原 著

スケーリング・ルートプレーニングの有効性 に関する臨床的，細菌学的研究

萩 原 さつき フェルナンド・佐藤 エリザベス・ブーツィ
飯 田 雅 博 関 智 子 梅 田 誠
石 川 烈

東京医科歯科大学歯学部第2 歯科保存学教室

(1992年2月28日 受付)

Clinical and Microbiological Study of Factors Determining Effective Scaling and Root Planing

Satsuki Hagiwara, Ferando Sato, Elizabeth Bouts
Masahiro Iida, Tomoko Seki, Makoto Umeda
and Isao Ishikawa

Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

The aim of the present study was to monitor longitudinally the clinical and microbiological parameters after root debridement in order to determine the factors affecting successful and unsuccessful results. Nine patients with moderate and severe periodontitis participated. Four sites of single root with over 5-mm periodontal pockets in each quadrant were selected. The oral hygiene was controlled in all patients, then root debridement was performed without anesthesia at the three sites of the quadrants every two weeks during eight weeks. The clinical parameters consisted of plaque index, gingival index, probing depth, clinical attachment level, bleeding on probing, tooth mobility and the value of gingival crevicular fluid (GCF). The microbiological parameters such as percentages of cocci, motile rods, non-motile rods and spirochetes and the number of microorganisms were examined and the percentages of black pigmented *Bacteroides* (BPB) and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* as well as the number of anaerobic colonies were counted. The results demonstrated that a reduction in the probing depth was observed in all sites except four. The successful sites clinically showed a decrease of the probing depth and GCF value and, microbiologically, reduced percentages of the spirochetes and BPB. The results indicated that the decrease of the probing depth and GCF under 50 Periotron units in coincidence with the bacterial reduction can be used to determine the successful response of root debridement.

I. 緒 言

歯周炎の発症と進行には，いくつかの歯周疾患
関連菌と呼ばれるプラーク中のグラム陰性桿菌が

関与している¹⁾。歯周治療の目的の一つは，歯周
疾患関連菌を含むプラークを除去し，再びプラーク
が付着するのをコントロールすることである。
歯周ポケット内のプラークコントロールは，ス

ケーリング・ルートプレーニングにより機械的に行われるのが一般的である。しかし、歯周ポケットが深い場合、歯根の解剖学的形態が複雑な場合、歯列異常があるような場合には、技術的に器具操作が難しく歯周ポケット底部の歯石やプラークを完全に除去することは困難である^{2,3)}。これらの理由によりスケーリング・ルートプレーニングの有効性について術後の観察を行うと、歯周組織が健康な状態に改善されることも多く認められるが、そのまま病変が残ってしまうこともある。この相反する状態は比較的早い時期のうちにどのような因子で判別できるかという点については、十分な報告がこれまで行われていない。歯周治療の効果を上げるために、スケーリング・ルートプレーニングを行った後、治癒する場合とそうでない場合を識別する臨床的、細菌学的要因を捕らえることは重要である。

そこで今回私達は、スケーリング・ルートプレーニングを徹底的に行った場合の、有効性を判断しうる要因を明らかにするために、臨床的および細菌学的に研究を行った。

II. 材料と方法

1. 被験者および被験歯

被験者としては、東京医科歯科大学歯学部附属病院に来院した中等度から重度に進行した歯周炎患者 9 名、男性 2 名、女性 7 名、年齢 27~49 歳（平均年齢 39.1 歳）を選択した。全身的健康状態は良好で、6 カ月間抗生物質を服用せず、歯周治療を受けていない者を対象とした。被験部位としては、上下顎左右 4 部位に分かれて存在する 5 mm 以上の歯周ポケットをもつ 4 本の単根歯とした。

2. 試験方法

実験のスケジュールとしては、最初にすべての患者にブラッシングによるプラークコントロール指導を行った。2 週ごとに 4 回指導し、被験部位の Plaque Index (PII)⁴⁾ がほぼ 0 になったことを確認してスケーリング・ルートプレーニングを 2 週ごとに 4 回繰り返して行った。超音波スケー

ラーにより全顎的に歯肉縁上のスケーリングを行った後、無麻酔下で被験部位および両隣に歯に対して、グレーシー型のスケーラーを用いて歯周ポケット内露出歯根面の *debridement* を行った。各被験者の 4 歯のうち、任意に選択した 3 歯を実験歯とし、他の 1 歯を対照歯とした。処置後、2 週ごとに 3 カ月間、予後を観察した。臨床上の処置に関しては、一人の検者が行った。

3. 臨床パラメーター

臨床所見に用いたパラメーターとしては、Plaque Index (PII)⁴⁾、Gingival Index (GI)⁵⁾、probing pocket depth (PPD)、Bleeding on probing⁶⁾、attachment level (AL)、歯の動揺度を選んだ。さらに歯周ポケット内の炎症症状を表す歯肉溝浸出液量 (Gingival Crevicular Fluid, GCF) をハルコ社製ペリオトロン 6000 を用いて測定した。測定は、ペリオペーパーを歯周ポケット内に静かに抵抗を感じる所まで挿入し、5 秒後に測定する方法で行い、初回の測定値を棄却し、3 回の測定値の平均を用いた。

4. 細菌学的パラメーター

3 本の滅菌ペーパーポイントを用いて歯周ポケット内のサンプリングを行い、得られたサンプルを 2 ml の滅菌還元輸送培地に入れて、ボルテックスミキサーで 30 秒間攪拌した後、5 μ l を暗視野顕微鏡下での観察に用い、50 μ l を 10^{-1} ~ 10^{-4} まで連続的に 10 倍希釈して培養に用いた。

1) 暗視野顕微鏡下での形態学的観察は、Listgarten & Hellden⁷⁾ の基準に従って行い、cocci (球状菌)、rods (桿状菌)、motile rods (運動性桿菌)、spirochetes (スピロヘータ) の 4 種類の細菌の占める比率とサンプル 1 ml 当りの総菌数について計算した。

2) 得られたサンプルを培養し、黒色色素産生性菌 (BPP) および *Actinobacillus actinomysetemcomitans* (*A. a.*) について調べた。BPP については、血液寒天培地 (Trypticase soy agar (BBL Microbiological Systems & Co., Cockeysville, MD, USA) に馬血液 (5%), hemin (5 μ g/ml), vitamin K1 (0.1 μ g/ml) を含む) を用

表1 スケーリング・ルートプレーニング後の予後良好例と非良好例の比較

		— 8 週	0 週	2 週	12 週
GCF (periotron units)	良 好 例	103.9 (23.7)	93.7 (29.3)	43.3 (22.8)**	29.5 (13.7)**
	非良好例	134.2 (30.0)**	130.7 (29.1)**	87.6 (38.0)**	90.6 (22.5)**
probing depth (mm)	良 好 例	5.3 (0.6)	5.1 (0.8)	3.6 (0.6)**	2.7 (0.5)**
	非良好例	6.1 (1.2)	6.1 (1.1)*	4.8 (1.1)*	4.5 (1.1)**
spirochetes (%)	良 好 例	5.4 (4.6)	4.1 (4.2)	0.3 (0.6)**	0.3 (0.9)**
	非良好例	13.7 (10.5)**	16.9 (15.5)**	2.3 (3.2)**	2.2 (2.3)**
BPB (%)	良 好 例	34.1 (14.4)	19.5 (16.4)	5.0 (5.1)**	1.1 (2.2)**
	非良好例	31.1 (19.4)	16.0 (15.5)	15.8 (15.5)**	17.8 (13.6)**

