced CSF A β 42 in cognitively normal elderly. *Alzheimers Dement (Amst)* 2021;13:e12172. doi: 10.1002/dad2.12172
6. Matsha TE, Prince Y, Davids S, Chikte U, Erasmus RT, Kengne AP, Davison GM. Oral microbiome signatures in diabetes mellitus and periodontal disease. *J Dent Res* 2020;99:658–65. doi: 10.1177/0022034520913818
7. Huang Z, Chen J, Li B, Zeng B, Chou CH, Zheng X, Xie J, Li H, Hao Y, Chen G, Pei F, Shen B, Kraus VB, Wei H, Zhou X, Cheng L. Faecal microbiota transplantation from metabolically compromised human donors accelerates osteoarthritis in mice. *Ann Rheum Dis* 2020;79:646–56. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-216471
8. Gómez LA, De Avila J, Castillo DM, Montenegro DA, Trujillo TG, Suárez LJ, Lafaurie GI. *Porphyromonas gingivalis* placental atropobiosis and inflammatory responses in women with adverse pregnancy outcomes. *Front Microbiol* 2020;11:591626. doi: 10.3389/fmicb.2020.591626
9. Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res* 2011;90:294–303. doi: 10.1177/0022034510379602
10. Aral CA, Kesim S, Greenwell H, Kara M, Çetin A, Yakan B. Alveolar bone protective and hypoglycemic effects of systemic propolis treatment in experimental periodontitis and diabetes mellitus. *J Med Food* 2015;18:195–201. doi: 10.1089/jmf.2013.3137
11. Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1979;6:351–82. doi: 10.1111/j.1600-051x.1979.tb01935.x
12. Haffajee AD, Socransky SS, Patel MR, Song X. Microbial complexes in supragingival plaque. *Oral Microbiol Immunol* 2008;23:196–205. doi: 10.1111/j.1399-302X.2007.00411.x
13. Consensus report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol* 1996;1:926–32. doi: 10.1902/annals.1996.1.1.926
14. Lee YH, Wong DT. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. *Am J Dent* 2009;22:241–8.
15. Naginyte M, Do T, Meade J, Devine DA, Marsh PD. Enrichment of periodontal pathogens from the biofilms of healthy adults. *Sci Rep* 2019;9:5491. doi: 10.1038/s41598-019-41882-y
16. Chen C, Slots J. Microbiological tests for *Actinobacillus actinomycescomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 2000 1999;20:53–64. doi: 10.1111/j.1600-0757.1999.tb00157.x
17. Paster BJ, Dewhirst FE. Molecular microbial diagnosis. *Periodontol* 2000 2009;51:38–44. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00316.x
18. Nadkarni MA, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology (Reading)* 2002;148(Pt 1):257–66. doi: 10.1099/00221287-148-1-257
19. Kim HS, Song SK, Yoo SY, Jin DC, Shin HS, Lim CK, Kim MS, Kim JS, Choe SJ, Kook JK. Development of strain-specific PCR primers based on a DNA probe Fu12 for the identification of *fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum* ATCC 25586T. *J Microbiol* 2005;43:331–6. Erratum in: *J Microbiol* 2005;43:473.
20. Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontol* 2000 2009;50:52–64. doi: 10.1111/j.1600-0757.2008.00288.x
21. Jenkins WM, MacFarlane TW, Gilmour WH. Longitudinal study of untreated periodontitis (I). Clinical findings. *J Clin Periodontol* 1988;15:324–30. doi: 10.1111/j.1600-051x.1988.tb01591.x
22. Brown LJ, Oliver RC, Löe H. Periodontal diseases in the U.S. in 1981: prevalence, severity, extent, and role in tooth mortality. *J Periodontol* 1989;60:363–70. doi: 10.1902/jop.1989.60.7.363
23. Van der Velden U, Abbas F, Van Steenberghe TJ, De Zoete OJ, Hesse M, De Ruyter C, De Laat VH, De Graaff J. Prevalence of periodontal breakdown in adolescents and presence of *Actinobacillus actinomycescomitans* in subjects with attachment loss. *J Periodontol* 1989;60:604–10. doi: 10.1902/

- jop.1989.60.11.604
24. Andrade R, Espinoza M, Gómez EM, Espinoza JR, Cruz E. Intra- and inter-examiner reproducibility of manual probing depth. *Braz Oral Res* 2012;26:57–63. doi: 10.1590/s1806-83242012000100010
 25. Lafzi A, Mohammadi AS, Eskandari A, Pourkhamneh S. Assessment of intra- and inter-examiner reproducibility of probing depth measurements with a manual periodontal probe. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2007;1:19–25. doi: 10.5681/joddd.2007.004
 26. Kim MJ, Min JB, Lim SA, Kook JK. Strain-specific PCR primers for the detection of *Prevotella intermedia* ATCC 49046. *Int J Oral Biol* 2011;36:79–82.
