歯周包帯下の微生物相

寺 島 勝 彦

東北大学歯学部歯科保存学第一講座

(指導：堀内 博教授)

(平成2年9月19日受付)

Microbial Flora under Periodontal Dressings

Katsuhiko TERASHIMA

Department of Endodontics and Periodontics, Tohoku University School of Dentistry

4-1, Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai 980, Japan

(Director : Prof. Hiroshi HORIUCHI)

The purpose of this study was to examine the change of microbial flora under periodontal dressings, between prior and after periodontal surgery, by dark-field microscopy, culture technique and scanning electron microscopy. Bacterial samples were preoperatively taken from gingival surfaces and periodontal pockets of 33 patients who had completed the initial preparation. At 3, 7 days and 1 month after periodontal surgical procedures, samples were taken from the wound surfaces and gingival crevices. The relative proportion of bacterial forms were classified into seven groups : spirochetes, motile rods, curved rods, coccoid cells, fusiforms, filaments and straight rods. Mean value of pocket depth of prior and after surgery was 5.8 mm and 2.8 mm, respectively. The microscopic results indicated a significant increase in the mean percentage of straight rods, motile rods, curved rods, fusiforms and filaments and a significant decrease in the proportion of coccoid cells from baseline to postsurgery on wound surfaces under periodontal dressings. In contrast to this, a significant increase in the proportion of coccoid cells and a significant decrease in the proportion of spirochetes, motile rods,

curved rods and fusiforms were observed in gingival crevices. Culture technique revealed the mean percentage of *Bacteroides intermedius* was increased significantly from baseline (0.7%) to postsurgery (3.8%) on wound surfaces, and the proportion of *Streptococcus sanguis* I was decreased significantly. In gingival crevices, the proportions of *Capnocytophaga* sp., *Fusobacterium* sp. and *Peptostreptococcus* sp. were decreased significantly and those genera were maintained low levels 1 month after periodontal surgery. On wound surfaces under dressings of poorly responsive patients to periodontal surgery, whose probing pocket depth were over 3 mm at 1 month after surgery, the proportion of *B. intermedius* was increased significantly and the proportion of *S. sanguis* I was decreased significantly. While no significant changes were observed in other patients, the changes of the proportion of those species might be the indicator of the response to periodontal surgery. It was concluded that significant change in the microbial flora under periodontal dressings from baseline levels were confirmed, but the dressing did not produce any delay in healing process after periodontal surgery.

Key words : Periodontal dressings, Microbial flora, Periodontal surgery, Dark-field microscopy, Culture technique

本論文の要旨は、第33回春季日本歯周病学会総会（1990年5月18日）において発表した。

要旨: 歯周外科処置後に歯周包帯を適用した33名の患者について、歯周包帯各部位の微生物相を検索した。手術直前、包帯交換時、包帯撤去時及び術後1ヵ月の試料を暗視野顕微鏡、細菌培養法及び走査型電顕で検索した結果、次のような成績が得られた。1) 歯周包帯下の創面で術前に比較して Straight rods 及び Motile rods が有意に増加し、Coccoid cells は有意に減少した。菌種別には *B. intermedius* が有意に増加し、*S. sanguis* I は有意に減少した。2) 歯肉溝のポケット深さは術前に比較して減少し、Coccoid cells が有意に増加し、Spirochetes, Motile rods は有意に減少した。3) 包帯内面の走査型電顕像からも球・桿菌及び Spirochetes の存在が明らかになった。以上より、歯周包帯下は術前に比較して微生物相が嫌氣的に変化する事が確認されたが、歯周包帯の適用により治癒遅延を引き起こした所見は見られなかった。

索引用語: 歯周包帯, 微生物相, 歯周外科, 暗視野顕微鏡, 細菌培養法

緒 言

歯周包帯は歯周外科処置後に広く使用されているが、その適用の是非と創傷治癒への効果については相反した報告が存在し、評価は一致していない。Bernier & Kaplan¹⁾ は、歯肉切除後の病理所見より、歯周包帯が治癒を促進すると報告している。彼らは、治癒の促進は包帯が創面に密着し唾液や外来刺激を排除した結果であるとし、構成成分、例えば殺菌剤及び防腐剤の効果については疑問を表わしている。一方、抗生剤や殺菌剤を添加した歯周包帯を臨床に応用し治癒促進効果があったとする報告^{2~8)}があり、逆に、歯周外科処置後の治癒に歯周包帯は効果を示さないとする報告^{9~13)}も相次いでいる。

Blanquie¹⁴⁾ は歯周包帯の使用目的として、1) 術後出血のコントロール、2) 術後の不快感及び疼痛の軽減、3) 動揺歯の固定、4) 防腐的環境下での治癒の促進、5) 歯周ポケット再発の防止、6) 露出セメント質の知覚の軽減、の6つを挙げている。Bernier ら¹⁾ は創面の保護が第一の目的であるとし、治癒の促進は二次的なものであると述べている。その反面、歯周包帯の短所についても研究されており、Hildebrand ら¹⁵⁾ は、数種の歯周包帯剤の線維芽細胞に対する影響を研究した結果、24時間の培養ですべての歯周包帯剤が細胞毒性を持つことを示している。しかし、歯周包帯剤の成分は、唾液、血液及び組織液により希釈されてしまう¹⁶⁾ため、これらの結果を歯周包帯の創傷治癒に対する作用に直接当てはめることはできない。

また、術後の臨床状態、例えば Gingival Index, Bleeding Index, Gingival Crevicular Fluid Flow などの測定値を用いて歯周包帯適用後の治癒状態を評価している報告^{2,3,8~11)}もあるけれども、それらの多くは、歯周包帯適用の有無に関する有意差を見出していない。Sachs ら¹⁶⁾

は、歯周包帯剤の成分に関わらず、包帯自体は術後の治癒を促進させることはない結論しており、逆に、歯周包帯はプラークの停滞を助長し、創面部への微生物の侵入と繁殖を招く一因となっていることを指摘している。

Bruke¹⁸⁾ によれば、歯周外科後の治癒過程に対する微生物の関与には2種類ある。創面上にある微生物の産生物及び菌体成分などは唾液による希釈と壊死細胞が障壁となるため治癒過程には影響を与えていない場合と、組織へ侵入した微生物により宿主との間に激しい反応を起こす場合である。歯周包帯下の微生物繁殖については Loe ら⁵⁾ を始め多くの研究者^{4,11,13,17~22)} が治癒遅延を起こす原因として注目しているけれども、歯周包帯下の微生物と創傷治癒との関係を研究した報告は少ない。これは、術後の治癒遅延が微生物の影響によるものであることの証明が困難であるためと考えられる。

さて、健全な歯肉溝と病的な歯周ポケットに存在するプラークは単に量的なだけでなく、それを構成する微生物の種類や優位を占める菌種などの点で質的にも相違していると報告^{24~36)}されており、歯周治療後の治癒^{37~47)}や、メンテナンス時⁴⁸⁾の評価に歯周ポケット内の微生物相の変化を応用している研究者もいる。Haffajee ら⁴⁷⁾ は、歯周治療の目的は、“Pathogenic”な微生物を抑制し、“Beneficial”な微生物を増加させ、その状態を長く持続させることであるとしている。しかし、歯周包帯と歯周組織との間には自浄性がないため特有の微生物相が形成されており、“Pathogenic”な微生物の繁殖を助長させている可能性が考えられる。

Pihlstrom²³⁾ は歯周包帯適用群と非適用群のそれぞれについて、歯周外科後7日の歯頸部歯面に付着したプラークを採取し、単位重量あたりの微生物数及び *Streptococci* 数を求めている。両群間において、採取したプラークの湿重量に有意差は存在しなかったが、歯周包帯適用群の微生物数及び *Streptococci* 数は有意に低い値を示

している。この結果、歯周包帯下のプラーク中において単位重量あたりの微生物数は減少していると結論している。これとは逆に、Coppes ら²¹⁾は、*Black-pigmented Bacteroides* が Non-eugenol 系の歯周包帯下で有意に増加することを報告している。また、Heaney ら^{19,20)}は、Eugenol 系と Non-eugenol 系の2種類の歯周包帯を用い、それらの撤去時に創面上のプラーク採取を行っている。彼らによれば、最も高頻度に検出されるのはグラム陽性球菌で、嫌気性菌は、ごく少数であったと報告している。しかし彼らは嫌気培養の不備を自ら指摘しており、嫌気性菌の量的及び質的検討が残されている。

本研究の目的は、歯周外科処置後に歯周包帯を適用した患者に対して、微生物の形態学的観察及び細菌培養法による分類を行い、歯周包帯下の微生物構成の推移を調べることにより、歯周外科後の創傷治癒に及ぼす歯周包帯の影響を検討することにある。

材料及び方法

1. 被験者

東北大学歯学部附属病院保存科に来院し、辺縁性歯周炎と診断され、初期治療を完了した患者 33 名 (46 部位) を被験者とした。歯周包帯剤には、サージカルパック N® (昭和薬品化工(株)製)を用いた。被験者には、歯肉剝離搔爬手術 (FO 群, 27 名 (36 部位)) もしくは歯周ポケット搔爬手術 (PC 群, 6 名 (10 部位)) 後に歯周包

- ① 歯周ポケット及び歯肉溝
- ② 歯肉表面及び創面
- ③ 歯周包帯内面中央部
- ④ 歯周包帯内面歯冠側
- ⑤ 歯周包帯内面歯肉側
- ⑥ 歯周包帯外面

図 1 試料採取部位

帯を適用し、手術直前、歯周包帯交換時及び包帯撤去時に微生物学的検査を行った。歯周包帯の被覆部位は、歯冠側は歯冠長の 2/3 までとし、歯肉側は歯肉頰移行部までとした。また、対照例として、臨床的に健康な歯周組織を有する成人 (健康者群, 6 名 (9 部位)) についても同様に歯周包帯を施した。

FO 群は、3 日後における包帯交換の有無により更に 2 群 (包帯交換群 (10 部位) 及び非交換群 (26 部位)) に分けた。健康者群も同様に 2 群に分け比較を行った (包帯交換群 (5 部位) 及び非交換群 (4 部位))。

