歯周ポケット細菌の DNA プローブ法による検討

山 村 早百合 金 澤 篤 西 野 恒 理 澁 谷 俊 昭
堀 敏 子 水 野 清 白 木 雅 文 岩 山 幸 雄

朝日大学歯学部歯周病学講座

(主任：岩山幸雄教授)

(平成2年3月16日受付)

Bacteriological Evaluation of Periodontal Pockets Using DNA Probe Technology

Sayuri YAMAMURA, Atsushi KANAZAWA, Watari NISHINO, Toshiaki SHIBUTANI,
Toshiko HORI, Kiyoshi MIZUNO, Masafumi SHIRAKI and Yukio IWAYAMA

Department of Periodontology, Asahi University School of Dentistry

1851-1 Hozumi, Hozumi-cho, Motosu-gun, Gifu-pref. 501-02, Japan

(Chief : Prof. Yukio IWAYAMA)

The present investigation was designed to assess determination of three periodontopathic bacteria, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*Aa*), *Bacteroides gingivalis* (*Bg*) and *Bacteroides intermedius* (*Bi*) in periodontal pockets of eighteen patients with adult periodontitis, using the DMDx® Test, and to examine the relationship between distribution of the three pathogens and clinical parameters (Plaque Index, Gingival Index, Bleeding on probing, suppuration and probing depth).

Four sites which had more than 5 mm periodontal pocket in each patient were selected, and seventy-two sites in all were examined. Thus, the following results were obtained :

Bg was the most prevalent species. Although thirty-nine sites (54.2%) showed high positive levels (+3) of *Bg*, similar levels (+3) of *Aa* and *Bi* were found at 1 site and 4 sites, respectively. However the detected proportions of *Aa* amounted to 70.9%. Furthermore a statistically significant difference in probing depth was found between the group having a high level of all three pathogens and the group having low levels.

As the DMDx® Test took only a short time for sampling and the sampling method was easy, it was suggested that the DMDx® Test was useful for the diagnosis and treatment of periodontal disease.

Key words : Periodontopathic bacteria, DNA probe detection, Adult periodontitis

要旨 : 成人型歯周炎患者 18 名の歯周ポケット内の 3 種類の細菌, 即ち *A. actinomycetemcomitans* (*Aa*), *B. gingivalis* (*Bg*), *B. intermedius* (*Bi*) の出現頻度を DMDx® Test を用いて診査し, 臨床的パラメーター (PIL, GI, プロービング後の出血, 排膿, probing depth) との関係を検討した。

各患者から 5 mm 以上のポケットを有する部位を 4 部位ずつ選択し, 合計 72 部位を被験部位とした。その結果, *Bg* の出現頻度が最も多く, +3 の部位は 72 部位中 39 部位 54.2% であったのに対して *Aa*, *Bi* の +3 の部位はそれぞれ 1 部位と 4 部位であった。しかし *Aa* は全被験部位の 70.9% に検出された。さらに 3 種類の菌のレベルが高い部位では低い部位に比して probing depth の値が有意に高かった。

DMDx® Test はサンプリングに要する時間が短くしかもその方法が簡便であることから、臨床的に有用性が高いことが示唆された。

索引用語：歯周病原性細菌, DNA プローブ法, 成人型歯周炎

緒 言

歯周疾患の発症ならびに進行にプラーク中の細菌が大きく関与している^{1,2)}ことは周知のことであり、最近では歯周病の病型により局所に特定細菌が増加する³⁻⁵⁾ことが明確にされてきた。しかも歯周疾患の進行は、活動期と静止期があり、活動期において歯周組織の破壊が急激に進むことが報告されている⁶⁾。臨床の場で各患者のポケット内細菌叢の同定を迅速かつ正確に行なうことが可能であれば、歯周病変の活性度をより正確に把握でき、診断、歯周治療あるいはメンテナンスを行なう上で大変有効であると考えられる。

近年、医学の分野を中心に、高精度な診査法が研究され、特に分子生物学の進歩により DNA の配列に注目した DNA probe technology が研究され、臨床サンプル中の細菌の菌叢が比較的簡単にしかも正確に同定できるようなシステムが開発された⁷⁻¹¹⁾。

本研究は、歯周病原性が高いといわれている *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* の3種類の細菌を BioTechnica Diagnostics 社製 DMDx® Test を用いて同定し、深い歯周ポケットにおけるそれぞれの菌の出現頻度を検討することともに、臨床的パラメーターとの関係を明らかにすることを目的として行なった。