良 好 例 : GCF < 50 (n = 14)

非良好例 : GCF ≥ 50 (n = 13)

平均値 (標準偏差)

*: p < 0.05, **: p < 0.01

い、嫌気性培養ジャー（平山製作所製）中で嫌気的条件下で7日間培養した。培養後、カウントした BPB のコロニーの比率とコロニーの総数を求めた。*A. a.* については TSBV 寒天培地 (Trypticase soy agar, Yeast extract (BBL Microbiological Systems & Co., Cockeysville, MD, USA, Yeast extract (DIFCO) に馬血清 (10%), Bacitracin (75 µg/ml), Vancomycin (5 µl/ml) を含む) を用い、5% CO₂ を含む好氣的条件下で7日間培養した。培養後、*A. a.* のコロニーの出現率について調べた。

5. 統計処理

各臨床および細菌学的パラメーターの経時的変化の有意差の検定は、Wilcoxon の符号付き順位検定、1 標本 t 検定を用い、群間比較については Wilcoxon の順位和検定により統計処理を行った。

Ⅲ. 結 果

1. probing pocket depth の変化

全被験部位 27 部位のうち、処置後 3 カ月目に probing depth の減少がみられたのは 23 部位であった。他の 4 部位の probing pocket depth は、処置前と処置後において変化がみられなかった。

2. 臨床的および細菌学的指標の経時的変化によるグループ分け

臨床的パラメーターのうち、GCF 量、probing pocket depth の二つの因子、細菌学的パラメーターのうち *spirochetes*、BPB の比率の二つの因子に注目したところ、GCF 量および probing pocket depth が減少し、*spirochetes* と BPB の比率の減少量が多い部位と、これらの各パラメーターの測定値の減少量が前者よりも小さな部位の二つのグループに分かれた。そこで処置後 12 週で、GCF 量および probing pocket depth の減少がみられ、細菌学的には *spirochetes* の比率は 3% 以下であり、BPB の比率は 10% 以下であるという四つの条件をすべて満たす部位を治癒の良好であったグループ(予後良好群)、その他の部位を治癒の良好でなかったグループ(予後不良群)とした。この二つのグループは、臨床的には GCF 量が 50 ペリオトロン・ユニットで分けられた。

二つのグループの四つのパラメーターの変化についてスケーリング・ルートプレーニング前—8 週、処置開始時 0 週、処置終了後 2 週、および 12 週の時点での平均値を表 1 に示す。処置開始時 0 週の時点での各パラメーターの測定値の平均値については二つのグループ間で GCF 量、*spirochetes* の比率については有意差がみられたが、probing pocket depth および BPB の比率については、有意差はみられなかった。処置終了後 2 週、12 週では BPB の比率を除くすべてのパラメーターに

GINGIVAL CREVICULAR FLUID

図1 GCF 量の経時的変化

PROBING DEPTH

図2 probing depth の経時的変化

については、0 週の時点での平均値と比較してスケーリング・ルートプレーニング後、経時的に有意の減少がみられた。特に GCF 量について注目すると、処置終了後 2 週目ですでに 50 ペリオトロンユニット以下の平均値を示している。

3. GCF 量の経時的変化

図 1 に GCF 量の経時的変化を示す。白丸印は 12 週の時点で良好な治癒を示したグループ（予後良好群）、黒丸印は良好な治癒を示さなかったグループ（予後不良群）、三角印はコントロール

グループを示す。

GCF 量はスケーリング・ルートプレーニング開始時 0 週の時点で、実験群の平均値は予後良好群 93.7、予後不良群 130.7 であり、予後不良群は Baseline の段階での GCF 量は高かった。どちらのグループも Baseline から処置後 12 週までに経時的に有意の減少を示した。予後良好群では処置後 2 週目の時点ですでに 43.3 と 50 ペリオトロン・ユニット以下の平均値を示したが、予後不良群では処置後 2 週目においても 87.6、12 週後では

SPIROCHETES

図3 *spirochetes* の比率の経時的変化

BLACK PIGMENTED BACTEROIDES

図4 *Black pigmented Bacteroides* の比率の経時的変化

90.6とほとんど変わらず高い値を示し、処置終了後2週から12週までの経時的な変化に有意差はみられなかった。

4. probing pocket depth の経時的変化

図2に probing pocket depth の経時的変化を示す。処置開始時0週の時点での平均値は予後良好群5.3, 予後不良群6.1 mmであり GCF 量の変化と類似していて、Baseline の時点で歯周ポケットが深いほうが予後が良くない傾向を示し

た。処置後は12週までに減少し、12週の時点で予後良好群では2.7 mm, 予後不良群では4.5 mmを示し、予後不良群では歯周ポケットの減少は小さかった。

5. *spirochetes* の比率の経時的変化

図3に *spirochetes* の占める比率の経時的変化を示す。処置開始時0週の時点での平均値は予後良好群4.1%, 予後不良群16.9%で GCF 量および probing pocket depth の場合と類似してお

図5 attachment level の経時的変化

図6 Gingival Index の経時的変化

り Baseline の時点で *spirochetes* の比率が有意に高かった。経時的な変化は GCF 量の変化と類似していて処置終了後12週までに減少し、12週の時点では、予後良好群では 0.3%，予後不良群では 2.2%を示した。

6. BPB の経時的変化

図4に BPB の比率の変化を示す。

処置開始時 0 週の時点での平均値は予後良好群で19.5%，予後不良群で16.0%あり，経時的な変

化は GCF 量の変化と類似していて，処置終了後12週までに減少した。12週の時点では，予後良好群では1.1%，と減少していたが，予後不良群では17.8%と Base line と変わらず有意の減少はみられなかった。

7. 他のパラメーターの経時的変化

1) attachment level

図5に attachment level の経時的変化を示す。処置開始時 0 週の時点の変化量を 0 とする

BLEEDING ON PROBING

図7 Bleeding on probing の経時的変化

PLAQUE INDEX

図8 Plaque Index の経時的変化

と、処置終了後2週の時点の変化量の平均値は予後良好群で0.23, 予後不良群で-0.05 mm, 12週の時点ではおのおの0.71, 0.04 mmであった。予後良好群では処置後2週から12週後にわたる有意な attachment level の獲得がみられたが、予後不良群では有意な attachment level の獲得はみられなかった。