 27. Curtis MA, Gillett IR, Griffiths GS, Maiden MF, Sterne JA, Wilson DT, Wilton JM, Johnson NW. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases: laboratory markers from analysis of gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1989;16:1–11. doi: 10.1111/j.1600-051x.1989.tb01604.
 28. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:89–95. doi: 10.1067/mcp.2001.113989
 29. Srivastava N, Nayak PA, Rana S. Point of care— a novel approach to periodontal diagnosis—a review. *J Clin Diagn Res* 2017;11:ZE01–6. doi: 10.7860/JCDR/2017/26626.10411
 30. Gul SS, Abdulkareem AA, Sha AM, Rawlinson A. Diagnostic accuracy of oral fluids biomarker profile to determine the current and future status of periodontal and peri-implant diseases. *Diagnostics (Basel)* 2020;10:838. doi: 10.3390/diagnostics10100838
 31. Miller SM. Saliva testing—a nontraditional diagnostic tool. *Clin Lab Sci* 1994;7:39–44.
 32. Subbarao KC, Nattuthurai GS, Sundararajan SK, Sujith I, Joseph J, Syedshah YP. Gingival crevicular fluid: an overview. *J Pharm Bioallied Sci* 2019;11(Suppl 2):S135–9. doi: 10.4103/JPBS.JPBS_56_19
 33. Champagne CM, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontol* 2000 2003;31:167–80. doi: 10.1034/j.1600-0757.2003.03110.x
 34. Zia A, Khan S, Bey A, Gupta ND, Mukhtar-Un-Nisar S. Oral biomarkers in the diagnosis and progression of periodontal diseases. *Biol Med (Aligarh)* 2011;3:45–52.
 35. Chapple IL. Periodontal diagnosis and treatment—where does the future lie? *Periodontol* 2000 2009;51:9–24. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00319.x
 36. Kaklamanos EG, Tsalikis L. A review on peri-implant crevicular fluid assays potential in monitoring and predicting peri-implant tissue responses. *J Int Acad Periodontol* 2002;4:49–59.
 37. Dursun E, Tözüm TF. Peri-implant crevicular fluid analysis, enzymes and biomarkers: a systematic review. *J Oral Maxillofac Res* 2016;7:e9. doi: 10.5037/jomr.2016.7309
 38. Kuehl FA Jr, Egan RW. Prostaglandins, arachidonic acid, and inflammation. *Science* 1980;210:978–84. doi: 10.1126/science.6254151
 39. Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG. Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol* 1993;64(5 Suppl):432–44. doi: 10.1902/jop.1993.64.5s.432
 40. Nakashima K, Roehrich N, Cimasoni G. Osteocalcin, prostaglandin E2 and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid: their relations to periodontal status. *J Clin Periodontol* 1994;21:327–33. doi: 10.1111/j.1600-051x.1994.tb00721.x
 41. Kumar AK, Reddy NR, Babu M, Kumar PM, Reddy VS, Chavan CV. Estimation of prostaglandin E2 levels in gingival crevicular fluid in periodontal health, disease and after treatment. *Contemp Clin Dent* 2013;4:303–6. doi: 10.4103/0976-237X.118354
 42. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010;140:805–20. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.02
 43. Cheng R, Wu Z, Li M, Shao M, Hu T. Interleukin-1 β is a potential therapeutic target for periodontitis: a narrative review. *Int J Oral Sci* 2020;12:2. doi: 10.1038/s41368-019-0068-8
 44. Rangbulla V, Nirola A, Gupta M, Batra P, Gupta M. Salivary IgA, Interleukin-1 β and MMP-8 as salivary biomarkers in chronic periodontitis patients. *Chin J Dent Res* 2017;20:43–51. doi: 10.3290/j.cjdr.a37741