2. 試料採取部位

試料を採取した部位は図 1 の①, ②, ③, ④, ⑤及び⑥に示すように頰または舌側の同一面に存在するようにした。

① 歯周ポケット及び歯肉溝

再評価時に計測したポケット深さが手術部位中最大であった歯を被験歯とし、縁下プラークの採取を行った。その時可及的に、予想される歯周包帯被覆範囲のほぼ中央に位置する歯を選択した。

② 歯肉表面及び創面

縁下プラーク採取部位の歯肉縁より歯肉側へ 3 mm の範囲内をその症例の歯肉表面試料採取部位とした。

③ 歯周包帯内面中央部

術後 7 日の歯周包帯撤去時に、撤去した包帯の内面中央部。通常は歯頸部に相当して内面に突出した丘陵部が存在するが、その歯肉側直下より試料を採取した。

④ 歯周包帯内面歯冠側

歯周包帯内面歯冠側端より歯肉側へ 3 mm の範囲内より試料を採取した。

⑤ 歯周包帯内面歯肉側

歯周包帯内面歯肉側端より歯冠側へ 3 mm の範囲内より試料を採取した。

⑥ 歯周包帯外面

内面中央部試料採取部位に相当する歯周包帯外面で、②及び③部位とは同一線上に位置する場所より試料を採取した。

3. 試料採取時期

まず手術直前に歯周ポケット及び同部位に近接する歯肉表面より試料を採取した。包帯交換群では 3 日後に歯周包帯を撤去し、創面より試料を採取した。そして創面を 0.1% リバノールで洗浄した後、新たに調整した歯周包帯を施した。両群とも、7 日後に歯周包帯を撤去し、歯肉溝及び創面より試料を採取した。撤去した歯周包帯についても、外面、内面歯冠側、内面中央部及び内

面歯肉側より試料を採取した。術後約1ヵ月に再び、被験者の歯周ポケットから試料を採取し、術後の評価を行った。

4. 試料の採取方法

コットンロールを用いて被験部位に簡易防湿を施した後、滅菌スケーラーを用いて歯肉縁上プラークを可及的に除去し、30号の滅菌ペーパーポイントを歯周ポケットに挿入し、そこに嫌気性ガス(炭酸ガス)を30秒間噴出した後、直ちに2mlのReduced Transport Fluid(RTF)⁴⁹⁾にペーパーポイントを投入した。同様に、歯肉表面及び歯周包帯表面からは、嫌気性ガス(炭酸ガス)を噴出しながら滅菌綿棒を用いて数回擦過することにより試料を採取した。得られた試料は、迅速にAnaerobic globe box(平沢製作所製)内に搬入した。

5. 暗視野顕微鏡による微生物の形態学的分類

採取した試料は、Vortex mixer®にて均一に分散した後、1% Gelatin 生食水と等量混合し、検鏡試料とした。Listgarten & Hellden (1978)³⁶⁾の方法に従い、暗視野顕微鏡を用いて形態学的に、Spirochetes, Motile rods, Curved rods, Fusiforms, Filaments, Straight rods 及び Coccoid cells に分類しそれぞれの構成比率を求めた。また、Straight rods および Coccoid cells の分裂途中の形態を示す像については、完全な分裂形態をとっているもの以外は1つと見なした。

6. 細菌培養及び菌種の決定

分散した試料の50 µlを用いて、 10^{-1} ~ 10^{-6} の6段階の希釈液を作成した。これらを以下の培地に接種し、Anaerobic globe box内の孵卵器で37°C、7日間の培養を行った。

- ・ GAM 寒天培地(非選択培地)
 - GAM プイオン(日水製薬) 5.9%
 - 寒天 1.5%
 - Hemin 5 µg/ml
 - Menadione 0.5 µg/ml
- ・ MGB 培地⁵⁰⁾(*Actinobacillus actinomycetemcomitans* 用)
 - Trypticase Soy Agar (BBL) 4.0%
 - 緬羊脱纖維血(日本バイオ) 5.0%
 - Bacitracin 128 µg/ml
 - Malachite green 8 µg/ml
- ・ カナマイシン-バンコマイシン溶血血液寒天培地⁵¹⁾(*Black-pigmented Bacteroides* 用)
 - Brucella Agar (DIFCO) 4.3%
 - 溶血兔脱纖維血(日本バイオ) 5.0%

Kanamycin 75 µg/ml

Vancomycin 2.5 µg/ml

Hemin 5 µg/ml

Menadione 0.5 µg/ml

- ・ TSBC 培地⁵²⁾(*Eikenella corrodens* 用)

Trypticase Soy Agar (BBL) 4.0%

緬羊脱纖維血(日本バイオ) 5.0%

KNO₃ 0.2%

Clindamycin 25 µg/ml

- ・ TBBP 培地⁵³⁾(*Capnocytophaga* 用)

Trypticase Soy Agar (BBL) 4.0%

緬羊脱纖維血(日本バイオ) 5.0%

Yeast extract 0.1%

Glucose 0.2%

Bacitracin 50 µg/ml

Polymyxin B 100 µg/ml

- ・ Mitis Salivarius 培地(連鎖球菌用)

Mitis Salivarius Agar (DIFCO) 9.0%

- ・ 変法 FM 培地(*Fusobacterium* 用)

変法 FM 培地(日水製薬) 7.4%

各培地上で発育がみられたコロニーはすべて GAM 糖分解用半流動培地(日水製薬)に接種し増菌させた後、同定を行った。分離細菌はグラム染色を行い、グラム染色性、形態、配列を調べて純培養であることを確認し、同時に好気培養を行い偏性嫌気性菌及び通性嫌気性菌に分類した。各細菌は1% Glucose 加 GAM 糖分解用半流動培地に接種し、37°C、3~7日間培養し充分な発育を確認した後、ガスクロマトグラフィー(663-50, HITA-CHI 社製)により Glucose 最終代謝産物の検出を行い、V.P.I. Anaerobe Laboratory Manual⁵⁴⁾に従い属の決定を行った。

偏性嫌気性菌の種の決定は、V.P.I. Anaerobe Laboratory Manual⁵⁴⁾及びBergey's Manuals of Systematic Bacteriology⁵⁵⁾に従い行った。また、各細菌は RapID ANA II (Innovative Diagnostic Systems, Inc.)を用いて菌種の確認を行った。

通性嫌気性グラム陽性球菌は、Facklam の基準⁵⁶⁾に従い同定を行った。また、最終的な菌種の決定には RapID STR (Innovative Diagnostic Systems, Inc.)を用いた。

- 1) 偏性嫌気性グラム陽性球菌

偏性嫌気性グラム陽性球菌の菌種の決定には RapID ANA II を用いた。

- 2) 偏性嫌気性グラム陰性球菌

偏性嫌気性グラム陰性球菌で、Glucose の最終代謝産

物としてプロピオン酸及び酢酸を産生もしくは酪酸を産生しない菌を *Veillonella* 属とした。*Veillonella* 属の内、カタラーゼ反応陰性の菌を *Veillonella parvula* と見なした。

3) 偏性嫌気性グラム陰性桿菌

(a) *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (以下, *A.a.* と略す)

MGB 培地に成育を認めたグラム陰性桿〜球菌のうち、カタラーゼ反応陽性菌を *A.a.* とし、以下の検査を行い、確認した。すなわち、エスクリンの加水分解性、硝酸塩還元性、炭水化物の発酵による酸産生性（アラビノース、セロビオース、フルクトース、グルコース、ラクトース、マンニトール、サリシン、トレハロース、キシロース）などである。

(b) *Black-pigmented Bacteroides*

カナマイシン-バンコマイシン溶血血液寒天培地に褐色及び黒色のコロニーを形成した細菌に対して、以下の検査を行った。すなわち、インドール産生性、カタラーゼ反応、エスクリンの加水分解性、炭水化物の発酵による酸産生性（グルコース、ラクトース、スクロース、セロビオース）などである。

グルコース発酵陰性の菌を *Bacteroides gingivalis*, グルコース発酵陽性の菌の内インドール産生陽性の菌を *Bacteroides intermedius* と決定した。

(c) *E. corrodens*

TSBC 培地に成育を認めたグラム陰性桿菌の内、オキシダーゼ反応陽性でかつ好気環境下での成育を認めた細菌に、以下の検査を行い、炭水化物の発酵による酸産生陰性（グルコース、ラクトース、スクロース、マンニトール、マンノース、アラビノース、キシロース）、エスクリン及びスターチの加水分解陰性、硝酸塩還元陽性、カタラーゼ反応陰性、インドール産生陰性のものを *E. corrodens* とした。

(d) *Capnocytophaga* 属

TBBP 培地に成育を認めたグラム陰性の紡錘状の桿菌で、“wet spreading” 状コロニーの細菌を *Capnocytophaga* 属とした。各菌種の決定にはガラクトース及びラクトースの発酵性、硝酸塩還元性などの試験を行った。

(e) *Fusobacterium* 属

変法 FM 培地に成育を認めたグラム陰性の紡錘状の桿菌で、Glucose の最終代謝産物として酪酸の産生を認めた細菌を *Fusobacterium* 属とした。各菌種の決定には、インドール産生性、スレオニン及び乳酸からのプロピオン酸産生性、エスクリンの加水分解性、ガス産生性、炭

水化物の発酵による酸産生性（グルコース、ラクトース、フルクトース、スターチ、マンノース）などの試験を行った。

4) 通性嫌気性グラム陽性球菌

通性嫌気性グラム陽性球菌はカタラーゼ反応及びオキシダーゼ反応が陰性でかつ配列が連鎖状であるものを連鎖球菌とし、以下の試験により菌種を決定した。すなわち、マンニトール、ラフィノース、ラクトース及びイヌリンの発酵性、アルギニン、エスクリン及び馬尿酸加水分解性、リトマスミルク還元性、スクロースからのデキストラン産生性及び 4% 胆汁存在下での発育性などである。

7. 選択培地に対する非選択培地上コロニー数の比較
非選択培地 (GAM 寒天培地) 上のコロニー数を total colony forming unit (total CFU) とし、各選択培地上で発育のみられた細菌の比率を求めた。