2) Gingival Index

図6に Gingival Index の経時的変化を示す。

処置開始時0週の時点での平均値は予後良好群で1.93, 予後不良群で2.00であった。処置終了後2週の時点ではおのおの1.45, 1.60, 12週の時点ではおのおの0.86, 1.46であり、処置後12週までに経時的に減少した。しかし、予後不良群では処置後2週, 12週とも処置開始時0週と比較して有意な減少はみられなかった。

3) bleeding on probing

図7に bleeding on probing の経時的変化を

図9 歯の動揺度の経時的変化

図10 motile rods の比率の経時的変化

示す。処置開始時 0 週の時点での平均値は予後良好群で 93%，予後不良群で 100% であった。処置終了後 2 週の時点ではおのおの 9%，60% と、これも有意な差がみられ、予後良好群ではほとんど歯周ポケット測定時の出血はみられなかった。12 週の時点ではおのおの 7%，77% であり、この傾向は持続し、予後良好群では処置後 12 週までに経時的に減少した。しかし、予後不良群では処置終了後 2 週、12 週とも処置開始時 0 週と比較して有

意な減少はみられなかった。

4) Plaque Index

図 8 に Plaque Index の経時的変化を示す。処置開始時 0 週の時点での平均値は予後良好群で 0.29，予後不良群で 0.23 であった。処置後 2 週の時点ではおのおの 0.23，0.35 で、12 週の時点ではおのおの 0.18，0.35 であり、二つのグループとも処置終了後 12 週までに経時的に有意な変化はみられなかった。

図11 cocci の比率の経時的変化

図12 rods の比率の経時的変化

5) 歯の動揺度

図9に歯の動揺度の経時的変化を示す。処置開始時0週の時点での平均値は予後良好群で0.36, 予後不良群で0.92であった。処置終了後2週の時点ではおのおの0.55, 1.10で, 12週の時点ではおのおの0.18, 0.85であり, 予後良好群では処置終了後12週までに有意の減少がみられたが, 予後不良群では処置後12週までに経時的に有意な変化はみられなかった。

6) motile rods の比率

図10に motile rods の比率の経時的変化を示す。処置開始時0週の時点での平均値は予後良好群で22.0%, 予後不良群で23.9%であった。処置終了後2週の時点ではおのおの20.3%, 29.9%で, 12週の時点ではおのおの34.2%, 35.6%であり, 二つのグループとも処置後12週までに経時的に少し増加する傾向がみられたが, 有意な変化ではなかった。

図13 暗視野顕微鏡下での観察による総菌数の経時的変化

図14 嫌気性菌のコロニー総数 (TS agar) の経時的変化

7) cocci の比率

図11に *cocci* の比率の経時的変化を示す。処置開始時 0 週の時点での平均値は予後良好群で 62.6%，予後不良群で 38.4% であった。処置終了後 2 週の時点ではおのおの 51.9%，66.7% で、12 週の時点ではおのおの 49.7%，51.2% であり、二つのグループとも処置後 12 週までに経時的に少し増加する傾向がみられたが、有意な変化ではなかった。

8) rods の比率

図12に *rods* の比率の経時的変化を示す。処置開始時 0 週の時点での平均値は予後良好群で 11.2%，予後不良群で 20.1% であった。処置後 2 週の時点ではおのおの 9.9%，15.8% で、12 週の時点ではおのおの 15.7%，11.0% であり、二つのグループとも処置後 12 週までに経時的に少し減少する傾向がみられたが、有意な変化ではなかった。

A. ACTINOMYCETEMCOMITANS

図15 *A. actinomycetemcomitans* の出現率の経時的変化

9) 総菌数（暗視野顕微鏡下での観察）

図13に総菌数（暗視野顕微鏡下での観察における）の経時の変化を示す。処置開始時0週の時点での平均値は予後良好群で 5.3×10^7 個/ml, 予後不良群で 9.4×10^7 個/ml であった。処置後2週の時点ではおのおの 3.9×10^7 個/ml, 5.5×10^7 個/ml で, 12週の時点ではおのおの 3.9×10^7 個/ml, 6.4×10^7 個/ml であり, 二つのグループとも処置後12週までに経時的に少し減少する傾向がみられたが, 有意な変化ではなかった。

10) 嫌気性菌コロニー総数 (TS agar 上に形成された嫌気性菌のコロニー総数)

図14に嫌気性菌コロニー総数 (TS agar 上に形成されたコロニー総数) の経時の変化を示す。処置開始時0週の時点での平均値は予後良好群で 5.6×10^6 個/ml, 予後不良群で 1.4×10^7 個/ml であった。処置後2週の時点ではおのおの 3.3×10^6 個/ml, 3.3×10^6 個/ml で, 12週の時点ではおのおの 9.8×10^5 個/ml, 4.5×10^6 個/ml であり, 二つのグループとも処置後12週までに経時的に少し減少する傾向がみられたが, 有意な変化ではなかった。

11) *Actinobacillus actinomycetemcomitans* の比率

図15に *Actinobacillus actinomycetemcomitans* の

比率の経時の変化を示す。処置開始時0週の時点での平均値は予後良好群で14.0%, 予後不良群で23.0%であった。処置後2週の時点ではおのおの0%, 22.0%で, 12週の時点ではおのおの7.0%, 0%であり, 二つのグループとも処置後12週までに経時的な変化は一定していなかった。

IV. 考 察

一般に初期治療後の臨床的評価としては, 歯周ポケットの深さの減少, アタッチメントレベルの獲得, プラーク付着状態の減少, 歯肉の炎症症状の軽減, プロービング時の出血の消失, 歯の動揺の軽減などの臨床状態の改善が, これまで評価の対象となっていた。

歯周ポケット内の状態の変化については, 検査が煩雑であるため現在のところ詳しく調べられた報告は少ない。そこで, これまでの初期治療後の臨床状態の改善について, 臨床的および細菌学的パラメーターの変化の両面からさまざまな報告が積み重ねられてきている。

1. probing pocket depth, 歯肉溝浸出液量 (GCF量), *spirochetes* の比率, *Black pigmented Bacteroides* (BPB) の比率の変化について

1) probing pocket depth について

初期治療後の probing pocket depth の変化

についての報告も多様である。Hinrichs ら⁸⁾の研究では、中等度から重度に進行した歯周炎患者19名の76部位（上顎第2小臼歯および第1大臼歯に存在する4.5 mm以上の歯周ポケット）に対して麻酔下でスケーリング・ルートプレーニングを行った場合、術前 5.65 ± 0.22 mmの歯周ポケットが術後4～6週で 3.19 ± 0.20 mmに改善された。Hakkarainen ら⁹⁾は、14人の歯周炎患者の6 mm以上の深さの歯周ポケット48部位に対して麻酔下でスケーリング・ルートプレーニングを行ったところ、術前で 8.3 ± 0.3 mmであったが30日後には 5.6 ± 0.3 mm、120日後には 5.0 ± 0.3 mm、210日後には 4.5 ± 0.3 mmと改善したことを示した。Müller ら¹⁰⁾の報告では、中等度から重度に進行した10人の歯周炎患者の5 mm以上の深さの歯周ポケット36部位に対して麻酔下でスケーリング・ルートプレーニングを行った場合、浅い歯周ポケット（5～6 mm）では術前 5.8 ± 0.4 mmから2カ月後には 3.5 ± 0.8 mm、6カ月後には 3.2 ± 1.0 mmと減少し、深い歯周ポケット（7 mm以上）では術前 8.3 ± 1.1 mmから2カ月後には 4.5 ± 1.3 mm、6カ月後には 4.5 ± 1.4 mmであった。Walsh ら¹¹⁾の研究によると、成人性歯周炎患者6人の5 mm以上の歯周ポケットに対して麻酔下でスケーリング・ルートプレーニングを行ったところ、術前で 6.10 ± 1.70 mmであったが、術後1カ月で 4.20 ± 1.10 mm、3カ月で 4.40 ± 1.10 mmと有意に減少した。

