歯周初期治療前後のポケット細菌の DNAプローブ法による検討

山 村 早百合 金 澤 篤 澁 谷 俊 昭
小 出 修 身 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6月15日受付)

Bacteriological Evaluation of Periodontal Pockets before and after Initial Preparation Using DNA Probe Technology

Sayuri YAMAMURA, Atsushi KANAZAWA, Toshiaki SHIBUTANI,
Osami KOIDE, 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 purpose of this study was to evaluate the effects of initial preparation on three periodontal pathogens, *A. actinomycetemcomitans* (*Aa*), *B. gingivalis* (*Bg*) and *B. intermedius* (*Bi*), in periodontal pockets. Twelve adult cases of periodontitis (43 sites) involving a probing depth of over 5 mm were examined in this study. Microbiological and clinical changes after initial preparation were compared with those at the first examination. Microbiological examination was performed by assessing the bacteriological distribution of three periodontal pathogens in periodontal pockets using the DMDx® Test. Clinical examination included assessment of Plaque Index (PII), Gingival Index (GI), Bleeding on probing (Bop), suppuration (sup) and probing depth (pd).

The results were as follows :

Clinical parameters were improved after initial

preparation, and the decrease in probing depth was especially remarkable. In microbiological examination, the frequency of detection of the three periodontal pathogens was decreased, being markedly so for *Bg*. The number of sites with changes in detection rates from a high level to a negative level was 14 sites in *Bg*, and improvement was seen in 3, and the decreased frequency of detection of *Bg* was seen too in classification by periodontal pathogenicity. It was shown that *Bg* responded well in comparison with *Aa* and *Bi* to initial preparation. A positive correlation was observed between detection of the three periodontal pathogens, *i.e.* *Aa*+*Bg*+*Bi*, and probing depth before and after initial preparation.

The results of the present investigation suggest that DMDx® Test is a clinically useful method for assessing the three periodontal pathogens.

Key words : Periodontopathic bacteria, DNA probe technology, Initial preparation

要旨：成人型歯周炎患者12名の歯周ポケット内の3種類の細菌，*A. actinomycetemcomitans* (*Aa*)，*B. gingivalis* (*Bg*)，*B. intermedius* (*Bi*) の歯周初期治療前後での出現頻度の変化を DMDx® Test を用いて検査し，臨床的パラメーター (PII, GI, Bop, sup, pd) との関係を検討した。

5 mm 以上のポケットを有する歯周炎罹患部位43部位を被験部位として歯周初期治療を行った。その結果，臨床的パラメーターは一様に減少し，特に pd で顕著であった。細菌検査においては *Aa*, *Bg*, *Bi* ともに出現頻度の減少がみられたが特に *Bg* における改善が著明で，改善3の部位が14部位存在し，病原性の高低による分類からも大きく改善され，*Bg* が *Aa*, *Bi* に比較して治療に良く反応したことを示した。

歯周初期治療により臨床的パラメーターの改善のみならず，細菌の出現頻度が減少し，しかも DMDx® Test はサンプリング時間も短く，簡単に細菌検査が行え，臨床的に有用性が高いことが示唆された。

索引用語：ポケット細菌，DNA プローブ法，歯周初期治療

緒 言

歯周疾患の発症ならびに進行に特定のグラム陰性桿菌やスピロヘータが関与し^{1,2)}，歯周病の進行に伴い，また歯周病の病型により歯周ポケット内に特定細菌が増加すること³⁻⁵⁾が明らかにされてきた。さらに適切な歯周治療によって細菌を除去することによって病変が改善されることが報告されており⁶⁻¹⁰⁾，現在では歯周ポケット内細菌叢の同定を迅速かつ正確に行えれば，歯周疾患の状態を的確に把握することができると同時に，歯周疾患の診断，治療あるいはメンテナンスを行う上で大変重要であると考えられている。