材料と方法

朝日大学歯学部附属病院歯周病科を受診し、成人型歯周炎と診断された患者 18 名（男性 10 名、女性 8 名、年

齢 27 歳～54 歳、平均年齢 41.1 歳）から、5 mm 以上の歯周ポケットを有する部位を各々 4 部位ずつ選択し、合計 72 部位について検討した。

臨床的パラメーターとして各部位ごとに Plaque Index (PII)¹²⁾, Gingival Index (GI)¹³⁾, Bleeding on probing (Bop, + or -), suppration (sup, + or -), probing depth (pd, mm) を測定した。細菌検査は、BioTechnica Diagnostics 社製 DMDx® Test を用いて行なった。即ち、被験歯周囲を簡易防湿後、被験歯表面を綿球にて清掃、エアーシリンジにより乾燥、添付のペーパーポイントを各被験歯面歯周ポケット内に 10 秒間挿入、その後添付のマイクロチューブに細菌採取後のペーパーポイントを保管し、BioTechnica Diagnostics 社に郵送した。BioTechnica Diagnostics 社では歯周病原性が高いと考えられている3種類の細菌 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), *Bacteroides gingivalis* (Bg), *Bacteroides intermedius* (Bi) の存在を表 1 に示すような基準で Negative, Low, Moderate, High の4段階に評価しており、我々は便宜的に数値化するためにそれぞれ Negative (-), Low (+1), Moderate (+2), High (+3) としたものを判定に用いた。被検部位からの細菌採取の一連の操作は5分以内に終了し、結果は2週間以内に判明した。

結 果

対象とした成人性歯周炎患者 18 名は、アメリカ歯周病学会の分類¹⁴⁾により分類すると、軽度 1 名、中等度 10 名、重度 7 名であった。

臨床的パラメーターの分布を表 2 に示した。口腔内の

表 1 BioTechnica Diagnostics 社による評価

Negative (-)	病原性細菌が総細菌数の 0.1% 以下、あるいは 10^3 cells 以下
Low (+ 1)	病原性細菌が総細菌数の 0.1～0.9%, あるいは 10^3 cells
Moderate (+ 2)	病原性細菌が総細菌数の 1.0～9.9%, あるいは 10^4 cells
High (+ 3)	病原性細菌が総細菌数の 10% 以上、あるいは 10^5 cells 以上

便宜的に数値化するためにそれぞれ Negative(-), Low(+1), Moderate(+2), High(+3) とした。

清掃程度は比較的良好で、PII が 1 の部位が 51 部位 70.9 % で、PII が 3 の部位は存在しなかった。GI は 2 以上の部位が 51 部位で中程度以上の炎症を有する部位が多かった。Bop は 62 部位 86.1%, sup は 56 部位 77.8 % であった。また平均 pd は 6.67 mm で中等度以上の歯周破壊を示した。

歯周病原性細菌の出現頻度は、Bg が最も多く、+3 の部位は 72 部位中 39 部位 54.2% であったのに対して、Aa ならびに Bi の +3 の部位は各々 1 部位 1.4% と 4 部位 5.6% にすぎなかった(図 1)。また Aa は +1:37 部位 51.4%, +2:13 部位 18.1%, +3:1 部位 1.4% と総計 70.9% の部位に検出された。

細菌の出現頻度と臨床的パラメーターの分布を表 3 に示した。PII:1 では Aa: +1, Bg: +3 の部位がそれぞれ 23 部位, Bi では PII:1 で-, +1, +2 の部位がそれぞれ 16, 18, 17 部位と分布していた。また GI:2 で Aa: +1 の部位が 26 部位, GI:2 で Bg: +3 の部位が 25 部位, GI:2 で Bi: +2 の部位が 20 部位であった。Aa: +1 で Bop: + の部位は 35 部位と出血があっても出現頻度が低く, Bop: + で Bg: +3 の部位が 36 部位にも達しており, 出血と Bg の出現が深く関連していた。Bop: + で Bi: +1 と +2 の部位はそれぞれ 22 部位ずつ存在した。sup と pd についても Bop と同様な傾向を示した。