Van Winkelhoff ら¹²⁾の報告では、8人の成人性歯周炎患者の6 mm以上の深さの歯周ポケット32部位にスケーリング・ルートプレーニングを行った場合、術前で 7.2 ± 0.7 mmであったが、術後2週では 6.0 ± 0.8 mm、8週では 5.7 ± 0.6 mmと改善した。Lavanchy ら¹³⁾は、中等度から重度の歯周炎患者7人の6 mm以上の深さの歯周ポケット14部位を含む全顎にスケーリング・キュレタージを行った場合、術前 6.9 ± 0.8 mmであったが、術後70日には 4.6 ± 0.2 mmと改善したと報告した。Silverstein ら¹⁴⁾の研究では、7人の中等度の歯周炎患者の7部位の歯周ポケットにス

ケーリング・ルートプレーニングを行ったところ、術前で 5.19 ± 0.67 mmであったが、術後2週では 5.17 ± 0.68 mm、4週では 4.19 ± 0.74 mm、8週では 4.17 ± 0.70 mmと改善された。

Loos ら¹⁵⁾は、11人の歯周炎患者の5 mm以上の深さの歯周ポケットで分岐部病変を含まない切歯および小臼歯24部位とⅡ級の分岐部病変を含む31部位について麻酔下でスケーリングを行ったところ、大臼歯部では術前で7.0 mmであったが術後12週では5.6 mm、52週では6.2 mmとなり、切歯および小臼歯部では術前で7.3 mmであったが、術後12週では4.9 mm、52週では5.2 mmと改善した。

Renvert ら¹⁶⁾の報告によると、16人の歯周炎患者の6 mm以上の歯周ポケット111部位にスケーリング・ルートプレーニングを行ったところ、術前の8.0 mmから6カ月後には5.8 mmと減少した。

私達が今回初期治療を行った5 mm以上の深さの歯周ポケット27部位については、probing pocket depthは4歯を除いて術後12週で減少していた。術前では5～8 mmであったが、術後12週では2～6 mmと改善した。この結果は、Hinrichs ら⁸⁾、Müller ら¹⁰⁾、Walsh ら¹¹⁾、Silverstein ら¹⁴⁾の研究結果と類似していた。

2) GCF 量について

歯周の炎症症状を表す指標の一つとして、歯肉溝浸出液量（GCF 量）の定量を行うがこの変化についての報告も多様である。Tsuchida ら¹⁷⁾は、10人の歯周炎患者にスケーリングおよびキュレタージを行い108部位について GCF 量を GCF メーター（HAR 600）を用いて定量したところ、術前と比較し術後4週目では GCF 量は有意に減少したこと、また GCF 量は Gingival Index および probing pocket depth と有意の相関があったことを報告した。Armitage ら¹⁸⁾の研究では、60人の軽度から中等度の歯肉炎および中等度の歯周炎患者の GCF 量を Periotron®（Harco）を用いて定量したところ、GCF 量は *spirochetes* の比率と有意の相関が得られた。Hinrichs ら⁸⁾は、

ペーパーストリップスで採取した GCF をニンヒドリンで染色して定量したところ、術前に 4.5 mm 以下であった部位では 6.77 ± 0.93 mm から術後 4～6 週で 4.19 ± 0.86 mm と有意に減少したが、術前に 4.5 mm 以上であった部位では 9.12 ± 1.55 mm から術後では 8.50 ± 1.68 mm と有意な変化はみられなかったと報告した。Hakkara-inen ら⁹⁾ は、GCF の 3 分間での流速を測定したところ、術後 30 日では、1.8 mm/3 min. で 120, 210 日経過しても有意な減少はみられず、210 日後の流速は 1.4 mm/3 min. であったことを示した。Müller ら¹⁰⁾ の研究では、GCF の 3 分間での流速を測定したところ、術前では 1.2 ± 0.9 mm/3 min. で、術後 2 カ月では 1.0 ± 1.0 mm/3 min. と有意に減少したが、6 カ月後では 1.2 ± 1.1 mm/3 min. と術後の状態に後戻りを示した。

Van Oosten ら¹⁹⁾ の研究では、11 人の慢性炎症性歯周炎患者の 6～7 mm の深さの歯周ポケット 22 部位の GCF 量を Periotron® (Harco) を用いて定量し血清で測定値を換算したところ、術前では probing pocket depth が 6 (5～8) mm で GCF 量は $0.09 \sim 0.3 \mu\text{l}$ (平均 $0.11 \mu\text{l}$) で、スケーリング・ルートプレーニング後 3 カ月では probing pocket depth が 4 (2～7) mm で GCF 量は $0 \sim 0.4 \mu\text{l}$ (平均 $0.12 \mu\text{l}$) を示し、有意の減少はみられなかった。Biagini ら²⁰⁾ は、12 人の成人性歯周炎患者について GCF 量を Periotron 6000 (Harco) を用いて定量し、5 人の Biopsy から電子顕微鏡を用いて組織学的観察を行い比較したところ、術前で 95～199 ペリオトロンユニットを示した 5 部位で、キュレッタージ後 30～60 日ですべての部位で 50 ペリオトロンユニット以下となったこと、また GCF 量の減少は組織学的な炎症症状の緩解と有意に相関したことを報告した。Silverstein ら¹⁴⁾ の研究では、Periotron 6000® を用いて GCF 量を定量したところ、術前では 20.29 ± 7.59 ペリオトロンユニットであったが、術後 2 週では 18.00 ± 9.95 、4 週では 16.29 ± 4.27 、術後 8 週では 20.57 ± 7.48 と術後 2 週目の測定値を除いて有意の減少はみられなかった。

GCF 量の定量は、GCF の採取法や定量法にさまざまな方法がある。現在最も多く用いられるのは Periotron® による定量法である。私達もこの方法を用いたが、得られた結果は Biagini ら²⁰⁾ の報告と類似していた。