歯周ポケット内細菌叢の検索には，嫌気的培養法，顕微鏡を用いた形態学的観察，蛍光抗体法，ELISA 法等があるが，同定には時間がかかり，操作も煩雑である。

近年，医学の分野を中心に DNA 配列に注目した DNA probe technology の進歩により，臨床サンプル中の細菌叢が比較的簡単にしかも正確に同定できるシステム，BioTechnica Diagnostics 社製 DMDx® Test が開発された¹¹⁻¹³⁾。著者ら¹⁴⁾は初診時における3種類の歯周病関連細菌，即ち *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*Aa*)，*Bacteroides gingivalis* (*Bg*)，*Bacteroides intermedius* (*Bi*) の歯周ポケット内での出現頻度について DMDx® Test を用いて検討した結果，*Bg* の出現頻度が最も高く，*Aa* の検出率が70.8%に達していたことを明らかにした。

本研究は，DMDx® Test を用いて歯周初期治療前後での3種類の歯周病関連細菌，*Aa*, *Bg*, *Bi* の出現頻度の変化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った。

材料と方法

1. 被験者および被験部位

朝日大学歯学部附属病院歯周病科に来院し，成人型歯周炎と診断された患者12名（男性7名，女性5名，年齢27歳～53歳，平均年齢40.2歳）から，初診時に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48部位について初診時と再評価時に臨床的ならびに細菌学的検討を行った。なお被験者は全身疾患を有していないこと，実験開始前3ヵ月以内に抗生物質の投与を受けていない等の条件を満たしていた。

2. 臨床診査

各被験部位ごとに以下のような臨床的パラメーターの測定を行った。

1) Plaque Index (PII)

Silness and Løe の方法¹⁵⁾に準じて測定した。

2) Gingival Index (GI)

Løe and Silness の方法¹⁶⁾に準じて測定した。

3) Bleeding on probing (Bop)

probing によって出血のあった部位を+，出血のみられなかった部位を-とした。出血のあった部位の被験部位総数に対する割合を Bop として計算した。

4) suppuration (sup)

Bop と同様に，排膿のみられた部位を全被験部位に対する百分率であらわした。

5) probing depth (pd)

Williams 型プローベを用いて1 mm 単位で測定した。

3. 細菌検査

細菌検査は，BioTechnica Diagnostics 社製 DMDx® Test を用いて行った。被験部位の周囲の簡易防湿後，被験部位を線球にて清掃，エアースリッジにより乾燥，

添付のペーパーポイントを被験部歯周ポケット内に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いわれている3種類の細菌 *Aa*, *Bg*, *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、著者らは便宜的にそれぞれ Negative (-), Low (+1), Moderate (+2), High (+3) としたものを判定に用いて、初診時、再評価時の臨床的パラメーターの変化ならびに歯周初期治療による細菌の出現頻度の変化について検討した。

また BioTechnica Diagnostics 社ではアタッチメントのロスと歯槽骨破壊に注目してその病原性を高低により歯周組織の状態を stable, higher risk, その中間にわけ、それぞれ便宜上 blue, red, pink に色分けしている¹⁷⁻¹⁹⁾。著者らは3種類の細菌すべてが blue に属する部位を blue zone group, red に属する細菌を1種類でも有した部位を red zone group, そのどちらにも属さない部位を

pink zone group に分類し(表2)、治療前後での臨床的パラメーターならびに部位数の変化を検討した。

4. 統計方法

初診時と再評価時の臨床的パラメーターの比較は Wilcoxon 符号付順位検定により、群間内比較は Wilcoxon 順位検定により行った。また細菌の出現頻度の総和と臨床的パラメーターとの相関関係は Spearman の順位相関により検定を行った。

結 果

対象とした成人型歯周炎患者12名は、アメリカ歯周病学会の分類²⁰⁾にしたがって、軽度0名、中等度6名、重度6名に分類した。初診時に12名の患者から5mm以上のポケットを有する部位をそれぞれ4部位ずつ選択して合計48部位について臨床的ならびに細菌学的検査を行ったが、DMDx® Test による細菌学的検査で3種類の細菌の出現が初診時、再評価時ともにすべて Negative

表1 BioTechnica Diagnostics 社による評価

Negative(-)	: pathogens are less than 0.1% of total or fewer than 10 ³ cells.
Low(+1)	: pathogens range from 0.1% to 0.9% of total or 10 ³ cells.
Moderate(+2)	: pathogens range from 1.0% to 9.9% of total or 10 ⁴ cells.
High(+3)	: pathogens are greater than 10% or 10 ⁵ cells.