8. 走査型電子顕微鏡による菌周包帯内面の観察

口腔内より除去した菌周包帯は、0.1 M カコジル酸ナトリウム緩衝 1% グルタルアルデヒド水溶液 (pH 7.3) にて 2 時間浸漬固定を行った。その後、20~30 ml 0.1 M カコジル酸ナトリウムで 12 時間浸漬し、続いて 2% 四酸化オスミウムにて 2 時間後固定を行った。菌周包帯は可及的に試料採取部位に近い部位で縦断し、幅 5~10 mm の試験片を作成した。その後、アルコール上昇列中で脱水し、酢酸イソアミルに浸漬後、臨界点乾燥 (HCP-2, HITACHI 社製) を行い、試料表面に金パラジウムイオンスパッタコーティング (E101, HITACHI 社製) を施し、走査型電子顕微鏡 (S-510, HITACHI 社製) にて内面を観察した。

9. 統計処理

術前及び術後 7 日の歯肉表面上の微生物構成比率の有意差検定には paired *t*-test を行い、その他の検定には、*t*-test を行った。危険率 5% をもって有意差とした。

結 果

1. 被験者

FO 群、PC 群の術前のポケット深さの平均 (Mean $\pm$ S.D.) はそれぞれ 5.8 ± 1.8 mm, 5.6 ± 1.8 mm であった。また、術後 1 ヶ月の FO 群のポケット深さの平均は 2.8 ± 0.9 mm であった。

包帯交換群では、術前 5.6 ± 1.3 mm, 術後 3.1 ± 0.8 mm であり、包帯非交換群は 5.9 ± 1.9 mm, 2.6 ± 0.9 mm であった。両群間に有意差はみられなかった。

図 2 FO 群 (歯肉表面) の微生物構成比率

図 3 FO 群 (歯周ポケット) の微生物構成比率

健康者群の包帯適用前は、ポケット深さは 2.1 ± 0.6 mm であり、撤去時にも 2.1 ± 0.3 mm であった。

2. 暗視野顕微鏡による微生物構成の推移

1) FO 群 (図 2, 3)

歯肉剝離搔爬手術を施した 27 名 (36 部位) について、歯肉表面の微生物構成をみると、術前には、Straight

図4 PC群の微生物構成比率

rods と Coccoid cells がほぼ等しい比率を示しており、Spirochetes 及び Motile rods (総 Motile) は3%前後と少なかった。包帯交換を行った10部位では3日後の創面上において、Spirochetes 及び Curved rods の比率が有意に減少した。7日後の包帯撤去時には、創面では、Coccoid cells の比率が25.6%と術前に比較して有意に減少しており、逆に Straight rods の比率は54.4%、Fusiforms, Filaments の比率はそれぞれ5.3%、8.1%と有意に増加していた。Motile rods の比率も2.9%と有意に増加し、総 Motile の比率は4.0%に増加していた。

術前の歯周ポケット内微生物相をみると、歯肉表面に比較して Spirochetes の比率が11.4%と高く、また Motile rods の比率も4.7%で、総 Motile の比率が16.1%であることが注目された。Coccoid cells の比率は20.4%と低いが、Straight rods の比率は48.1%と高い傾向を示した。7日後においては、歯肉表面と異なり、Coccoid cells の比率が有意に増加していた(43.9%)。総 Motile の比率は、0.01%と有意に減少しており、Fusiforms の比率も有意に減少していた。術後1ヵ月を経過して、再度歯周ポケットからの採取を行ってみると、Coccoid cells の比率は45.9%と依然として術前に比較して有意に高い値を示していた。Spirochetes (2.0%)

及び Curved rods の比率(1.1%)もそれぞれ術前に比較して有意に低い値を維持していた。Straight rods の比率は41.7%と術前及び術後7日に比較して有意に減少した。

2) PC群(図4)

歯周ポケット搔爬術を行った6名(10部位)における術前の歯肉表面において、Coccoid cells の比率は44.2%、Straight rods の比率は42.7%であった。術後7日の包帯撤去時には、同部位の Coccoid cells の比率が31.5%と有意に減少し、逆に Straight rods の比率は54.3%と有意に増加した。

歯周ポケットでは、Spirochetes の比率は12.3%と高く、総 Motile の比率は16.3%に達していた。Coccoid cells の比率は、22.6%と歯肉表面に比較して低かった。Straight rods の比率は48.2%と歯肉表面に比較して高い傾向にあった。術後7日では、Motile rods 及び Fusiforms の比率は有意に減少したが、Coccoid cells の比率は46.5%に有意に増加していた。Spirochetes の比率は有意に減少したものの依然として3.0%を示し、全く Spirochetes の存在しなかった FO群の結果と異なっていた。

3) 健康者群(図5)

臨床的に健康な歯周組織を持つ成人6名(9部位)に

図 5 健康者群の微生物構成比率

図 6 FO 群 (術後 7 日, 各部位) の微生物構成比率

ついて、歯周包帯適用前の歯肉表面における Coccoid cells の比率は 47.1%, Straight rods の比率は 48.9% と高い値を示した。しかし、Spirochetes 及び Motile rods は全く観察されなかった。3 日後に包帯を交換した 5 部位についてみると、適用前に比較して有意差は見

れなかった (図 11)。7 日後の包帯撤去時には、Filaments の比率が適用前の 3 倍弱の増加を示し、有意差が見られた。

歯肉溝では、Coccoid cells の比率が 47.1% と高く、次いで Straight rods の比率が 44.1% となっていた。

* *t*-test ($p < 0.05$) 図中の上記部位に比較して有意

図 7 PC 群（術後 7 日，各部位）の微生物構成比率

* *t*-test ($p < 0.05$) 図中の上記部位に比較して有意

図 8 健康者群（7 日後，各部位）の微生物構成比率

Spirochetes 及び Motile rods は低い値（1.1% 及び 0.9%）ながらも観察された。7 日後の歯周包帯撤去時，Filaments の比率は 1.3% と有意に減少したが，他の菌種に有意な変化は見られなかった。

4) 部位別の構成比率

(a) FO 群（図 6）

FO 群について，7 日後の包帯撤去時に，図 1 に示すような各部で試料の採取を行った。

図 9 FO 群 (包帯交換群) の微生物構成比率

* t -test ($p < 0.05$) 図 9 の各 phase に比較して有意

図 10 FO 群 (包帯非交換群) の微生物構成比率

近接した各部位の微生物構成は互いに異なっていた。創面は内面中央部に比較して総 Motile, Fusiforms 及び Filaments の比率が有意に高く, Coccoid cells の比率は有意に低かった。また, 歯肉溝の微生物構成は創面上に

比較して Coccoid cells の比率が有意に高く, 総 Motile, Curved rods, Fusiforms 及び Filaments の比率は有意に低い値を示していた。歯肉溝及び内面中央部では Spirochetes は見られなかった。歯周包帯内面歯冠側は

図 11 健康者群（包帯交換群）の微生物構成比率

* *t*-test ($p < 0.05$) 図11の各 phase に比較して有意

図 12 健康者群（包帯非交換群）の微生物構成比率

中央部に比較して Filaments の比率が有意に高く、また、内面歯肉側は同様に中央部に比較して Fusiforms の比率が有意に高かった。

(b) PC 群 (図 7)

PC 群でも歯肉溝は創面に比較して Coccoid cells の比率が有意に高く、Fusiforms 及び Straight rods の比

率は有意に低い値を示していた。Spirochetes の比率は、FO 群では全く見られなかった歯肉溝で 3.0% で最も高く、内面中央部でも 1.4% という値を示した。

(c) 健康者群 (図 8)

健康な成人の歯肉溝では、Coccoid cells の比率が 46.1% と高く、創面に比較して有意差があった。この群は

☆ paired *t*-test ($p < 0.05$) 術前に比較して有意

A 群: 術後1ヵ月後のポケット深さ < 3mm

B 群: " ≥ 3mm

図 13 FO 群の術後のポケット深さと微生物構成比率

Spirochetes, Motile rods 及び Curved rods の比率は極端に低く、この点では FO 群、PC 群と異なっていた。

5) 包帯交換について

(a) FO 群 (図 9, 10)

3 日後に包帯交換を行った包帯交換群と非交換群とを比較すると、術後7日において Coccoid cells の比率は交換群で 34.1% と、非交換群 (21.8%) に比較して有意に高かった。Spirochetes, Motile rods 及び Curved rods の比率は非交換群で高い傾向が見られ、Curved rods (2.9%) に関しては有意差が存在した。

歯肉溝内の微生物相に関しては両群間で有意差は存在しなかった。

(b) 健康者群 (図 11, 12)

健康者について同様に比較すると、7 日後の歯肉表面において Coccoid cells の比率が交換群では 43.5% と包帯適用前と差がなかったのに対し、非交換群では 24.3% と交換群に比較して有意に低い値を示した。

6) 包帯脱落群

今回の被験者の内、7 日後のリコール時に歯周包帯が脱落したために、実験群より排除した者は 6 名であった。これらについて、創面上のプラークを調べると、Coccoid

cells の比率は、37.8% であり、Straight rods の比率は 47.5% を示した。Fusiforms の比率は低かったが、Filaments の比率は 10.0% と高かった。また、Spirochetes は観察できず、Motile rods の比率は 0.5% であった。

7) 術後1ヵ月のポケット深さによる分類 (図 13)

術後1ヵ月のリコール時、ポケット深さが 3 mm 未満の群 (A 群) と、3 mm 以上の群 (B 群) に分類し、7 日後の創面上及び歯肉溝の微生物構成を比較した。創面上において、B 群の Fusiforms の比率は有意に高い値を示した。

3. 細菌培養結果

1) FO 群 (表 1)

術後7日の創面上において、*B. intermedius* は 3.8% と術前の 0.7% に比較して有意に高い値を示した。*Fusobacterium* 属は術後7日の 8.4% に出現し、ほぼ半数を *F. nucleatum* が占めていた。通性嫌気性球菌は、各 phase を通して高率に検出されたが、各菌種別に比較すると変化に富んでいた。*Streptococcus sanguis* I は有意に減少し、*Streptococcus morbillorum* は有意に増加した。

歯肉溝の細菌培養結果では、*Capnocytophaga* 属は術前

表 1 FO 群の細菌培養結果 (%)