3 種類の歯周病原性細菌の出現頻度を、Zambon ら¹⁵⁻¹⁷⁾は歯槽骨の吸収、アタッチメントのロスと細菌の検出率に注目して、Aa: -, Bg: -, +1, Bi: -, +1, +2 を stable, Aa: +2, +3, Bg: +3, Bi: +3 を higher risk と分類した。Zambon らの分類に従って、1 種類の細菌でも higher risk に分類される部位は red zone, 3 種類の細菌すべてが stable である部位を blue zone, これに属さない部位、即ち Aa: +1 と Bg: +2 を含む部位は比較的危险度が高いという pink zone の各グループに分けた結果、blue zone グループは 17 部位, pink zone グループは 14 部位, red zone グループは 41 部位であった(表 4)。臨床的パラメーターと zone 別グループとの関係を表 5 に示した。臨床的パラメーターは red zone グループで高くなる傾向がみられたが、特に Bop は blue zone グループでは 17 部位中 11 部位 65.0% にみられたのに対して、pink zone グループと red zone グループではそれぞれ 14 部位中 13 部位 92.9 %, 41 部位中 38 部位 92.7% に観察された。pd は blue zone グループ, pink zone グループ, red zone グループでそれぞれ 5.65 mm, 6.36 mm, 7.20 mm であった。さ

表 2 臨床的パラメーターの分布

	分類	部位数
Plaque Index	3	0
	2	8
	1	51
	0	13
	mean±S.D.	0.93±0.54
Gingival Index	3	7
	2	44
	1	16
	0	5
	mean±S.D.	1.74±0.73
Bleeding on probing	+	62
	-	10
	%	86.1
suppuration	+	56
	-	16
	%	77.8
probing depth (mm)	10	7
	9	3
	8	12
	7	12
	6	13
	5	25
	mean±S.D.	6.67±1.64

被験総数は 72 部位

らに blue zone グループと red zone グループにおいて各臨床的パラメーターとの関係を調べたところ、pd においてのみ有意差が認められた(表 6, $P<0.01$)。

考 察

近年、プラーク中の細菌が歯周炎の進行ならびに歯周組織の破壊に深く関与し^{1,2)}、さらに歯周疾患の病型により優位菌種が異なる³⁻⁵⁾ことが明らかにされてきた。それにつれて歯周疾患の診査、診断およびその治療形態が系統化され、その考え方を受けて現在はプラークコントロールを中心とした治療が組み立てられている。歯周組織の状態を正確に把握することがその後の治療あるいは治療後の予後判定には大変重要な位置を占めてくる。歯周疾患の現在の状態を正確に知ることはもちろんであるが、口腔内という特殊な状況下にあることから治療後の

図 1 歯周病原性細菌の出現頻度

表 3 細菌検査と臨床的パラメーターとの関連

		<i>A. actinomycetemcomitans</i>				<i>B. gingivalis</i>				<i>B. intermedius</i>			
		—	+1	+2	+3	—	+1	+2	+3	—	+1	+2	+3
Plaque Index	2	1	6	1	0	1	1	0	6	1	4	2	1
	1	18	23	9	1	13	9	6	23	16	18	17	0
	0	2	8	3	0	1	1	1	10	2	5	3	3
Gingival Index	3	1	3	3	0	1	0	0	6	1	6	0	0
	2	10	26	7	1	5	8	6	25	8	15	20	1
	1	9	5	2	0	8	3	1	4	9	3	1	3
	0	1	3	1	0	1	0	0	4	1	2	2	0
Bleeding on probing	+	15	35	11	1	9	10	7	36	14	22	22	4
	—	6	2	2	0	6	1	3	0	5	4	1	0
suppuration	+	17	29	9	1	11	8	6	31	14	18	20	4
	—	4	8	4	0	4	3	1	8	5	8	3	0
probing depth (mm)	10	0	6	1	0	0	0	0	7	0	1	6	0
	9	0	2	1	0	0	0	0	3	0	1	1	1
	8	3	8	1	0	2	1	2	7	2	5	2	3
	7	2	7	2	1	1	5	1	5	3	4	5	0
	6	2	4	7	0	1	0	2	10	2	6	5	0
	5	14	10	1	0	11	5	2	7	12	9	4	0