3) *spirochetes* および *Black pigmented Bacteroides* (BPB) の比率について

初期治療を行った場合の細菌学的変化として、顕微鏡下で観察した *spirochetes* の比率や嫌気培養下での BPB の比率についての報告が多くみられる。Listgarten ら⁷⁾ の研究によると、12 人の進行した歯周炎患者の比較的健康的な部位と病変が進行した部位の細菌学的検索を暗視野顕微鏡下で行ったところ、*spirochetes* の比率は健康な部位の歯肉溝 (1.9 ± 0.1 mm) では $1.8 \pm 0.9\%$ であったが、病変が進行した部位での歯周ポケット (7.3 ± 0.4 mm) 内では $37.7 \pm 2.8\%$ であった。Hinrichs ら⁷⁾ は、麻酔下でスケーリング・ルートプレーニングを行ったところ、歯周ポケットの深さが 4.5 mm 以下の場合には、*spirochetes* の比率は 10.11% から術後 4～6 週で 2.88% と有意に減少したが、BPB 比率は術前 5.05%、術後 2.02% と有意な変化はみられなかったこと、歯周ポケットの深さが 4.5 mm 以上の場合にも、*spirochetes* の比率は術前で 20.95%、術後には 3.14% と有意に減少したが、BPB の比率は術前で 14.0%、術後には 9.72% と有意な変化はみられなかったことを示した。Slots ら²¹⁾ は、中等度から重度に進行した歯周炎患者 20 人の 142 部位について位相差顕微鏡下での観察と培養による細菌学的研究を行い、術前と初期治療後 3, 6, 12 カ月の状態を比較した場合 *spirochetes* と *B. gingivalis* の比率とアタッチメントロスに強い相関がみられたこと、3～6 カ月後に 2 mm 以上のアタッチメントの獲得がみられた部位では *spirochetes* と *B. gingivalis* の比率はおおの 13～43%、1～17% であったこと、歯周治療は歯周ポケット中に *spirochetes* と *B. gingivalis* がみられなくなるまで行うべきであると報告した。MacPhee ら²²⁾ の研究では、41 人の患者の 883 部位について *spirochetes* と *motile*

rods の比率と probing pocket depth, gigival index, bleeding index の関係について検索したところ、3 mm 以内の浅い歯周ポケットでは *spirochetes* の比率は 3.7%、6 mm の深さの歯周ポケットでは 19% であり、G. I. が 0~1 の場合には 6.1%、G. I. が 2~3 の場合には 12.7%、Bleeding がみられない場合には 2.1%、みられた場合には 9.8% であった。Müller ら¹⁰⁾ は、*spirochetes* の比率については、5 mm 以上の歯周ポケットでは術前に $35.1 \pm 15.3\%$ であったが、術後 2 カ月では $7.6 \pm 7.0\%$ 、6 カ月後では $5.6 \pm 5.1\%$ と有意に減少したことを示した。Walsh ら¹¹⁾ は、*spirochetes* の比率については、術前で $35.2 \pm 28.4\%$ であったが、術後 1 カ月では $6.1 \pm 12.4\%$ 、3 カ月では $13.3 \pm 22.4\%$ であり、BPB の比率については、術前では $16.50 \pm 14.80\%$ であったが、術後 1 カ月では $1.94 \pm 3.40\%$ であり、3 カ月では $2.10 \pm 7.20\%$ であったことを報告した。Van Winkelhoff ら¹²⁾ の研究では、6 mm 以上の歯周ポケットでは、*spirochetes* の比率については術前で 23.7% であったが、術後 2 週では 5.9%、8 週では 11.8% と少し後戻りしたが有意に減少したこと、*B. gingivalis* の比率については、術前で 28.3% であったが、術後 2 週では 8.4%、8 週では 8.9% と有意に減少し、*B. intermedius* の比率については、術前では、2.9% であったが、術後 2 週では 4.3%、8 週では 6.7% と有意に増加した。Silverstein ら¹⁴⁾ は、術前に比較すると術後 2、4、8 週では、*coccoid cell* の比率は有意に増加したが、*spirochetes* と *motile rods* の比率は有意に減少したこと、特に *spirochetes* の比率については、術前にはほぼ 40% であったが、術後ではほぼ 5~6% に減少したことを報告した。Harper ら²³⁾ は、16 人の患者の 6 mm 以上の深さの歯周ポケット 61 部位について初期治療前後の臨床症状と Biopsy による組織学的な変化を比較したところ、probing pocket depth と BPB の比率は結合組織の炎症状態と有意に相関していたこと、そして *B. gingivalis* は深い歯周ポケットの治療後の治癒を遅らせている可能性が大きいことが示唆される

と報告した。Loos ら²⁴⁾ の研究によると、重度に進行した歯周炎患者 15 人について歯肉縁上のブラークコントロールを 12 週間行い、12 週目にスケーリング・ルートプレーニングを行ったところ、*spirochetes* の比率については 12 週目までは変化せず 16~28% であったが、スケーリング・ルートプレーニング後 1 週で 3~4% と有意に減少したこと、BPB の比率についても 12 週までは変化せず 19~36% であったが、術後 1 週では 3~10% と有意に減少したこと、*B. gingivalis* の比率についても 16~32% であったものが、2~4% と有意に減少していた。

今回の私達の結果は、Hinrichs ら⁸⁾、Müller ら¹⁰⁾、Walsh ら¹¹⁾、Van Winkelhoff ら¹²⁾、Silverstein ら¹⁴⁾ の研究結果と類似していた。すなわち、スケーリング・ルートプレーニング前後の臨床症状の変化と細菌学的な変化について評価したところ、臨床症状の変化としては probing pocket depth および GCF 量の二つのパラメーター、細菌学的な変化としては *spirochetes* と BPB の比率の二つのパラメーターの変化が著しいことが認められた。そしてこれらのパラメーターの減少が大きかった部位と、それよりも小さかった部位の二つのグループに分けられると考えられた。そこで、処置後 12 週での測定値を基準にして GCF 量および probing pocket depth の減少がみられ、*spirochetes* の比率が 3% 以下であり、BPB の比率が 10% 以下であるという条件をすべて満たす部位を治癒が良好であったグループ（予後良好群）、その他の部位を治癒が良好でなかったグループ（予後不良群）とした。この二つのグループは、GCF 量についてみると 50 ペリオトロニユニットで分けられた。

臨床症状の中で歯肉の炎症状態を示す指標として GCF 量を用いたが、現在までに最も多く用いられているのは bleeding on probing である。初期治療後、bleeding on probing の比率は減少すること、そしてこの bleeding on probing は *spirochetes* の比率と相関することが報告されている^{25, 26)}。GCF 量も *spirochetes* の比率と相関する