 45. Schett G, Dayer JM, Manger B. Interleukin-1 function and role in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol* 2016;12:14–24. doi: 10.1038/nrrheum.2016.166
 46. Gabay C. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Res Ther* 2006;8 Suppl 2:S3. doi: 10.1186/ar1917
 47. Batool H, Nadeem A, Kashif M, Shahzad F, Tahir R, Afzal N. Salivary levels of IL-6 and IL-17 could be an indicator of disease severity in patients with calculus associated chronic periodontitis. *Biomed Res Int* 2018;2018:8531961. doi: 10.1155/2018/8531961
 48. Hosokawa Y, Hosokawa I, Ozaki K, Nakae H, Matsuo T. Increase of CCL20 expression by human gingival fibroblasts

- upon stimulation with cytokines and bacterial endotoxin. *Clin Exp Immunol* 2005;142:285–91. doi: 10.1111/j.1365-2249.2005.02912.x
49. Roberts FA, McCaffery KA, Michalek SM. Profile of cytokine mRNA expression in chronic adult periodontitis. *J Dent Res* 1997;76:1833–9. doi: 10.1177/00220345970760120501
 50. Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis* 2004;10:311–8. doi: 10.1111/j.1601-0825.2004.01038.x
 51. Sorsa T, Gursoy UK, Nwhator S, Hernandez M, Tervahartiala T, Leppilähti J, Gursoy M, Könönen E, Emingil G, Pussinen PJ, Mäntylä P. Analysis of matrix metalloproteinases, especially MMP-8, in gingival crevicular fluid, mouthrinse and saliva for monitoring periodontal diseases. *Periodontol* 2000 2016;70:142–63. doi: 10.1111/prd.12101
 52. Sorsa T, Mäntylä P, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Gamonal J, Hernandez M. MMP activation in diagnostics of periodontitis and systemic inflammation. *J Clin Periodontol* 2011;38:817–9. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01753.x
 53. Peeling RW, Holmes KK, Mabey D, Ronald A. Rapid tests for sexually transmitted infections (STIs): the way forward. *Sex Transm Infect* 2006;82 Suppl 5:v1–6. doi: 10.1136/sti.2006.024265
 54. Chepuri T, Gooty JR, Durvasala S, Palaparathi R. Chair side diagnostic test kits in periodontics. *Indian J Dent Adv* 2015;7: 41–5. doi: 10.5866/2015.7.10041
 55. Nabors TW, McGlennen RC, Thompson D. Salivary testing for periodontal disease diagnosis and treatment. *Dent Today* 2010;29:53–4, 56, 58–60; quiz 61.
 56. He W, You M, Wan W, Xu F, Li F, Li A. Point-of-care periodontitis testing: biomarkers, current technologies, and perspectives. *Trends Biotechnol* 2018;36:1127–44. doi: 10.1016/j.tibtech.2018.05.013
 57. Persson GR, DeRouen TA, Page RC. Relationship between levels of aspartate aminotransferase in gingival crevicular fluid and gingival inflammation. *J Periodontol Res* 1990;25:17–24. doi: 10.1111/j.1600-0765.1990.tb01203.x
 58. Armitage GC, Jeffcoat MK, Chadwick DE, Taggart EJ Jr, Numabe Y, Landis JR, Weaver SL, Sharp TJ. Longitudinal evaluation of elastase as a marker for the progression of periodontitis. *J Periodontol* 1994;65:120–8. doi: 10.1902/jop.1994.65.2.120
 59. Sorsa T, Gieselmann D, Arweiler NB, Hernández M. A quantitative point-of-care test for periodontal and dental peri-implant diseases. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17069. doi: 10.1038/nrdp.2017.69
 60. Buduneli N. Biomarkers in periodontal health and disease: rationale, benefits, and future directions. Springer International Publishing; 2020.