表2 病原性による分類

blue zone : <i>Aa</i> (-), <i>Bg</i> (-)(+1), <i>Bi</i> (-)(+1)(+2)
pink zone : <i>Aa</i> (+1), <i>Bg</i> (+2)
red zone : <i>Aa</i> (+2)(+3), <i>Bg</i> (+3), <i>Bi</i> (+3)
3種類の細菌すべてが blue zone に属する部位は blue zone group
1種類の細菌でも red zone に属する部位は red zone group
それ以外を pink zone group に分類

表3 歯周初期治療前後の臨床的パラメーターの変化

	PII	GI	Bop(%)	sup(%)	pd(mm)
初診時	0.79	1.70	93.0	83.7	6.9
再評価時	0.53	1.21	51.2	44.2	4.8

PII, GI, pd については平均, Bop, sup については陽性率を示す

** p<0.01, * : P, 0.05

表4 歯周初期治療前後の細菌の分布状態

	<i>Aa</i>				<i>Bg</i>				<i>Bi</i>			
	-	+1	+2	+3	-	+1	+2	+3	-	+1	+2	+3
初診時	6	24	13	0	1	5	9	28	2	17	21	3
再評価時	32	8	3	0	23	13	3	4	23	12	8	0

被験部位総数は43部位

表中の数字は部位数を示す

の場合は検索から除外した。また初期治療中に抜歯された歯についても除外した。従って Negative 4 部位と抜歯 1 部位を除外した結果、検索部位総数は 43 部位であった。

初診時と再評価時の臨床的パラメーターの分布を表 3 に、3 種類の細菌の分布を表 4 に示した。歯周初期治療によって臨床的パラメーターは一様に減少し、PII をのぞいて有意な減少を示した。また 3 種類の細菌はすべて歯周初期治療によって出現頻度の減少が見られた。

初診時と再評価時の細菌の出現頻度の変化を改善、変化なし、悪化の 3 段階で評価した結果、Bg が大きく変化し、改善 (3) の部位が 14 部位存在し、改善 (2) は Aa で 10 部位、Bg で 13 部位、Bi で 12 部位、改善 (1) はそれぞれ 18 部位、10 部位、21 部位であった。さらに出現頻度の変化を改善率でみると Bg が 86.0% と最も大きく、Aa では若干の低下が見られた (表 5, 6)。

表 5 歯周初期治療前後の細菌の出現頻度の変化

	Aa	Bg	Bi
改善	3	14	
	2	10	12
	1	18	21
変化なし	0	13	5
悪化	-2	1	1
	-1	2	3

治療前後の細菌の出現頻度の差で改善、変化なし、悪化に分類

表中の数字は部位数を示す

表 6 細菌の出現頻度による改善率

Aa	Bg	Bi
65.1	86.0	76.7

表中の数字は%を示す

さらに細菌の歯周病原性の高低による分類に基づく細菌の出現頻度の変化は、Bg は red zone group から blue zone group に変化した部位が 22 部位と多く、歯周破壊の危険性が大きく改善された。Bi は歯周破壊に対する危険性が低く悪化例もなく、初診時から再評価時まで一貫してほとんどの部位が安定した状態を示した (表 7)。

初診時と再評価時の臨床的パラメーターの分布を zone 別に検討した結果、再評価時では blue zone group が 3 部位から 28 部位に増加、red zone group が 32 部位から 7 部位に減少し、歯周初期治療に反応したことを示した。臨床的パラメーターは再評価時では初診時に比較して低い傾向を示し、また red zone group, pink zone group, blue zone group の順に値が低くなる傾向を示し、特に pd で顕著であった (表 8)。

3 種類の細菌の総和と pd との関係を検定したところ、初診時、再評価時ともに 99% の高い相関を示したが、初診時と再評価時の細菌の総和の差と pd の差との間に相関関係は認められなかった (図 1)。