が、bleeding on probing のほうが強い相関を示したことも報告されている⁹⁾。実際に臨床で簡便に使用しやすいのは bleeding on probing であるが、probing の際の圧力の強さや歯周ポケット底部の組織の炎症状態などにより測定値が左右されやすいし、出血の有無という指数の性格上、炎症状態を詳細に把握するのは難しいと考えられる。GCF 量の測定は、測定器の改良により簡便に定量しやすくなった。これにもペーパーストリップスを挿入する部位を一定させることが難しくストリップスの幅が広いので挿入できる部位に限られるという欠点はあるが、歯周ポケット内の炎症状態を bleeding on probing よりも定量的に知ることができる。組織学的な研究からも、GCF 量は歯肉組織の炎症状態と正の相関を示すことが確認されている。今回の結果からも、スケーリング・ルートプレーニング後の治療状態を判定する要因として GCF 量の減少が強く関係していると考えられる。

細菌学的なパラメーターとして *spirochetes* と BPB の比率に注目した。これは、暗視野顕微鏡下で *spirochetes* は形態的に識別しやすく、その比率の変化を把握しやすいためである。*motile rods* については、その運動性から動きが速い場合も遅い場合も識別する際に誤差を生じやすい。BPB の比率は嫌気培養後のプレート上で黒色のコロニーを作るため判別しやすく、その比率の変化を追求しやすい。また分離培養にはより多くの時間を要するが、BPB は培養後 1 週間で十分確認することから選択した。これらの四つのパラメーターの変化を観察したとき、二つの臨床的パラメーターの変化は二つの細菌学的パラメーターの変化と関係があり、特に GCF 量の変化は他の三つのパラメーターの変化とよく相関していたこと、さらにこの変化はスケーリング・ルートプレーニング後 2 週ですでに現れ、その平均値は 50 ペリオトロユニット以下であることが今回の研究で示された。

2. 他のパラメーターについて

1) attachment level について

Bardersten ら²⁷⁾の研究によれば、49人の被験者の切歯、小臼歯 1,688 部位について 24 カ月間観察したところ、術前の probing pocket depth が大きいほど、初期治療後の attachment level の獲得がみられる可能性が大きかった。また、Badersten ら²⁸⁾は、39人の被験者の切歯、小臼歯部 1,956 部位について初期治療後 5 年間観察したところ、plaque score, bleeding score も attachment loss が引き起こされる可能性を予知する確率は約 30% であったが、残存する歯周ポケットが 7 mm 以上の場合には約 50% であり、歯周ポケットの深さが 1 mm 以上増加する場合には約 80% であったと報告した。Claffey ら²⁹⁾は、17人の患者の 2,121 部位について初期治療後 3 年 6 カ月間観察を行ったところ、歯周ポケットの深さの増加があって bleeding on probing の比率が高い場合には attachment loss が引き起こされる可能性が大きいことを示唆した。Slots ら²¹⁾は、初期治療後の attachment loss は *B. gingivalis* と *spirochetes* の比率と大きく関係していることを報告した。今回の私達の結果でも、初期治療後の *spirochetes* の比率が 3% 以下で、BPB の比率が 10% 以下であった部位(予後良好群)では attachment の獲得がみられたことから、attachment の獲得は *spirochetes* と BPB の比率の減少と関係があると考えられた。

2) Gingival Index, Bleeding on probing について

予後良好群では術後 2 週の時点で GCF 量の変化と同様に既に Gingival Index, bleeding on probing の改善がみられた。そして GCF 量、G. I. bleeding on probing の変化は類似していた。Engelberger ら³⁰⁾は、GCF 量と Papillary Bleeding Index および Sulcus bleeding Index との間に相関があったこと、Nowicki ら³¹⁾は、bleeding time と GCF 量の間に相関があったこと、Hirsch ら³²⁾は、GCF 量と bleeding on probing との間に相関があったことを報告した。しかし、Harper ら²³⁾の研究によると、bleeding on probing と歯肉結合組織の炎症状態の間には

有意な相関はみられなかった。

3) Plaque Index について

Plaque Index は、実験期間を通じて初期治療を行った部位と対照部位の間に有意な差はみられなかった。Lavanchy ら¹³⁾は、スケーリング・ルートプレーニング後70日での歯周ポケット内の細菌学的変化は歯肉縁上のブラックコントロールの程度に影響されなかったことを示した。

Loos ら²⁴⁾は、歯肉縁上のブラックコントロールの状態は12週間の口腔衛生指導期中の歯周ポケット内の細菌の組成に有意の変化を与えなかったこと、さらに12週目のスケールリングルートプレーニング後1週での歯周ポケット内での *spirochetes* の比率および *B. gingivalis* の比率の変化に影響を及ぼさなかったと報告した。

4) 歯の動揺度

歯の動揺度については、術前の予後良好群および対照部位と予後不良群との間に有意な差が認められた。予後不良群では、予後良好群および対照部位よりも歯の動揺度は大きかった。術前の probing pocket depth についても、予後不良群は予後良好群よりも大きい傾向がみられたことから、歯周組織の炎症の程度と残存支持組織量に有意の差があったと考えられた。Ramfjord ら³³⁾も、歯の動揺度の増大は必ずしも咬合性外傷によるものではなく、それは歯槽骨の吸収によるものであると述べている。術前に歯の動揺度が小さく歯槽骨吸収が軽度であると考えられる部位は、スケーリング・ルートプレーニング後に治癒する可能性が大きいことが示唆された。

5) motile rods の比率

初期治療後の *motile rods* の比率は有意に減少することが知られている (Rosenberg ら³⁴⁾, Singletary ら³⁵⁾, Magnusson ら³⁶⁾)。私達の結果でも歯肉縁上のブラックコントロール後有意に減少し、スケーリング・ルートプレーニング後2週まで持続したが、その後12週まで後戻りする傾向がみられた。Offenbacher ら³⁷⁾は、成人性歯周炎患者60人の歯周ポケット内の細菌を暗視野顕微鏡下で観察し、小型の運動性球菌および運動性桿菌

がコロニーを形成しはじめると小型の *spirochetes* が増殖しはじめ、その後フィラメント状の桿菌、紡錘状菌と増殖して細菌叢の形成が進むことを示した。

Sbordone ら³⁸⁾は、歯周炎患者8人の5mm以上の歯周ポケット内の細菌の初期治療後の変化を術後7日、21日、60日に観察し、実験期間を通じて *motile rods* の比率に有意な変化はみられなかったと報告した。これらの報告からも、歯周ポケット内の *motile rods* の存在は初期治療後の細菌叢の組成の再形成と密接な関係をもつと考えられた。

6) cocci の比率

Cocci の比率は、初期治療後有意に増加することが知られている (Rosenberg ら³⁴⁾, Singletary ら³⁵⁾)。私達の結果でもスケーリング・ルートプレーニング後2週の時点ですでに有意な増加がみられた。

7) rods の比率

Mosques ら³⁹⁾の研究では、*rods* の比率は初期治療後3日には減少したがその後70日まで有意に増加した。Greenwell ら⁴⁰⁾は、初期治療後8週まで *rods* の比率に有意な変化はみられなかったと報告した。Walsh ら¹¹⁾は、術前には $23.8 \pm 22.2\%$ であったが、初期治療後1カ月では $54.0 \pm 22.7\%$ 、3カ月後では $40.3 \pm 26.4\%$ と術後有意に増加したことを示した。私達の結果では、スケーリング・ルートプレーニング2週では減少したが、12週では後戻り傾向がみられた。