	歯肉表面 術 前	術後3日	術後7日	歯周ポケット 術 前	術後7日	術後1月
<i>A. a.</i>	0.3	0.0	0.2	0.7	0.9	0.3
<i>Wolinella sp.</i>	0.2	0.2	0.7	0.4	0.4	0.1
<i>Bacteroides sp.</i>	6.9	5.4	6.4	5.3	10.1	5.6
<i>B. intermedius</i>	0.7	2.4	3.8☆	1.3	3.6	1.9
<i>B. gingivalis</i>	0.1	0.0	1.3	0.9	0.0	0.3
<i>B. gracilis</i>	0.2	0.0	0.9	1.1	0.3	0.2
<i>B. fragilis</i>	5.2	1.0	0.2☆	1.7	0.8	2.1
<i>Others</i>	0.7	2.1	0.1	0.4	5.4	1.1
<i>E. corrodens</i>	2.5	3.0	2.8	1.2	0.9	2.8
<i>V. parvula</i>	0.1	1.1	0.4	0.5	2.0	1.5
<i>Capnocytophaga sp.</i>	1.1	1.2	2.4	3.9	0.6*	1.9
<i>C. sputigena</i>	0.1	0.0	0.4	1.7	0.0*	1.3
<i>C. ochracea</i>	0.8	1.2	2.0	1.7	0.6	0.6
<i>C. gingivalis</i>	0.2	0.0	0.0	0.5	0.0	0.1
<i>Fusobacterium sp.</i>	5.8	8.0	8.4	10.2	4.5*	4.9*
<i>F. nucleatum</i>	2.3	3.9	3.9	6.7	3.6	2.4*
<i>F. necrophorum</i>	2.1	3.8	2.2	2.3	0.5	0.5
<i>F. mortiferum</i>	0.0	0.0	0.2	0.6	0.1	0.2
<i>F. naviforme</i>	0.7	0.0	1.8	0.0	0.3	0.6*
<i>Others</i>	0.6	0.3	0.4	0.6	0.0	1.2
<i>Peptostreptococcus</i>	4.9	3.7	6.6	8.6	3.9*	3.2*
<i>Ps micros</i>	3.5	1.8	4.8	5.6	3.1	3.1*
<i>Ps prevotii</i>	1.2	1.9	1.1	1.4	0.8	0.1*
<i>Others</i>	0.2	0.0	0.7	1.6	0.0	0.0
<i>Streptococcus</i>	49.7	47.3	40.6	50.6	44.5	40.4
<i>S. intermedius</i>	10.0	7.0	9.4	10.6	5.9	10.7
<i>S. mitis</i>	11.1	12.5	10.2	13.5	10.1	9.1
<i>S. mutans</i>	6.2	6.3	5.4	6.9	6.1	4.1
<i>S. constellatus</i>	8.6	8.9	3.4	6.3	10.5	5.1
<i>S. salivarius</i>	3.9	1.5	2.3	2.1	1.3	1.2
<i>S. sanguis I</i>	5.9	3.4	2.1☆	3.9	5.6	3.6
<i>S. sanguis II</i>	2.9	3.9	2.7	3.4	3.3	3.3
<i>S. uberis</i>	0.3	0.9	1.4	1.3	0.7	2.1
<i>S. scidominimus</i>	0.0	0.0	0.1	0.2	0.0	0.8
<i>S. morbillorum</i>	0.9	3.0	3.6☆	2.5	1.0	0.6

☆ paired *t*-test ($P < 0.05$)* *t*-test ($P < 0.05$) 術前に比較して有意

表 2 PC 群の細菌培養結果 (%)

	歯肉表面 術 前	術後7日	歯周ポケット 術 前	術後7日
<i>A. a.</i>	0.1	0.3	1.1	0.9
<i>Wolinella sp.</i>	1.4	1.7	0.0	2.6*
<i>Bacteroides sp.</i>	5.1	6.4	2.5	4.8
<i>B. intermedius</i>	0.6	0.9	0.4	1.8
<i>B. gingivalis</i>	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>B. gracilis</i>	1.6	3.4	1.6	2.4
<i>B. fragilis</i>	2.9	0.9	0.0	0.3
<i>Others</i>	0.0	1.2	0.5	0.4
<i>E. corrodens</i>	1.1	1.2	3.4	4.1
<i>V. parvula</i>	0.5	1.9	0.0	0.5
<i>Capnocytophaga sp.</i>	0.8	0.4	0.8	0.6
<i>C. sputigena</i>	0.6	0.4	0.3	0.5
<i>C. ochracea</i>	0.2	0.0	0.5	0.1
<i>C. gingivalis</i>	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Fusobacterium sp.</i>	10.4	4.4	9.0	3.5
<i>F. nucleatum</i>	2.6	3.8	2.2	2.9
<i>F. necrophorum</i>	2.7	0.0☆	5.7	0.3
<i>F. mortiferum</i>	3.7	0.1	0.4	0.2
<i>F. naviforme</i>	1.3	0.4	0.7	0.2
<i>Others</i>	0.2	0.0	0.1	0.0
<i>Peptostreptococcus</i>	5.2	5.6	9.7	2.0*
<i>Ps micros</i>	4.1	3.3	5.7	0.2*
<i>Ps prevotii</i>	0.9	0.4	4.0	1.8
<i>Others</i>	0.1	1.9	0.0	0.0
<i>Streptococcus</i>	41.5	42.2	37.2	50.7
<i>S. intermedius</i>	9.4	6.3	9.7	3.6
<i>S. mitis</i>	12.2	10.8	8.2	15.9*
<i>S. mutans</i>	2.9	4.6	2.2	2.2
<i>S. constellatus</i>	5.9	7.5	4.8	8.8
<i>S. salivarius</i>	0.6	0.0	0.0	3.6
<i>S. sanguis I</i>	2.7	1.5	3.3	3.1
<i>S. sanguis II</i>	6.3	7.6	6.2	6.7
<i>S. uberis</i>	0.1	0.8	1.7	2.2
<i>S. scidominimus</i>	0.2	1.3	0.0	4.6
<i>S. morbillorum</i>	1.2	1.7	1.1	0.0

☆ paired *t*-test ($P < 0.05$)* *t*-test ($P < 0.05$) 術前に比較して有意

は3.9%であったが、7日後には0.6%と有意に減少していた。*Fusobacterium* 属も術前の1/2以下に有意に減少し、1ヵ月を経過しても依然として低い比率(4.9%)を維持し続けていた。*F. nucleatum* は術前の6.7%から7日後の3.6%、さらに1ヵ月後には2.4%と有意に減少していた。*Peptostreptococcus* 属も有意に減少していた。通性嫌気性球菌は術後7日、術後1ヵ月とも術前に比較して有意差は存在しなかった。

2) PC 群(表2)

創面上の細菌培養結果では、術前と術後7日で*Fusobacterium necrophorum* が有意に減少した以外有意差はなかった。

歯肉溝では、*Streptococcus mitis*, *Wolinella* 属が有意に増加し、特に *S. mitis* は15.9%という最も高い値を示した。*Peptostreptococcus* 属は9.7%→2.0%と有意に減少を示した。中でも *Peptostreptococcus micros* は術後7日に0.2%であり、術前(5.7%)に比較して有意に低かった。

3) 健康者群(表3)

臨床的に健康な歯周組織を有する成人について見ると、適用前と7日後とで歯肉表面で有意の差はなかった。3日後に *Capnocytophaga gingivalis* が有意に増加したが、7日後には0.03%と再び低い値に戻った。

7日後の歯肉溝においては、*Peptostreptococcus* 属が10.4%→4.2%と有意に減少し、特に *Peptostreptococcus prevotii* の減少が著明であった。*Streptococcus* 属は変化は少なかった。

4) 部位による相違(FO 群 表4)

Bacteroides 属は内面歯冠側及び中央部では10%を超える値を示したが、歯肉側では、3.9%と有意に低い値を示した。*B. intermedius* は内面において、創面に比較して有意に低い値(0.3~0.6%)を示しており、この値は外面(2.1%)に比べても有意に低い値であった。*Fusobacterium* 属は創面上で8.4%であり、歯肉溝に比較して有意差があった。*S. morbillorum* は創面で3.6%存在し、内面中央部及び歯肉溝に比較して有意に高かった。

5) 歯周包帯の交換について

(a) FO 群(表5)

非交換群において、7日後の創面上で *B. intermedius*, *B. gingivalis* が有意に増加しているのに対し、交換群ではこれらの菌種には差がなかった。

また、歯肉溝では、交換群において、*E. corrodens* が有意に増加し、*Peptostreptococcus* 属及び *Ps. micros* の

表3 健康者群の細菌培養結果(%)

	歯肉表面 適用前	3日後	7日後	歯肉ポケット 適用前	7日後
<i>A. a.</i>	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Wolinella</i> sp.	0.0	1.3	0.2	0.4	0.1
<i>Bacteroides</i> sp.	5.5	6.0	7.8	8.1	2.3
<i>B. intermedius</i>	2.1	0.3	3.3	0.0	1.1
<i>B. gingivalis</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>B. gracilis</i>	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0
<i>B. fragilis</i>	3.5	3.6	3.8	6.0	0.3
Others	0.0	1.9	0.7	2.1	1.0
<i>E. corrodens</i>	1.1	0.8	0.6	2.5	0.1
<i>V. parvula</i>	0.0	1.3	2.3	0.0	0.0
<i>Capnocytophaga</i> sp.	5.0	4.4	3.0	2.3	3.0
<i>C. sputigena</i>	0.0	0.5	0.3	1.7	2.4
<i>C. ochracea</i>	5.0	2.6	2.6	0.6	0.6
<i>C. gingivalis</i>	0.0	1.3*	0.0	0.0	0.0
<i>Fusobacterium</i> sp.	2.1	6.1	5.2	3.8	2.2
<i>F. nucleatum</i>	1.3	2.8	4.3	2.1	2.2
<i>F. necrophorum</i>	0.4	0.0	0.9	1.3	0.0
<i>F. mortiferum</i>	0.2	0.2	0.0	0.4	0.0
<i>F. naviforme</i>	0.0	3.1	0.0	0.0	0.0
Others	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Peptostreptococcus</i>	7.9	6.2	6.3	10.4	4.2*
<i>Ps. micros</i>	5.2	5.4	6.0	4.4	3.6
<i>Ps. prevotii</i>	1.9	0.8	0.4	4.9	0.3
Others	0.8	0.0	0.0	1.1	0.4
<i>Streptococcus</i>	56.0	61.3	61.6	53.6	49.0
<i>S. intermedius</i>	13.9	11.1	13.9	12.3	11.3
<i>S. mitis</i>	6.5	9.6	10.4	11.1	9.1
<i>S. mutans</i>	12.1	8.6	8.0	9.2	7.6
<i>S. constellatus</i>	9.9	8.4	12.5	9.2	8.2
<i>S. salivarius</i>	2.0	0.0	1.3	0.6	2.3
<i>S. sanguis</i> I	3.6	10.4	5.8	3.7	4.0
<i>S. sanguis</i> II	5.2	6.0	8.6	7.0	5.8
<i>S. uberis</i>	0.1	0.0	0.0	0.3	0.0
<i>S. scindominus</i>	1.0	0.0	0.5	0.1	0.0
<i>S. morbillorum</i>	1.8	7.1	0.8	1.3	0.7