表 7 細菌の zone 別変化

	Aa	Bg	Bi
改善	red → blue	10	22
	red → pink	2	3
	pink → blue	16	9
変化なし	13	8	40
悪化	blue → red	1	
	blue → pink		
	pink → red	2	

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

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

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

表中の数字は部位数を示す

表 8 各 zone 別臨床的パラメーターの分布

初診時						再評価時					
	PII	GI	Bop(%)	sup(%)	pd(mm)		PII	GI	Bop(%)	sup(%)	pd(mm)
blue (n=3)	1.00	1.33	66.7	66.7	5.7	blue (n=28)	0.46	1.29	50.0	32.1	4.5
pink (n=8)	1.00	1.75	100	100	6.4	pink (n=8)	0.63	0.75	37.5	50.0	5.0
red (n=32)	0.72	1.72	93.7	81.3	7.1	red (n=7)	0.71	1.43	71.4	85.7	5.9

PII, GI, pd については平均、Bop, sup については陽性率で示す

図1 細菌の出現頻度と probing depth との関係

$Aa+Bg+Bi$ は細菌の出現頻度の総和を示す

考 察

歯周疾患の主たる原因がプラーク中の細菌であり、最近ではグラム陰性嫌気性桿菌が歯周病原性細菌として注目されてきた¹⁻⁵⁾。例えば *Aa* は限局型若年性歯周炎や rapidly advanced periodontitis の原因や発病に、*Bg* や *Bi* は成人型歯周炎の重症型に関連しており、歯周疾患には、いろいろな因子が複雑に絡み合っているが、これら3種類の細菌は disease activity の優れたマーカーとなりうると考えられている。歯周疾患が感染症であるという概念にともなって歯周治療形態も原因除去療法が主体となり、スケーリング、ルートプレーニングを中心とした歯周初期治療が盛んに行われ、臨床症状の改善だけでなく歯周ポケット内細菌叢の変化が多数報告⁶⁻¹⁰⁾されている。口腔という特殊環境は細菌の生息には絶好の場所であり、それら細菌の動態を調べることが disease activity を知る上で重要であり、歯周疾患の診断、治療予後判定の客観的評価となる。歯周疾患の細菌学的テストは、臨床家にとって (1) 歯周病原性菌の存在の決定、(2) higher risk の部位決定、(3) 効果的な治療の決定、(4) 治療評価の判定、(5) 適切なリコール間隔の確立、(6) さらなる歯槽骨喪失のリスクの情報を提供する。細菌叢の検索には形態学的検査、蛍光抗体法、ELISA 法、培養法な

どがある。しかし臨床的に簡便に歯周ポケット内の細菌叢を調べ、しかもその結果から歯周組織の状態を把握するためにはいずれの方法も適切とはいえない。

近年、分子生物学の進歩により DNA の配列に注目し DNA probe technology が研究され、臨床サンプル中の細菌叢が比較的簡単にしかも正確に同定できるシステムが BioTechnica Diagnostics 社で開発され、DMDx® Test としてキット化された¹¹⁻¹³⁾。著者らはこのキットを用いて成人型歯周炎患者の初診時の細菌の出現頻度を検討し、*Aa* の検出率が高いこと、*Bg* の出現頻度が高いことを報告¹⁴⁾したが、今回の研究では、歯周初期治療による細菌の改善を歯周病原性が高いといわれている *Aa*, *Bg*, *Bi* の3種類の菌について検討するとともに臨床的パラメーターの変動についても検討した。

スケーリング、ルートプレーニングは、器具がポケット底まで確実に到達し、十分な操作が行われれば、歯周外科を行った場合に比較して理想的な治癒が起これと考えられるが、実際にはポケットの形態は複雑であるため、ポケット内のすべての部位に器具を到達させることは不可能である。ポケットの深さについて Waerhaug²¹⁾, Stambaugh ら²²⁾は 5 mm 以上のポケットになると器具操作が不完全になると報告している。今回の研究対象になったポケットは初診時に 5 mm 以上を有する部位を選択したが、最低 5 mm から最高 12 mm まで達していた