8) 暗視野顕微鏡下での観察による総菌数、および TS agar 上に形成されたコロニー総数

初期治療により顕微鏡下で観察した総菌数や嫌気性菌コロニー総数が減少したという報告がある (Van Oosten ら¹⁹⁾, Loos ら¹⁵⁾, Loos ら²⁴⁾) が、有意な変化はみられなかった、という報告もある (Harper ら²³⁾)。今回の結果では、暗視野顕微鏡下での総菌数および TS 血液寒天培地上の嫌気性菌のコロニー総数についてスケーリング・ルートプレーニング後減少する傾向がみられたが、有意な変化ではなかった。このことから、初期治療に

より歯周ポケット内の細菌叢の組成は大きく変化した。暗視野顕微鏡下での総菌および TS 血液寒天培地上の嫌気性菌のコロニー総数は大きな変化を受けなかったと考えられた。

9) *A. actinomycetemcomitans* の比率

A. a. については、初期治療によって *A. a.* を排除することは難しいという報告がある。Renvert ら^{16, 41)} は、16 人の患者の歯周ポケットの深さが 6 mm 以上の 111 部位について観察し、初期治療後 6 カ月および歯周外科後 3 カ月の時点で、*B. gingivalis* はほとんど検出されなかったが、*A. a.* は除去することができなかったことを確認し、これは *A. a.* が歯肉組織内に侵入しているためであると示唆した。今回の結果も、*A. a.* の出現率は初期治療に関係がみられず、一定していなかった。

今回、私達はスケーリング・ルートプレーニング後の有効性を予知しうる要因を知るために、臨床症状を表すいくつかのパラメーターと暗視野顕微鏡下での観察と培養法による細菌学的パラメーターを用いて術後 3 カ月間検索した。臨床的パラメーターは、肉眼的で主観的な判別、probing 時の圧力などにより測定値が影響を受けるためにすべてが客観的な手段とはいえないが、現在までに临床上簡便に用いられている方法である。その中で GCF 量の測定が臨床的に意義をもつことが明らかになってきた。細菌学的パラメーターについても、暗視野顕微鏡下での観察により直接歯周病原細菌を同定しうるものではなく、培養法も BPB の比率のみでは *Bacteroides* の中の特に原因菌の同定はできない。このように本実験で得られた結果は限られた情報ではあったが、臨床の場で得られたサンプルを簡便に観察する方法としては適当であると考えられた。今後は、DNA probe 法や歯周ポケット内の酵素による細菌の同定法など、簡便で詳細な情報を得る方法を併せて用いることができれば、より明確な結論を得ることが可能であると思われた。

V. 結 論

初期治療の有効性を確認しうる因子を知る目的で、初期治療後の臨床的パラメーターと細菌学的パラメーターの変化について 3 カ月間観察を行った。中等度から重度に進行した歯周炎患者 9 名（男性 2 名、女性 7 名、27~49 歳）の 5 mm 以上の深さで上下左右の 4 部位に分かれて存在する単根歯の歯周ポケット 36 部位を対象とし、そのうち 27 部位を実験部位とし、9 部位を対照部位とした。そして、以下の結果を得た。

1) スケーリング・ルートプレーニングを行ったところ、4 部位を除いたすべての被験部位で歯周ポケットの減少がみられた。

2) 被験部位は、臨床的評価および細菌学的評価により二つのグループに分けられた。一つのグループは予後良好群であり、歯周ポケットの深さおよび GCF 量の減少と、*spirochetes* と BPB の比率の減少がみられた。他の一つのグループは予後不良群であり、歯周ポケットおよび GCF 量、*spirochetes* と BPB の比率の減少量は前者より小さい値を示した。

3) 二つのグループは GCF 量が 50 ペリオトロン・ユニットで分けられた。予後良好群では、術後 2 週目にすでに GCF 量の平均値は 50 ペリオトロン・ユニット以下となり、この状態は 3 カ月間持続した。

4) *A. actinomycetemcomitans* の出現率は、スケーリング・ルートプレーニングにより影響を受けなかった。

以上の結果から、次の結論を得た。

スケーリング・ルートプレーニングの有効性は、歯周ポケットの深さと GCF 量の減少によって判断しうることを、スケーリング・ルートプレーニング後 2 週目にすでに GCF 量の平均値は 50 ペリオトロンユニット以下の減少を示し、またこの状態は *spirochetes* と BPB の比率の減少に関係していると考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究に協力いただきました本学歯学部学生の時松由里子、己斐紀代野の両名に心から感謝いたします。また終始ご協力いただきました第2歯科保存学教室の先生方にお礼申し上げます。なお本研究は、平成2年度文部省科学研究費一般B(No. 02454433)および厚生省科学長寿研究研究費補助金(長寿科学総合研究事業)により行われたことを付記する。

本論文の要旨は、第63回日本歯科保存学会春期総会(1991年6月20日)において発表した。

文 献

- 1) Loesche, W. J. : Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents according to the specific plaque hypothesis. *J. Dent. Res.* 58 : 2404-2412, 1979.
- 2) Waerhaug, J. : Healing of the dento-epithelial junction following subgingival plaque control. *J. Periodontol.* 49 : 119-134, 1978.
- 3) Rabbani, G. M., Ash, M. M. and Caffesse, R. G. : The effectiveness of subgingival scaling and root planing in calculus removal. *J. Periodontol.* 52 : 119-123, 1981.
- 4) Löe, H. and Silness, J. : Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol. Scand.* 21 : 533-551, 1963.
- 5) Silness, J. and Löe, H. : Periodontal disease in pregnancy, II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol. Scand.* 22 : 121-135, 1964.
- 6) Ainamo, J. and Bay, I. : Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International Dent. J.* 25 : 229-235, 1975.
- 7) Listgarten, M. A. and Hellden, L. : Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *J. Clin. Periodontol.* 5 : 115-132, 1978.
- 8) Hinrichs, J. E., Wolff, L. F., Philstrom, B. L., Schaffer, E. M., Liljemark, W. F. and Bandt, C. L. : Effect of scaling and root planing on subgingival microbial proportions standardized in terms of their naturally occurring distribution. *J. Periodontol.* 56 : 187-194, 1985.
- 9) Hakkarainen, K., Asikainen, S. and Ainamo, J. : A 7-month study of sulcular fluid flow in the assessment of healing after debridement of deep pockets. *J. Periodontol.* 57 : 14-19, 1985.
- 10) Müller, H-P., Hartman, J. and Flores-de-Jacoby, L. : Clinical alterations in relation to the morphological composition of the subgingival microflora following scaling and root planing. *J. Clin. Periodontol.* 13 : 825-832, 1986.
- 11) Walsh, M. M., Buchanan, C. I., Newbrun, E., Taggart, E. J., Armitage, G. C. and Robertson, P. B. : Clinical and microbiological effects of single-dose metronidazole or scaling and root planing in treatment of adult periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 13 : 151-157, 1986.
- 12) Van Winkelhoff, A. J., Van der Verden, V. and De Graff, J. : Microbial succession in recolonizing deep periodontal pockets after a single course of supra and subgingival debridement. *J. Clin. Periodontol.* 15 : 116-122, 1987.
- 13) Lavanchy, D. L., Bickel, M. and Baehni, P. C. : The effect of plaque control after scaling and root planing on the subgingival microflora in human periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 14 : 295-299, 1987.
- 14) Silverstein, L., Bissada, N., Manouchehr-Pour, M. and Greenwell, H. : Clinical and microbiologic effects of local tetracycline irrigation on periodontitis. *J. periodontol.* 59 : 301-305, 1987.
- 15) Loos, B., Claffy, N. and Egelberg, J. : Clinical and microbiological effects of root debridement in periodontal furcation pockets. *J. Clin. periodontol.* 15 : 453-463, 1988.
- 16) Renvert, S., Wikström, M., Dahlén, G., Slots, J. and Egelberg, J. : Effect of root debridement of *Actinobacillus actinomyces* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. *J. Clin. Periodontol.* 17 : 345-350, 1990.
- 17) Tsuchida, K. and Hara, K. : Clinical significance of gingival fluid measurement by "Periotron". *J. Periodontol.* 52 : 697-700, 1981.
- 18) Armitage, G. C., Dickinson, W. R., Jenderseck, R. S., Levine, S. M. and Chambers, D. W. : Relationship between the percentage of subgingival spirochetes and the severity of periodontal disease. *J. Periodontol.* 53 : 550-556, 1982.
- 19) Oosten van, M. A. C., Mikx, F. H. M. and Rennggli, H. H. : Microbial and clinical