表中の数字は部位数を表す

表 4 歯周病原性細菌レベルによる分類

stable (blue zone)				relatively risk (pink zone)				higher risk (red zone)			
Aa	Bg	Bi	部位数	Aa	Bg	Bi	部位数	Aa	Bg	Bi	部位
-	-	-	13	-	+2	+1	1	-	+3	+1	3
-	-	+1	2	+1	+1	-	3	+1	+3	+1	7
-	+1	-1	1	+1	+1	+1	4	+1	+3	+2	14
-	+1	+2	1	+1	+1	+2	1	+1	+3	+1	3
				+1	+2	-	1	+2	+2	-	1
				+1	+2	+1	4	+2	+3	+1	5
								+2	+3	+2	6
								+2	+3	+3	1
								+3	+1	+2	1

Aa : *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

Bg : *Bacteroides gingivalis*

Bi : *Bacteroides intermedius*

blue zone : Aa(-) Bg(-)(+1) Bi(-)(+1)(+2)

pink zone : Aa(+1) Bg(+2)

red zone : Aa(+2)(+3) Bg(+3) Bi(+3)

3種類の細菌すべてが blue zone に層する場合は blue zone グループ、

1種類の細菌でも red zone に層する場合は、red zone グループ、

それ以外の場合は pink zone グループに分類した。

表 5 各 zone における臨床的パラメーター

	blue zone	pink zone	red zone
部位数	17	14	41
plaque Index	1.00±0.35	1.00±0.39	0.88±0.64
Gingival Index	1.41±0.71	1.86±0.36	1.83±0.80
Bleeding on probing	64.7	92.9	92.7
suppuration	76.5	78.6	78.0
probing depth (mm)	5.65±1.11	6.36±1.22	7.20±1.75

表中の数字は Plaque Index, Gingival Index, probing depth については mean±S.

D. Bleeding on probing, suppuration については%を表す

予後をも予測して治療を進めることが必要になる。Polson と Goodson¹⁸⁾ は、歯周病の診断には歯肉の炎症、結合組織の破壊、歯肉溝滲出液量と成分、宿主応答、局所細菌叢の検討が必要であると述べている。歯周疾患の原因に細菌が関与することが明らかにされて久しいが、歯周病の日常的な臨床検査では歯周ポケットの細菌の動態がその対象とされることはほとんどなく、あい

もかわらず症状の変化や歯周組織の臨床像を記録するのが主体である。また歯周疾患の進行は間欠的で、活動期と静止期があり、活動期には歯周ポケット内の細菌が大きく関与して歯周組織の破壊が急速に進む⁶⁾といわれており、歯周ポケット内細菌の検査が重要であることが示唆される。

細菌の検査法としては形態学的分類を行なう顕微鏡的

表 6 blue zone と red zone における臨床的
パラメーターとの関係

	blue zone * red zone
Plaque Index	N.S
Gingival Index	N.S
Bleeding on probing	N.S
suppuration	N.S
probing depth	p<0.01

検定は Wilcoxon の検定による
N.S : not significant

検査, 蛍光抗体法, ELISA 法, 培養法などがある。形態学的研究では細菌種の決定は困難であり, 培養法は嫌気性菌の研究の著しい進歩により次第に簡便化されてきたが, やはり分離, 同定には時間を要し, しかも操作がかなり煩雑で細菌レベルにおける病原性の検出にも限界がある。

近年, 医学の分野を中心に, 高精度な検出法が研究され, 特に分子生物学の進歩により DNA の配列に注目した DNA probe technology が開発され⁷⁻¹¹⁾, 臨床サンプル中の細菌の菌叢が比較的簡単にしかも正確に同定できるようなシステム, 即ち BioTechnica Diagnostics 社の DMDx® Test が開発された⁷⁻¹¹⁾。Savitt ら¹¹⁾は *A. actinomycetemcomitans*, *B. gingivalis*, *B. intermedius* を従来からの培養法と DNA probe 法を用いてその検出率を比較した結果, DNA probe 法は 3 種類の細菌すべてにおいて培養法より検出率が高く, 方法として優れていたことを示した。さらに DMDx® Test はサンプリング方法が添付のペーパーポイントにより歯肉縁下のプラークを採取するのみと簡単であり, しかも嫌気条件下での採取が必要でない。また採取した細菌の判定は BioTechnica Diagnostics 社において行なわれるため通常の煩雑な操作の必要がなく, チェアサイドで簡単に使用できるという利点がある。