* t-test ($P < 0.05$) 術前に比較して有意

表 4 FO 群 (術後 7 日, 各部位) の細菌培養結果 (%)

	歯冠側	中央部	歯肉側	外 側	創 面	歯肉溝
<i>A. a.</i>	0.0	0.3	0.7	1.4	0.2	0.9
<i>Wolinella sp.</i>	0.4	0.4	0.0	0.3	0.7	0.4
<i>Bacteroides sp.</i>	13.6	11.3	3.9*	7.3	6.4	10.1
<i>B. intermedius</i>	0.6	0.3	0.3	2.1*	3.8*	3.6
<i>B. gingivalis</i>	0.0	0.0	0.0	1.1	1.3*	0.0
<i>B. gracilis</i>	0.7	0.2	1.7	1.0	0.9	0.3
<i>B. fragilis</i>	6.3	2.7	0.0*	1.5	0.2	0.8*
Others	6.1	8.1	2.0	1.6	0.1	5.4
<i>E. corrodens</i>	0.8	1.8	0.8	3.7	2.8	0.9
<i>V. parvula</i>	0.1	0.1	0.2	0.0	0.4	2.0
<i>Capnocytophaga sp.</i>	0.5	3.0	0.8	2.9	2.4	0.6
<i>C. sputigena</i>	0.5	0.0	0.1	2.3	0.4*	0.0
<i>C. ochracea</i>	0.0	3.0	0.7	0.5	2.0	0.6
<i>C. gingivalis</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Fusobacterium sp.</i>	2.5	4.7	3.2	9.0	8.4	4.5*
<i>F. nucleatum</i>	2.1	2.2	2.8	6.3	3.9	3.6
<i>F. necrophorum</i>	0.1	2.1	0.4	1.0	2.2	0.5
<i>F. mortiferum</i>	0.1	0.2	0.0	0.0	0.2	0.1
<i>F. naviforme</i>	0.3	0.1	0.0	1.6	1.8	0.3
Others	0.0	0.0	0.0	0.1	0.4	0.0
<i>Peptostreptococcus</i>	5.4	7.7	7.7	7.9	6.6	3.9
<i>Ps. micros</i>	3.3	6.2	1.7	5.3	4.8	3.1
<i>Ps. prevotii</i>	2.1	1.5	6.0	2.3	1.1	0.8
Others	0.0	0.0	0.0	0.3	0.7	0.0
<i>Streptococcus</i>	60.4	47.7	60.8	47.3	40.6	44.5
<i>S. intermedius</i>	14.9	6.4	9.4	9.9	9.4	5.9
<i>S. mitis</i>	14.5	11.0	18.8	12.9	10.2	10.1
<i>S. mutans</i>	14.0	8.8	13.4	7.6	5.4	6.1
<i>S. constellatus</i>	3.8	10.8	5.1	6.0	3.4	10.5
<i>S. salivarius</i>	0.9	0.2	0.0	0.5	2.3	1.3
<i>S. sanguis I</i>	6.3	3.5	6.9	1.4	2.1	5.6
<i>S. sanguis II</i>	4.9	2.1	5.5	1.6	2.7	3.3
<i>S. uberis</i>	0.4	4.0	1.7	1.3	1.4	0.7
<i>S. scindominimus</i>	0.0	0.5	0.0	0.0	0.1	0.0
<i>S. morbillorum</i>	0.7	0.4	0.0	6.2*	3.6	1.0

* t-test ($P < 0.05$)

表中左記部位に比較して有意

図 14 歯周包帯 (内面中央部) の電顕像 (1)

図 15 歯周包帯 (内面中央部) の電顕像 (2)

比率は有意に減少した。これに対して非交換群では *F. nucleatum* が有意に減少していたが、交換群では有意差は見られなかった。

(b) 健康者群 (表 6)

包帯交換の効果を各菌種で比較すると、有意差は見られなかった。

6) 術後 1 カ月のポケット深さによる分類 (表 7)

B 群の 7 日後の創面上において *B. intermedius* 及び *S. morbillorum* が有意に増加しており、*S. sanguis I* は有意に減少した。しかし、A 群においては有意な変化は見られなかった。

7 日後の歯肉溝においては、B 群において *Streptococcus* 属及び *S. intermedius* が有意に減少していた。

4. 走査型電子顕微鏡所見

術後 7 日に撤去した歯周包帯内面の走査型電顕像を図 14 に示す。ブラークは全面に付着しているのではなく、島状に付着し、本研究で使した Tin foil の比較的平滑な面もそのまま観察できた。

図 15 は図 14 の拡大像である。球菌、桿菌及び線状菌

表 5 FO 群（包帯交換群及び非交換群）の細菌培養結果（％）

	交換群				非交換群			
	歯肉表面 術 前	術後 7 日	歯周ポケット 術 前	術後 1 月	歯肉表面 術 前	術後 7 日	歯周ポケット 術 前	術後 1 月
<i>A. a.</i>	1.2	0.4	1.9	0.0	0.0	0.1	0.4	0.4
<i>Wolinella sp.</i>	0.2	0.0	0.0	0.0	0.2	1.1	0.5	0.1
<i>Bacteroides sp.</i>	5.5	4.5	8.0	2.6	7.3	7.2	4.5	6.6
<i>B. intermedius</i>	0.3	1.9	2.2	1.7	0.9	4.6☆	0.9	1.9
<i>B. gingivalis</i>	0.2	0.0	1.2	0.0	0.0	1.9☆	0.8	0.4
<i>B. gracilis</i>	0.0	2.6	3.6	0.0	0.3	0.2	0.3	0.3
<i>B. fragilis</i>	4.6	0.0☆	0.0	0.6	5.4	0.3☆	2.4	2.6
<i>Others</i>	0.3	0.0	1.0	0.3	0.8	0.2	0.1	1.4
<i>E. corrodens</i>	2.2	6.0	0.3	6.0*	2.5	1.3	1.5	1.7
<i>V. parvula</i>	0.0	0.7	2.1	1.1	0.1	0.3	0.0	1.6*
<i>Capnocytophaga sp.</i>	1.2	0.3	5.5	3.5	1.1	3.4	3.6	1.4
<i>C. sputigena</i>	0.1	0.3	4.2	2.4	0.2	0.4	1.0	0.8
<i>C. ochracea</i>	1.1	0.0	0.0	1.0	0.7	3.0	2.3	0.4
<i>C. gingivalis</i>	0.0	0.0	1.3	0.0	0.3	0.0	0.3	0.2
<i>Fusobacterium sp.</i>	8.1	10.0	12.9	4.4	6.0	7.7	9.6	5.4
<i>F. nucleatum</i>	3.0	3.4	10.5	3.6	2.9	4.1	5.9	1.9*
<i>F. necrophorum</i>	0.6	1.9	1.5	0.1	2.6	2.3	2.4	0.6
<i>F. mortiferum</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.8	0.3
<i>F. naviforme</i>	1.7	4.4	0.0	0.7	0.4	0.6	0.0	0.6*
<i>Others</i>	2.7	0.3	0.9	0.0	0.1	0.4	0.5	2.0
<i>Peptostreptococcus</i>	6.7	2.7	7.9	2.6*	4.4	8.4	8.7	3.4*
<i>Ps. micros</i>	6.3	2.7	7.5	2.6*	2.7	5.7	4.9	3.3
<i>Ps. prevotii</i>	0.4	0.0	0.4	0.0	1.5	1.7	1.7	0.1
<i>Others</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	1.0	2.1	0.0
<i>Streptococcus</i>	37.5	29.8	54.7	47.2	53.3	45.4	50.7	38.0
<i>S. intermedius</i>	11.0	8.6	10.7	18.2	9.7	9.8	10.7	8.0
<i>S. mitis</i>	10.5	5.7	16.9	4.2	11.3	12.2	13.0	10.8
<i>S. mutans</i>	3.1	5.1	8.7	9.1	7.1	5.6	6.0	2.2
<i>S. constellatus</i>	5.3	2.1	2.1	5.8	9.6	4.0	8.0	4.8
<i>S. salivarius</i>	0.0	3.0	4.2	0.0	5.0	2.0	1.5	1.6
<i>S. sanguis I</i>	2.3	0.6	0.3	6.5	6.9	2.8	5.2	2.6
<i>S. sanguis II</i>	3.3	1.2	4.8	1.2	2.7	3.3	3.1	4.0
<i>S. uberis</i>	0.7	1.1	4.0	0.9	0.2	1.5	0.5	2.5
<i>S. scidominimus</i>	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.1	0.3	1.0
<i>S. morbillorum</i>	1.4	2.4	3.0	1.2	0.8	4.2☆	2.4	0.4

☆ paired *t*-test ($P < 0.05$)* *t*-test ($P < 0.05$)