(平均 6.9 mm)。深いポケットでは当然器具の操作が不完全となり、再評価時にも平均 4.8 mm のポケットが残存していたが、リスクの高い部位と認められた 7 部位のうち 6 部位に細菌の出現頻度の増加、即ち悪化がみられた。歯周初期治療後に細菌の出現頻度の増加がみられたのは歯周ポケットが複雑な形態をしているためと考えられ、深いポケットでは初期治療のみで治癒が望めないことを示唆していた。また悪化例では 3 種類の細菌がすべて出現頻度を増加しているわけではなく、比較的病原性が低いと考えられている *Bi* の増加部位が多いため、病原性の高低からの分類では悪化部位は 3 例に減少した (表 5, 7)。

歯肉縁下ブラークの採取は添付のペーパーポイントで行ったが、採取される細菌の量は採取方法により異なり、一般にスケーラーや洗浄吸引による方法に比較して採取量が少ないといわれているが、再現性も高く 10^6 の細菌の採取が可能なので検査の精度に対する問題はないと考えられる。また培養法などと違い、DMDx® Test は DNA 配列の適合により細菌を判別するため、採取した細菌が生菌である必要がない。採取した細菌の判定は BioTechnica Diagnostics 社にて行われるため研究室レベルでの煩雑な操作は不要で、臨床家にとってはチェアースайдで簡単に行えるという利点がある。

歯周初期治療の効果を臨床的ならびに細菌学的に検索した研究は多数報告されており、一様に臨床症状の改善、偏性嫌気性菌の減少を認めている^{6,8-10)}が、細菌の比率は臨床的パラメーターの中でもポケットの深さに大きな影響を与えるものと思われる。しかし本城⁷⁾は 5 mm 以上の歯周ポケットに対して歯周初期治療を行い、ポケット内細菌叢の変動について検討した結果、偏性嫌気性菌が優勢で、偏性嫌気性グラム陰性桿菌では *Bacteroides* が高率に分離されたが、治療の進行にかかわらず一定の割合で分離されたことを報告した。今回の研究では 5 mm 以上のポケットに歯周初期治療を行い、臨床的パラメーターの改善、特に排膿とポケットの深さに大きな改善を認めた。さらに *Aa*, *Bg*, *Bi* の出現が減少し、特に *Bg* の改善度が大きく他の 2 細菌に比較して歯周初期治療に対する反応が高いことが示唆された。

Slots ら¹⁸⁾は成人の歯周ポケットの 50% に *Aa* が存在すること、Zambon ら¹⁷⁾、Bonta ら²³⁾は *Aa* は蛍光抗体法により成人型歯周炎からも検出可能であること、Savitt ら¹³⁾は DNA probe technology は従来の培養法に比較して高率に細菌の分離が可能であり、しかも *Aa* についてはかなり信頼性が高いことを報告している。し

かし我が国では *Aa* は若年性歯周炎でも検出率が低く、まして成人型歯周炎患者からの検出は皆無に近い²⁴⁾。今回の研究の対象は成人型歯周炎と診断された患者であったが、*Aa* の初診時での出現頻度が 43 部位中 37 部位 (86.0%) に達しており、Slots ら¹⁸⁾の報告と一致した。

歯周初期治療は臨床症状の改善のみならず、細菌学的にも歯周病原性細菌の減少を引き起こし、有効な手段であることが今回の研究結果からも明らかであった。また逆に、DMDx® Test のように細菌学的検査が簡単にチェアースайдで行われるなら、治療の効果が客観的に把握でき、さらなる治療の必要性についての情報も得ることができると考えられる。

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、高い歯周病原性が示唆されている 3 種類の細菌、即ち *Aa*, *Bg*, *Bi* の歯周初期治療前後での出現頻度の変化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った。

その結果、

- 1) 歯周初期治療により臨床的パラメーターの値が改善され、PII を除く GI, Bop, sup および pd に有意な減少が見られた。
- 2) 歯周初期治療により *Aa*, *Bg* ならびに *Bi* の出現頻度は減少した。
- 3) *Bg* は higher risk から stable な状態に変化する部位が多く、治療に対する感受性が高いことが示唆された。