Zambon ら¹⁵⁾, Slots ら¹⁶⁾, Wennström ら¹⁷⁾は *A. actinomycetemcomitans*, *B. gingivalis*, *B. intermedius* が進行した成人型歯周炎と密接に関係していることを報告した。磯島ら¹⁹⁾は rapid DNA-DNA hybridization assay により black-pigmented *Bacteroides* 6 菌種の歯周疾患部位での分布を検討し, 部位により *Bacteroides* の分布が異なり, *B. gingivalis* が最も優勢な菌種であることを確認した。また歯周破壊の臨床的所見は black-pigmented *Bacteroides* の分布と必ずしも関係していないことを示した。

成人型歯周炎においては *A. actinomycetemcomitans* の出現頻度は極めて低いといわれており, 太田²⁰⁾は重症の歯周炎患者で 0.6%, 梅田²¹⁾は正常者で 0~0.6%, 歯周炎患者では 0~1.2% の検出率であることを報告している。しかし Savitt ら¹¹⁾は若年性歯周炎ではもちろんであるが, 成人型歯周炎患者からも *A. actinomycetemcomitans* の検出率が高いことを示し, *A. actinomycetemcomitans* の出現頻度が 79.9% にも達していた今回の結果と一致した。

太田²⁰⁾は成人型歯周炎と特定細菌との関連性を明確にするために菌叢変化と病態経過を対比した。重症の歯周炎患者のポケット内細菌は black-pigmented *Bacteroides* が菌叢の半数近くを占め, *B. gingivalis* の検出率が最も多く 32.0% であったのに対して, *B. intermedius* は 4.2%, *A. actinomycetemcomitans* は 0.6% にすぎなかったことを観察した。今回の対象は成人型歯周炎患者であったため, 太田²⁰⁾や他の研究者^{19, 21, 22)}同様, *B. gingivalis* が最も検出率の高い優勢な菌種であることが確認された。

斉藤²²⁾は black-pigmented *Bacteroides* 菌種の検出状況と疾病の進行状況との関連性を明らかにするために分離, 同定を行ない, *B. intermedius* は歯周疾患の程度に関係なく検出率が高く, 歯肉の炎症に深く関与する重要な細菌であることを示した。今回 *B. intermedius* の出現頻度は 72 部位中 53 部位 73.6% と比較的検出率は高かったが, 歯肉の炎症との関係は確認できなかった。Zambon ら¹⁵⁾は歯周炎患者のポケット内の歯周病原性細菌の検出率とその割合を蛍光抗体法により調べ, *B. gingivalis* の割合と歯槽骨吸収程度が相関することを示した。

Zambon ら¹⁵⁻¹⁷⁾はアタッチメントのロスと歯槽骨破壊に注目して細菌の歯周病原性の高低を論じているが, BioTechnica Diagnostics 社ではその病原性により blue, pink, red の各 zone に細菌を分類している。Zambon らの分類から *B. intermedius* は *A. actinomycetemcomitans* や *B. gingivalis* に比較して病原性が低く, *A. actinomycetemcomitans* が 3 種類の細菌で歯周病原性が最も高いことが考えられる。我々はこの分類に従ってグループ分けを行ない, 臨床的パラメーターとの比較をしたところ 1 種類の細菌でも red zone に属するグループは 3 種類の細菌すべて blue zone に含まれるグループにくらべて高い値を示す傾向にあり, 特に probing depth においては有意差を示し, 細菌の出現頻度と歯槽骨破壊との関連が示唆された。

結 論

本研究は、DNA probe technology に基づいて開発された BioTechnica Diagnostics 社製 DMDx® Test を用いて、歯周病原性が高いといわれている3種類の細菌、即ち *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* の成人型歯周炎患者の歯周疾患局所での出現頻度を検討するとともに、臨床的パラメーターとの関係を明らかにすることを目的として行なった。

その結果、

1) *B. gingivalis* の出現頻度が最も多く、+3 の部位は 72 部位中 39 部位であった。

2) *A. actinomycetemcomitans* の検出率が +1 : 37 部位、+2 : 13 部位、+3 : 1 部位と計 51 部位 70.8% に達していた。

3) Zambon らの分類に従ってグループに分けたとき、red zone を含むグループは3種類の細菌すべて blue zone に含まれるグループに比較して probing depth で有意に高い値を示した。