術前に比較して有意

表 6 健康者群（包帯交換群及び非交換群）の細菌培養結果（％）

	交換群				非交換群			
	歯肉表面 適用前	7 日後	歯周ポケット 適用前	1 月後	歯肉表面 適用前	7 日後	歯周ポケット 適用前	1 月後
<i>A. a.</i>	0.1	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0	0.0	0.0
<i>Wolinella sp.</i>	0.0	0.3	0.3	0.2	0.0	0.0	0.6	0.0
<i>Bacteroides sp.</i>	6.0	7.4	6.1	4.1	5.1	8.2	10.0	0.5
<i>B. intermedius</i>	2.2	4.2	0.0	2.2	1.9	2.5	0.0	0.0
<i>B. gingivalis</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>B. gracilis</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>B. fragilis</i>	3.8	2.0	2.1	0.0	3.1	5.5	9.8	0.5
<i>Others</i>	0.0	1.2	4.0	2.0	0.0	0.2	0.2	0.0
<i>E. corrodens</i>	0.3	1.3	0.5	0.1	2.0	0.0	4.6	0.0
<i>V. parvula</i>	0.0	4.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Capnocytophaga sp.</i>	4.8	5.5	0.2	0.6	5.1	0.5	4.4	5.3
<i>C. sputigena</i>	0.0	0.6	0.2	0.5	0.0	0.0	3.1	4.3
<i>C. ochracea</i>	4.8	4.8	0.0	0.1	5.1	0.4	1.3	1.0
<i>C. gingivalis</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0
<i>Fusobacterium sp.</i>	1.9	3.5	3.9	0.8	2.3	6.9	3.6	3.7
<i>F. nucleatum</i>	0.4	2.6	1.3	0.8	2.2	6.0	3.0	3.7
<i>F. necrophorum</i>	0.8	1.0	2.4	0.0	0.0	0.9	0.2	0.0
<i>F. mortiferum</i>	0.2	0.0	0.2	0.0	0.1	0.0	0.5	0.0
<i>F. naviforme</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Others</i>	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Peptostreptococcus</i>	8.9	5.8	11.7	5.2	7.0	6.9	9.0	3.3
<i>Ps micros</i>	6.1	5.8	5.9	4.4	4.3	6.1	2.8	2.8
<i>Ps prevotii</i>	1.1	0.0	4.9	0.0	2.6	0.7	4.9	0.5
<i>Others</i>	1.6	0.0	0.9	0.8	0.0	0.0	1.3	0.0
<i>Streptococcus</i>	62.6	57.5	51.9	50.4	49.4	65.8	55.2	47.7
<i>S. intermedius</i>	17.4	11.4	9.5	13.4	10.5	16.3	15.1	9.2
<i>S. mitis</i>	9.9	9.4	10.4	11.5	3.2	11.4	11.7	6.7
<i>S. mutans</i>	13.0	7.7	10.1	6.9	11.2	8.4	8.2	8.3
<i>S. constellatus</i>	6.8	14.4	10.1	3.6	12.9	10.6	6.3	12.9
<i>S. salivarius</i>	0.0	0.0	0.5	2.6	3.9	2.5	0.7	2.1
<i>S. sanguis I</i>	5.2	2.8	1.1	3.1	1.9	8.7	6.3	4.8
<i>S. sanguis II</i>	6.1	9.2	9.0	8.8	4.3	7.9	5.0	2.8
<i>S. uberis</i>	0.1	0.1	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>S. scidominimus</i>	1.9	0.9	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>S. morbillorum</i>	2.2	1.5	0.5	0.5	1.5	0.0	2.0	0.9

表 7 FO 群の術後 1 ヶ月後のポケット深さと細菌培養結果 (%)

	A群				B群			
	歯肉表面 術 前	術後 7 日	歯周ポケット 術 前	術後 7 日	歯肉表面 術 前	術後 7 日	歯周ポケット 術 前	術後 7 日
<i>A. a.</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.2	0.9	1.0
<i>Wolinella sp.</i>	0.3	0.3	0.0	0.0	0.1	0.5	0.4	0.8
<i>Bacteroides sp.</i>	8.7	6.4	11.3	4.6	6.4	6.3	4.0	7.8
<i>B. intermedius</i>	1.1	5.1	1.9	4.3	0.6	4.8☆	2.1	7.4
<i>B. gingivalis</i>	0.2	0.0	1.4	0.0	0.0	1.0	0.5	0.0
<i>B. gracilis</i>	0.0	0.6	1.5	0.3	0.0	0.0	0.4	0.0
<i>B. fragilis</i>	5.6	0.6	4.9	0.0	5.3	0.5	0.6	0.0
<i>Others</i>	1.8	0.1	1.6	0.0	0.5	0.2	0.4	0.5
<i>E. corrodens</i>	8.5	2.3	2.9	0.6	0.3	4.2	0.5	0.0*
<i>V. parvula</i>	0.0	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8	0.0
<i>Capnocytophaga sp.</i>	1.6	0.6	5.2	0.0	0.1	0.6	3.7	0.0
<i>C. sputigena</i>	0.3	0.6	2.9	0.0	0.0	0.2	2.0	0.0
<i>C. ochracea</i>	1.3	0.0	0.5	0.0	0.0	0.4	1.7	0.0
<i>C. gingivalis</i>	0.1	0.0	1.8	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
<i>Fusobacterium sp.</i>	5.8	8.3	8.4	6.2	4.4	5.0	10.5	3.4
<i>F. nucleatum</i>	1.9	2.6	6.7	3.5	2.6	2.6	5.4	3.4
<i>F. necrophorum</i>	3.6	3.8	0.2	2.0	0.8	1.1	3.3	0.0*
<i>F. mortiferum</i>	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.1	0.9	0.0
<i>F. naviforme</i>	0.0	1.9	0.0	0.3	0.1	1.0	0.0	0.0
<i>Others</i>	0.2	0.0	1.6	0.0	0.9	0.1	0.9	0.0
<i>Peptostreptococcus</i>	8.3	10.4	7.6	6.2	6.6	7.4	7.7	8.2
<i>Ps micros</i>	5.4	3.1	4.3	4.8	5.1	5.9	7.3	5.0
<i>Ps prevotii</i>	2.0	7.3	3.3	1.3	1.6	0.0	0.4	3.2
<i>Others</i>	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0
<i>Streptococcus</i>	46.7	42.3	26.5	42.9	48.9	38.7	49.8	19.2*
<i>S. intermedius</i>	10.4	13.5	3.3	10.0	8.0	9.4	15.1	3.6*
<i>S. mitis</i>	11.6	7.7	8.7	8.1	14.8	11.2	12.1	6.3
<i>S. mutans</i>	11.0	10.5	8.2	11.9	4.6	3.1	7.5	3.1
<i>S. constellatus</i>	7.5	1.8	2.6	10.0	8.7	1.5	4.8	0.4
<i>S. salivarius</i>	0.0	0.6	0.0	0.0	4.6	3.8	1.5	0.2
<i>S. sanguis I</i>	3.0	3.5	0.6	2.9	3.8	1.3☆	3.1	2.9
<i>S. sanguis II</i>	0.7	0.8	0.3	0.0	3.7	2.9	3.1	0.9
<i>S. uberis</i>	0.3	0.0	0.0	0.0	0.3	0.6	0.8	0.0
<i>S. scidominimus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.4	0.0
<i>S. morbillorum</i>	2.2	3.9	2.8	0.0	0.3	4.8☆	1.5	1.8

☆ paired *t*-test ($P < 0.05$)* *t*-test ($P < 0.05$)

術前に比較して有意

A群：術後 1 ヶ月のポケット深さ

< 3 mm

B群：

〃

≥ 3 mm

図 16 歯周包帯（内面歯冠側）の微生物像

が複雑に絡み合っていた。また、紡錘状の長桿菌も観察できた (pointed-end)。一般にプラークは圧平された像を示し、数 10 μm ごとに見られる列隙により、微生物の形態が確認された。

図 16 は包帯歯冠側で見られた像である。列隙より多数の線維状の微生物様構造物が伸びており、これらは 1~2 μm ごとに結節を持っていた。その周辺には短桿菌が観察できた。

本研究においては、内面を歯冠側、中央部及び歯肉側に分けて観察を行ったが、各部位の微生物構成に著明な差は見られなかった。FO 群 6 名、PC 群 3 名、健康者群 1 名を実験に供したが、FO 群からは *Spirochetes* と思われるラセン状の微生物は観察されなかった。PC 群 3 名の内 2 名の歯冠側で *Spirochetes* が観察できた。ラセン状の *Spirochetes* が複雑に絡み合っており存在し、Curved rods と思われる像も観察できた (図 17)。

考 察

1. 実験方法について

歯周包帯は、Eugenol 系と Non-eugenol 系に大別でき、両者を治癒と組織刺激性の両面から検討している報告^{4,5,7,11,12,17,20~22,57~60}は多い。Waerhaug ら⁴)は Eugenol 系歯周包帯を用いると、ごく軽い炎症状態が惹起されることを観察しているが、包帯は治癒を妨げていないと結論している。また、防腐作用による微生物繁殖の抑制に注目し、その有効性を示している。逆に、Haugen ら¹²)は、Eugenol の組織障害を示し、その結果治癒の遅延を引き起こすと報告している。一般的に、Eugenol 系歯周包帯は防腐作用及び殺菌作用という長所^{4,17,21,22})を有すると同時に、味や臭いの悪さ、粗ざうな表面及び鋭い辺縁などの短所¹⁶)も有し、時に necrosis¹²) (特に歯槽

図 17 歯周包帯内面の *Spirochetes*

骨に対して)や治癒不全^{5,58,59})を招くとされている。

本研究では、当附属病院で使用されている Eugenol 系のサージカルパック N® (昭和薬品化工(株)製)を使用した。今回、明らかに歯周包帯剤が原因と考えられる治癒不全は認められなかったが、鋭利な辺縁のため潰瘍を形成した症例が 1 例見られた。

2. 被験部位について

歯周包帯下に微生物が繁殖し治癒に障害が出る可能性については多くの報告^{4,5,11,13,17~22})がある。Løe ら⁵)は、主に唾液中の微生物が侵入することによる影響に言及している。歯周包帯下は口腔内の環境と密接な関係を持つと同時に、その直下は空気に曝されず嫌気状態であり、特に嫌気性菌に着目する必要があると述べている。しかし、Haugen ら¹⁷)によれば、Saliva bacteria に対して Eugenol 系歯周包帯は著明な抑制効果を示し、5% Glucose と *S. mutans* を使用し、*in vitro* において包帯表面へのプラークの蓄積を検索した結果、Eugenol 系歯周包帯は Non-eugenol 系に比較してプラークの蓄積が軽微であったとしている。Persson ら²²)も *in vitro* で口腔内微生物に対する抑制効果を調べ、Eugenol 系歯周包帯は次第に効果が減少して、4~5 日で全くなると報告している。その原因として、抗菌因子及び未反応の Eugenol の溶出^{7,22,59})を挙げている。

歯周包帯内面は、嫌気状態を維持し嫌気性菌の繁殖を助長する一方、常に歯周包帯構成成分の抗菌作用を受け、独特の微生物相を形成している。しかも、Eugenol などの抗菌因子の溶出に依存して経時的にその比率を変化させている可能性も考えられる。