- measurements of periodontal pockets during sequential periods of non-treatment, mechanical debridement and metronidazole therapy. *J. Clin. Periodontol.* 14 : 197-204, 1987.
- 20) Biagini, G., Checchi, L., Miccoli, M. C., Vasi, V. and Castadini, C. : Root curettage and gingival repair in periodontitis. *J. Periodontol.* 59 : 124-129, 1988.
 - 21) Slots, J., Emrich, L. L., Genco, R. J. and Rosling, B. G. : Relationship between some subgingival bacteria and periodontal pocket depth and gain or loss of periodontal attachment after treatment of adult periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 12 : 540-552, 1985.
 - 22) MacPhee, L. T. and Muir, K. F. : Dark ground microscopy in relation to 3 clinical parameters of chronic inflammatory periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 13 : 900-904, 1986.
 - 23) Harper, D. S. and Robinson, P. J. : Correlation of histometric, microbial, and clinical indicators of periodontal disease status before and after root planing. *J. Clin. Periodontol.* 14 : 190-196, 1987.
 - 24) Loos, B., Claffey, N. and Crigger, M. : Effects of hygiene measures on clinical and microbiological parameters of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 15 : 211-216, 1988.
 - 25) Greenstein, G. : The role of bleeding upon probing the diagnosis of periodontal disease, A literature review. *J. Periodontol.* 55 : 684-688, 1984.
 - 26) Kalkwarf, K. L., Kaldahl, W. B., Patil, K. D. and Molvar, M. P. : Evaluation of gingival bleeding following four types of periodontal therapy. *J. Clin. Periodontol.* 16 : 601-608, 1989.
 - 27) Bardersten, A., Nilveus, R. and Egelberg, J. : Effect of non-surgical periodontal therapy. (VIII). Probing attachment changes related to clinical characteristics. *J. Clin. Periodontol.* 14 : 425-432, 1987.
 - 28) Bardersten, A., Nilveus, R. and Egelberg, J. : Scores of plaque, bleeding, suppuration and probing depth to predict probing attachment loss. 5 years of observation following non-surgical periodontal therapy. *J. Clin. Periodontol.* 17 : 102-107, 1990.
 - 29) Claffey, N., Nylund, K., Kiger, R., Garrett, S. and Egelberg, J. : Diagnostic predictability of scores of plaque, bleeding, suppuration and probing attachment loss. 3 1/2 years of observation following initial periodontal therapy. *J. Clin. Periodontol.* 17 : 108-114, 1990.
 - 30) Engelberger, T., Heftti, A., Kallenberger, A. and Rateiotschak, K. H. : Correlation among Papilla Bleeding Index, other clinical indices and histologically determined inflammation of gingival papilla. *J. Clin. Periodontol.* 10 : 579-585, 1983.
 - 31) Nowicki, D., Vogel, R. I., Melcer, S. and Deasy, M. J. : The gingival bleeding time index. *J. Periodontol.* 52 : 260-266, 1981.
 - 32) Hirsch, R. S., Clarke, N. G. and Toensend, G. C. : The effect of locally released oxygen on the development of plaque and gingivitis in man. *J. Clin. Periodontol.* 8 : 21-28, 1981.
 - 33) Ramfjord, S. P. and Ash, Jr. M. M. : Significance of occlusion in the etiology and treatment of early, moderate and advanced periodontitis. *J. Periodontol.* 52 : 511-517, 1981.
 - 34) Rosenberg, E. S., Evian, C. I. and Listgarten, M. A. : The composition of the subgingival microbiota after periodontal therapy. *J. Periodontol.* 52 : 435-441, 1981.
 - 35) Singletary, M. M., Crawford, J. J. and Simpson, D. M. : Dark-field microscopic subgingival bacteria during periodontal therapy. *J. Periodontol.* 53 : 671-681, 1982.
 - 36) Magnusson, I., Lindhe, J., Yoneyama, T. and Liljberg, B. : Recolonization of a subgingival microbiota following scaling in the deep pockets. *J. Clin. Periodontol.* 11 : 193-207, 1984.
 - 37) Offenbacher, S., Costopoulos, S. V., Odle, B. M. and Van Dyke, T. E. : Microbial colonization patterns of loosely adherent subgingival plaque in adult periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 15 : 53-59, 1988.
 - 38) Sbordone, L., Ramaglia, L., Gulletta, E. and Iacono, V. : Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis. *J. Periodontol.* 61 : 579-584, 1990.
 - 39) Mosques, T., Listgarten, M. A. and Phillips, W. : Effect of scaling and root planing on the compositions of the human subgingival microbial flora. *J. Clin. Periodontol.* 15 : 144-151, 1980.
 - 40) Greenwell, H., Baker, A., Bissada, N., Debanne, S. and Rowland, D. : The effect of Keyes' method of oral hygiene on the

- subgingival microflora compared to the effect of scaling and/or surgery. J. Clin. Periodontol. 12 : 327-341, 1985.
- 41) Renvert, S., Wikström, M., Dahlén, G., Slots, J. and Egelberg, J. : On the inability

of root debridement and periodontal surgery to eliminate *Actinobacillus actinomycetem-comitans* from periodontal pockets. J. Clin. Periodontol. 17 : 351-355, 1990.