以上の結果から、DMDx® Test はサンプリング時間が短く方法も簡単で、臨床的に有用性が高いことが示唆された。

尚、本研究は一部文部省科学研究費（平成元年度奨励研究A、課題番号 01771623）の補助により行われたことを付記する。

文 献

- 1) Le, H., Theilade, E. and Jensen, S.B. : Experimental gingivitis in man. J. Periodontol., 36 : 177-187, 1965.
- 2) Socransky, S.S. : Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. J. Dent. Res., 49 : 203-222, 1970.
- 3) Slots, J., Reynolds, H.S. and Genco, R.J. : *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease : A cross-sectional microbiological investigation. Infect. Immun., 29 : 1013-1020, 1980.
- 4) Slots, J. and Genco, R.J. : Microbial pathogenicity. Black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species, and *Actinobacillus ac-*

tinomycetemcomitans in human periodontal disease : Virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. J. Dent. Res., 63 : 412-421, 1984.

- 5) Savitt, E.D. and Socransky, S.S. : Distribution of certain subgingival microbial species in selected periodontal conditions. J. Periodont. Res., 19 : 111-123, 1984.
- 6) Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Goodson, J.M. and Lindhe, J. : New concepts of destructive periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 11 : 21-32, 1984.
- 7) Berry, A.J. and Peter, J.B. : DNA probes for infectious disease. Diagnostic Medicine, 7 : 62-72, 1984.
- 8) French, C.K., Savitt, E.D., Simon, S.L., Eklund, S.M., Chen, M.C., Klotz, L.C. and Vaccaro, K.K. : DNA probe detection of periodontal pathogens. Oral Microbiol. Immunol., 1 : 58-62, 1986.
- 9) Strzempko, M.N., Simon, S.L., French, C.K., Lippke, J.A., Raia, F.F., Savitt, E.D. and Vaccaro, K.K. : A cross-reactivity study of whole genomic DNA probes for *Haemophilus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides intermedius* and *Bacteroides gingivalis*. J. Dent. Res., 66 : 1543-1546, 1987.
- 10) BioTechnica Diagnostics, Cambridge, MA 02138, personal communication. Background on DNA probe technology.
- 11) Savitt, E.D., Strzempko, M.N., Vaccaro, K.K., Peros, W.J. and French, C.K. : Comparison of cultural methods and DNA probe analyses for the detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in subgingival plaque samples. J. Periodontol., 59 : 431-438, 1988.
- 12) Silness, J. and Le, H. : Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta Odont. Scand., 22 : 121-135, 1964.
- 13) Le, H. and Silness, J. : Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. Acta Odont. Scand., 21 : 533-551, 1963.

- 14) 堀 俊雄, 早瀬一夫 : 歯周疾患の分類, 長谷川絃司, 岩山幸雄, 歯周病の臨床, 医歯薬出版, 東京, 1990, 214-216.
- 15) Zambon, J.J., Bochacki, V. and Genco, R.J. : Immunological assays for putative periodontal pathogens. *Oral Microbiol. Immunol.*, 1 : 39-44, 1986.
- 16) Slots, J., Bragd, L., Wikström, M. and Dahlén, G. : The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J. Clin. Periodontol.*, 13 : 570-577, 1986.
- 17) Wennström, J.L., Dahlén, G., Svensson, J. and Nyman, S. : *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* : predictors of attachment loss ? *Oral Microbiol. Immunol.*, 2 : 158-163, 1987.
- 18) Polson, A.M. and Goodson, J.M. : Periodontal Diagnosis. Current status and future needs. *J. Periodontol.*, 56 : 25-34, 1985.
- 19) 磯島 修, 太田寛行, 栗本桂二, 小林芳友, 福井一博, 加藤慶二郎, 栗原英見, 野村慶雄, 村山洋二 : 同一口腔内の歯周ポケット別 black-pigmented *Bacteroides* の分布. 第 37 回 JADR 抄録集 : 72, 1989.
- 20) 太田安昭 : 歯周炎局所菌叢の病因的解析. — 抗生物質投与による菌叢と臨床所見の変化 —. *歯科学報*, 84 : 1209-1223, 1984.
- 21) 梅田 誠 : 偏性嫌気性スピロヘータを含めた歯周ポケット内細菌の培養法の検討. *日歯周誌*, 29 : 91-105, 1987.
- 22) 斉藤 正 : 歯周疾患病巣における黒色色素産性 *Bacteroides* の検出率と分離菌種. *日歯周誌*, 29 : 1-11, 1987.

連絡先 :

朝日大学歯学部歯周病学講座

〒 501-02 岐阜県本巣郡穂積町穂積 1851-1