本研究では、術後 7 日に歯肉溝、創面、包帯内面歯冠側端、中央部、歯肉側端及び包帯外面より試料を採取したが、各部は各々微生物相の性格が異なると考えられた。内面歯冠側端および歯肉側端は、口腔内環境の変化

を反映し、唾液内微生物の包帯内面への侵入口となっており、歯周ポケットの上部と同様の環境を形成している。しかし、唾液などで希釈¹⁶⁾されているものの、包帯内抗菌因子の影響も受けていると考えられる。包帯外面は口腔内に露出されているので、他の部位に比較して自浄性は存在するが、前述した Haugen ら¹⁷⁾の研究のように、その粗ざうな表面は微生物繁殖に好適な場となる可能性も考えられる。創面と包帯内面中央部は互いに近接しているが、本研究においては明らかに微生物の構成は異なっていた。その原因として、内面中央部は包帯の抗菌因子の影響をより多く受けていた可能性がある。加えて、創面上はリンパ球などの生体の防御因子の影響^{16,61)}にあったけれども、嫌気的環境のため、他の部位より嫌気性菌の影響をより強く受けている場であると考えられる。

歯肉溝については、術後7日には再生上皮が既に歯と接し^{9,62)}、歯肉溝としての形態を成していたと考えられる。この歯肉溝内の微生物相は当然、創面の微生物相や生体の防御因子の影響を受けているのであろう。

3. 暗視野顕微鏡所見

1) 微生物構成比率の変化について

Listgarten ら³⁶⁾が暗視野顕微鏡を用い、歯周病の病態と歯周ポケット内微生物構成比率間には相関関係が存在することを明らかにして以来、多くの研究者^{38,40,42~44,65~67)}がこの所見を裏づけている。特に *Spirochetes* 及び *Motile rods* の動態に注目し、病状が悪化するにつれてこれらの比率が上昇し、*Coccoid cells* の比率が減少することが示されている。逆に、治療後や健康部位では *Coccoid cells* の比率が高く、*Spirochetes* 及び *Motile rods* の比率は低い。それ故、歯周病の進行状態^{36,65)}や治療後の評価^{38,40,42~44,66,67)}、メンテナンス時期の決定⁴⁸⁾などに暗視野顕微鏡の所見が応用されている。

本研究では、歯周包帯下に繁殖する微生物の創傷治癒への影響を知る目的で、FO 及び PC 後の微生物相の推移を観察した。歯周外科処置後治癒が完全でない歯周組織に対して、*Spirochetes* 及び *Motile rods* などの存在はその比率の寡多に関係なく治癒への影響が憂慮される。本研究においては、FO 後7日の歯周包帯下において *Spirochetes* が1.1%、*Motile rods* が2.9%観察されていた。3日後の包帯交換時には、それぞれ0%、0.1%であることから、FO により一時的に消退したこれらの微生物が再び繁殖に至ったのではないかと考えられる。

Mousquès ら³⁸⁾は Scaling 及び Root planing 後、3~7日の比較的短い間隔で歯周ポケット内の微生物構成を観

察し、特定の菌種の定着及び増加には一定の時間が必要であること、特に *Spirochetes* はその比率を増加させるまで他の菌種より長い時間を必要とすることを報告している。また、Theilade ら⁶³⁾は、臨床的に健康な部位の口腔清掃を中止させ、各菌種の消長を観察し、グラム陽性球・桿菌が著明に減少すること、グラム陰性球・桿菌、*Fusiforms*, *Filaments* の順に次第にその比率を増加させることを報告している。そして、*Spirochetes* の出現はプラークが成熟するまで、9~15日間要することを示している。本研究においても、*Spirochetes* は術前の level から減少し、低い level を維持していたが、*Motile rods* は術前より有意に増加しており、その結果総 *Motile* の比率は術前を上回っていた。他の菌種を見ると、*Coccoid cells* の比率が有意に減少し、*Straight rods*, *Fusiforms*, *Filaments* 及び *Curved rods* は有意に増加しており歯周包帯の使用が実験的歯肉炎^{63,64)}と同様の結果になっていたことが示された。この結果を考えると、歯周包帯の適用が治癒を促進させるとした報告^{1~8)}に疑問が残る。しかし、包帯が脱落し実験より排除した6名の数値がその疑問への解答となるかもしれない。すなわちそれらの術後7日では、*Coccoid cells* の比率が実験群より高く、総 *Motile* の比率も1%と低い値を示していた。

また、本研究においては *Straight rods* の比率が高く、Listgarten ら³⁶⁾の2倍を示している。他の研究者^{66,67)}も、18~30%前後の値を挙げているに過ぎず、*Coccoid cells*, *Spirochetes*, *Motile rods* などに比較すると、そ増減に対する考察は今までほとんどなされていない。*Straight rods* の比率が大であった理由については不明であるが、培養法を用いた検索では歯周ポケット内微生物の92.8%が桿菌であったとする報告²⁷⁾もあり、術後の歯周包帯下で *Straight rods* が有意に増加した本研究の所見は注目に値する。歯周病の進行に対して、嫌気性グラム陰性桿菌は重要な意味を持っており、この点からも *Straight rods* の増減が病状を判定する指標となりうると考えられる。

歯周ポケット内の比率を見ると、Listgarten ら^{36,38,43,44)}は *Spirochetes* 36.3~38.7%、*Motile rods* 12.7~18.6%という高い値を報告しているが、朴⁴⁰⁾や奥田⁶⁵⁾は *Spirochetes* の比率として13.1~18.0%という値を報告している。本研究においては、初期治療を完了し歯周外科処置を行う直前の患者を対象としているため、歯周組織の炎症状態及びプラークコントロールの点でこれらの報告と同一には取り扱うことはできない。むしろ歯周処置後の *Spirochetes* 及び *Motile rods* の比率^{36,40,42~44)}

が本研究の baseline に相当すると考えられる。

術後 7 日には、既に歯肉溝上皮は歯と接しているという報告^{9, 62)}があるけれども、まだこの時期は治癒の過程にあるため、感染や、機械的刺激に対して脆弱である¹⁸⁾と考えられる。試料採取時の刺激により、治癒の遅延をきたした可能性についての指摘は否めない。しかし、本研究では歯周包帯の使用によるその内側のプラーク、特に治癒過程にある歯肉溝内のプラークの存在に注目し、包帯撤去時の 7 日後に試料の採取を行った。術後 7 日の歯肉溝において *Spirochetes*, *Motile rods* はほとんど観察されず、それらの菌種の比率の増加は危険信号であるとする Listgarten ら⁴⁷⁾の基準に従えば、かなり良い状態であったと考えられる。

Arnold ら⁶¹⁾は、歯肉切除後経時的に Crevicular fluid flow 及びその Smear を観察し、Crevicular fluid flow が 7 日後に最大となること、また逆に Smear 中の微生物の数が最少となることを報告している。その後は、歯肉溝上皮の修復が進行するにつれて、Crevicular fluid flow が減少し、微生物数は増加していくとしている。Smear 中では、グラム陽性球菌及び小桿菌が優勢であり、施術法及び採取法に相違が存在するものの、本研究においても、Coccioid cells の比率は有意に増加しており、彼らの結論と一致する。

術後 1 カ月と 7 日の結果は類似しており、Straight rods の比率の減少が見られた以外、各菌種に有意の差は存在しなかった。しかし、*Spirochetes* 2.0%, *Motile rods* 0.7% と術前の 1/6 の level ながらも増加の傾向を示していた。Rosenberg ら⁴⁴⁾は、術後 6 週目に、*Spirochetes* 11.8%, *Motile rods* 9.0% と高い値を示し、その反面 Coccioid cells の比率は 49.2% であり、本研究の値と同様の傾向を示している。*Fusiforms* 及び *Filaments* の比率は 7 日後に比較して増加の傾向を示したが、総 *Motile* の比率は依然として低く、また Coccioid cells の比率も高い値を維持しており、術後 1 カ月を経過しても後戻りが起こっていないことが示唆された。

PC 群の術前の微生物構成比率を見ると、歯肉表面及び歯周ポケットは FO 群とほぼ同様の値を示した。包帯撤去時の創面において FO 群と同様、Coccioid cells の比率が減少し、Straight rods の比率は増加していた。本研究においては微生物相の構成比率の変化に注目し、total CFU については検索していない。なぜなら、術前のプラークと術後 7 日のシート状に付着している多量のプラークを同一条件で採取することに疑問を感じたためである。実際、total CFU は術後 10^{2-3} 倍程度増加してい

た。それ故、比率は減少を示しても、微生物数を考慮すると Coccioid cells も増加と考えることができる。もちろん、他の菌種についても総数が増加している可能性はあり、*Spirochetes* 1.5%, *Motile rods* 1.1% と比率は減少しているものの安心はできない。Pihlstrom ら²³⁾は歯周包帯の適用によるプラーク湿重量の増加を見ているが、それは食物や蛋白質、上皮細胞及び包帯の残塊で微生物数の増加は軽度であったと述べている。しかし、彼らの報告には baseline data がなく、直ちに本研究と比較することはできない。

歯肉溝では、FO 群と同様、Coccioid cells の比率の増大と、*Spirochetes*, *Motile rods* 及び *Fusiforms* の比率の減少が見られ、それぞれ有意差があった。しかし、FO 群の 7 日後で全く観察されなかった *Spirochetes* が 3.0% の値を示し、創面上で得た値を上回っていた。この理由として、直視下で縁下の不良肉芽、歯石及び壊死セメント質の除去が可能な FO と比較して、PC においては完全な除去ができなかったため、歯周組織の改善が不十分であったことが考えられる。Scaling 及び Root planing 後^{36, 40, 44, 67)}の歯周ポケットの数値を見ると、*Spirochetes* の比率は 0.5~11.8% であり、やはりこれも *Spirochetes* が完全には除去されなかったためであろう。