以上の結果から BioTechnica Diagnostics 社製 DMDx® Test はサンプリング時間が短く方法も簡単で、細菌学的観点から歯周治療の効果を判定する一方法として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) Slots, J. : The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. Scand. J. Dent. Res., 85 : 114-121, 1977.
- 2) Listgarten, M.A. and Levin, S. : Positive cor-

- relation between the proportion of subgingival spirochetes and motile bacteria and susceptibility of human subjects to periodontal deterioration. J. Clin. Periodontol., 8 : 122-138, 1981.
- 3) Savitt, E.D. and Socransky, S.S. : Distribution of certain subgingival microbial species in selected periodontal conditions. J. Periodont. Res., 19 : 111-123, 1984.
 - 4) Slots, J. and Genco, R.J. : Microbial pathogenicity. Black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease : Virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. J. Dent. Res., 63 : 412-421, 1984.
 - 5) Zambon, J.J. : *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 12 : 1-20, 1985.
 - 6) 朴 英樹, 神谷洋行, 奥田一博, 江口泰子, 長谷川栄子, 吉江弘正, 原 耕二 : 歯周ポケット内細菌叢からみた歯周初期治療の効果. 日歯周誌, 26 : 329-338, 1984.
 - 7) 本城範典 : 歯周初期治療による Advancing periodontitis 患者の歯周ポケット内細菌叢の変動. 歯科医学, 47 : 603-620, 1984.
 - 8) Hinrichs, J.E., Wolff, L.F., Pihlstrom, B.L., Schaffer, E.M., Liljemark, W.F. and Bandt, C.L. : Effects of scaling and root planing on subgingival microbial proportions standardized in terms of their naturally occurring distribution. J. Periodontol., 56 : 187-194, 1985.
 - 9) 中川種昭 : 成人性歯周炎患者に対する初期治療の細菌学的評価. 日歯周誌, 31 : 13-28, 1989.
 - 10) 神山 章 : 歯周病の診断に関する細菌学的研究, 日歯周誌, 31 : 360-379, 1989.
 - 11) 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.
 - 12) 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.
 - 13) 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.
 - 14) 山村早百合, 金澤 篤, 西野恒理, 澁谷俊昭, 白木雅文, 岩山幸雄 : 歯周ポケット細菌の DNA プローブ法による検討. 日歯周誌, 32 : 569-576, 1990.
 - 15) Silness, J. and Le, H. : Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta Odont. Scand., 22 : 121-135, 1964.
 - 16) Le, H. and Silness, J. : Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. Acta Odont. Scand., 21 : 533-551, 1963.
 - 17) Zambon, J.J., Bochacki, V. and Genco, R.J. : Immunological assays for putative periodontal pathogens. Oral Microbiol. Immunol., 1 : 39-44, 1986.
 - 18) Slots, J., Brgd, L., Wikstrm, M. and Dahln, G. : The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. J. Clin. Periodontol., 13 : 570-577, 1986.
 - 19) Wennstrm, J.L., Dahln, G., Svensson, J. and Nyman, S. : *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* : predictors of attachment loss ? Oral Microbiol. Immunol., 2 : 158-163, 1987.
 - 20) 堀 俊雄, 早瀬一夫 : 歯周疾患の分類, 長谷川紘司, 岩山幸雄, 歯周病の臨床, 医歯薬出版, 東京, 1990, 214-216.
 - 21) Waerhaug, J. : Healing of the dento-epithelial junction following subgingival plaque control. II. As observed on extracted teeth. J. Periodontol., 49 : 119-134, 1978.
 - 22) Stambaugh, R.V., Dragoo, M., Smith, D.M.

- and Carasali, L. : Internat. J. Periodontics & Restorat. Dent., 1 : 31-41, 1981.
- 23) Bonta, Y., Zambon, J.J., Genco, R.J. and Neiders, M.E. : Rapid identification of periodontal pathogens in subgingival plaque : Comparison of indirect immunofluorescence microscopy with bacterial culture for detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. J. Dent. Res., 64 : 793-798, 1985.
- 24) 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.

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