Heaney ら¹¹⁾は、健康者に歯周包帯を施し、光顕及び電顕で観察し、包帯下に微生物の存在を認めている。包帯適用前のポケットにて、*Spirochetes* が 1.1%, *Motile rods* が 0.9% 観察できたことは Listgarten ら³⁶⁾の報告と一致している。包帯適用 7 日後の歯肉表面の比率を見ると、Coccioid cells の比率が 47.1%→33.9% と減少し、*Fusiforms* 及び *Filaments* の比率は 5.4% を示し、術前には全く見られなかった *Spirochetes* (0.5%), *Motile rods* (0.6%) さえ観察された。この値は他の 2 群の値と類似しており、baseline の相違は反映されていない。そのためこの微生物相の変化は、歯周包帯の適用による当該部位の清掃の不良^{2-5, 9, 16, 68, 69)}と嫌気状態への変化に因るものと考えられ、baseline data に無関係であることが推測される。

また、今回健康者には縁下の処置を行わず包帯を適用したため、清掃不十分^{63, 64)}となり、歯周ポケット内の微生物相が変化し、Coccioid cells の比率が減少し、他の菌種が増加するのではないかと予想した。しかし、Coccioid cells の比率の減少は見られず、逆に Straight rods, *Motile rods* 及び *Filaments* はその比率が減少した。本研究で使用した Eugenol 系歯周包帯剤の抗菌因子が歯周ポケットまで作用し、その後 *Spirochetes*, *Motile rods*

などの繁殖が抑えられたと考えられる。また、健康者では歯周ポケット内の恒常性を保つならんかの調節因子が働いていた可能性も否定できない。

2) 部位による相違

包帯内面歯冠側及び歯肉側は微生物の内面への侵入口と考えれば条件は同一であるが、包帯の密着が侵入を押さえる^{1,5,7,16,23)}という観点から見れば歯肉側の方が隙間が大であると考えられる。しかし、この件に関しては暗視野顕微鏡所見でも両者に有意差は確認できなかった。内面中央部は内面歯冠側及び歯肉側と微生物構成比率に差が見られたが、Fusiforms 及び Filaments の比率が低いこと以外、有意差は見られなかった。また互いに密着した創面と内面中央部では、その比率は大きく異なっていた。創面において、Straight rods, Motile rods, Fusiforms 及び Filaments の比率が有意に高く、Coccoid cells の比率は有意に低い値を示した。今回使用した歯周包帯に含まれる Eugenol などの抗菌因子により、その比率が変化することが推測された。Eugenol 系歯周包帯の *in vitro* での殺菌作用は主に Coccoid cells について報告^{17,22)}されており、他の菌種に関する報告は少ない。しかし、*B. gingivalis* に対して Eugenol が優れた抑制効果を示したという太田らの報告⁷⁰⁾もあり、Eugenol 系包帯は今回観察した菌種すべてに発育抑制効果を持ち、抗菌因子の経時的な溶出^{7,22,59)}により、影響が少なく、繁殖の速い菌種^{38,64)}が優勢となったとも推測される。その点で、内面中央部と外面とで有意な変化が見られなかったことは納得できる。

さて、創面と歯肉溝も近接していながら、その比率は大きく異なる。歯肉溝は、Coccoid cells の比率が高く、Spirochetes, Motile rods, Curved rods, Fusiforms 及び Filaments の比率は低く、それぞれに有意の差が見られた。術後の歯肉溝における微生物数、Crevicular fluid flow, 炎症性細胞及び上皮細胞の増減には密接な関係が見られ⁶¹⁾、生体の防御機構により微生物の増殖が抑制されている可能性もある。一方創面に存在する微生物が歯肉溝の創傷治癒に関して悪影響を及ぼす可能性が無いとも言えず、この両部位の微生物の存在は注目に値する。

3) 包帯の交換に関して

歯周包帯の直下に微生物が繁殖していると報告^{4,5,11,13,16~22,69)}されて以来、包帯に殺菌剤、抗生剤を添加し、微生物の抑制を試みる研究者^{6,7,22)}が多い。しかし、これら抗菌因子の添加は創面を刺激しアレルギーを起こす症例も報告^{6,16,60)}されており、適用に当たっては充分注意する必要がある。また、Chlorhexidine の適用^{3,3,68,69)}は

著明なプラークの抑制効果を示しているが、内面への効力の発揮については疑問が残る⁷¹⁾。戸来⁶⁹⁾は、0.2% Chlorhexidine の含嗽により、歯周包帯適用期間に有意に高いプラーク抑制効果を報告しているが、その反面舌の変色、歯の着色、舌への刺激なども観察している。

本研究においては、歯周包帯の交換を頻回に行い、その直下の微生物の繁殖を抑制すれば充分効果があるのではないかという観点で、3日後に歯周包帯の交換を行った群と交換を行わなかった群を比較した。歯肉溝の状態を見ると、両群間には有意差は存在せず、歯周包帯の交換が歯肉溝に対して影響を与えていないことが示唆される。両群間で7日後の創面上において Spirochetes 及び Motile rods に有意差は存在しなかった。有意差は Curved rods 及び Coccoid cells で見られた。しかし、この結果からだけでは歯周包帯の交換により、微生物構成が変化するという結論には達し得なかった。

4. 培養結果に関して

近年、歯周病の病原菌についての検索が行われ、歯周病が悪化するに連れて偏性嫌気性グラム陰性桿菌が増加することが多くの研究者^{24~36)}により報告されている。Slots²⁷⁾は、進行した歯周ポケットにおいて *Black-pigmented Bacteroides* 及び *F. nucleatum* が優勢であり、それぞれ 31.7%、3.1% であると報告している。これに対して、歯周治療後に、偏性嫌気性桿菌が著明に減少するとの報告^{37,39~42,45~47)}も成されている。井上⁴²⁾は歯周初期治療を、Brushing, Deep scaling の 2 phase に分類し、9名の患者について歯周ポケット内プラークを検索し、偏性嫌気性グラム陰性桿菌の減少を示している。個々の菌種では、*B. gingivalis* (5.7%→0)、*F. nucleatum* (4.3%→0) の減少と *Actinomyces* 属の増加を報告している。中川ら⁴⁷⁾は、歯周初期治療後に *B. gingivalis* (25.9%→11.5%) の著明な減少を示したが、*B. intermedius* 及び *F. nucleatum* には変化は見られず、これら歯周病関連菌を歯周ポケットより完全に除去することは困難であったと結論している。modified Widman flap surgery を行った 23 名の患者について、Haffajee ら⁴⁷⁾は *B. intermedius* 及び *B. gingivalis* の減少を見たが、*F. nucleatum* は逆に増加することを報告している。

歯周病は慢性の疾患であり、歯周病関連菌の定着と病状の進展にはある一定の時間が必要であるらしい。今回のような短期間での増減がどの程度治癒過程に影響を与えるかについては今後の研究を待たねばならないであろう。しかし、術後間もない脆弱な歯周組織において *Black-pigmented Bacteroides* 及び *F. nucleatum* の存在

はそれらの病原性^{72,73)}を考慮する時、短時間であれ憂慮される事態と言えよう。創面上のプラークを見ると、*B. intermedius* が 0.7% より 3.8% と有意に増加していた。*B. gingivalis* 及び *F. nucleatum* はその比率を増加させているものの、有意差は見られていない。*B. intermedius* は *B. gingivalis* と異なり、健康部でも比較的高率で検出されており^{33,45)}、病原性は確認されているものの歯周病変部での特異性は断定できない。むしろ、歯肉炎部²⁹⁾及び軽度の歯周炎部³²⁾での関与が注目されている。Tanner ら³²⁾は *B. intermedius* と *B. gingivalis* の炎症状態への関与の相違として、両菌の機能的相違、宿主の感受性の相違、もしくは他の菌との相互作用による増強を挙げている。*B. intermedius* の増加についてはその原因について詳細は不明であるが、もし *B. intermedius* が歯周炎を特異的に惹起すると仮定するなら、包帯適用が創傷へ与える影響は好ましいものとは言えないであろう。

歯周包帯下の微生物相についての報告は少ないが、250 人の歯周病患者の歯肉切除術における Heaney ら²⁰⁾の報告によれば、偏性嫌気性菌の検出は軽微であったとしている。彼らは、Eugenol 系と Non-eugenol 系の 2 種類の歯周包帯について微生物学的検索を行っており、両者とも *Streptococcus* とその他のグラム陽性球菌が最も頻繁に検出でき、グラム陰性桿菌は Eugenol 系で検出率が低かったと報告している。本研究においても、グラム陽性球菌は優勢であるが、*Bacteroides* 属及び *Fusobacterium* 属も比較的高率に検出されており、彼らの報告とは異なっていた。また、Coppes ら²¹⁾も Eugenol 系と Non-eugenol 系の 2 種類の歯周包帯を比較して Non-eugenol 系で *Black-pigmented Bacteroides* が創面及び包帯内面で有意に高い比率を示すことを報告している。他の菌種については言及していないが、*Black-pigmented Bacteroides* が創面で高率で検出されたことは本研究と一致する。このように、嫌気性菌の比率の増加が見られることから、歯周包帯下は嫌気的環境であることが暗示される。

7 日後の歯肉溝においては、*Capnocytophaga* 属、*Fusobacterium* 属及び *Peptostreptococcus* 属が有意に減少しており、このことは暗視野顕微鏡による観察結果と一致していた。*Fusobacterium* 属 (特に *F. nucleatum*)、*Ps. micros* 及び *Ps. prevotii* は 1 ヶ月後の検査でも依然として低い比率を維持しており、これら菌種の減少が一時的な現象ではなく、歯周組織の改善と密接に関連していることが示唆された。また、Haffajee ら⁴⁷⁾は術後の歯肉

溝において、*V. parvula* が最も優勢 (8.2%) であったと報告しているが、本研究では増加傾向を示したものの 1.5% に過ぎず一致していない。

PC 群においては、FO 群と各菌種の増減の傾向は微妙に相違していた。*B. intermedius* は増加したものの、有意差は見られず、*B. gingivalis* は全く検出されなかった。また、*F. nucleatum* も増加したものの *Fusobacterium* 属は著減していた。暗視野顕微鏡所見によると、Straight rods が有意に増加しているのに対し、培養結果ではこれら嫌気性桿菌には目立った変化はなかった。歯肉溝においては *Peptostreptococcus* 属及び *S. mutans* 以外に有意差は見られていない。本研究における菌種 level の増減の相違が創傷治癒及び局所の炎症にどの程度影響を与えるかについては不明である。

健康者群については歯肉溝において、*Peptostreptococcus* 属が有意に減少したこと以外には著明な変化は見られなかった。

また、歯周包帯周辺の微生物相の相違については、*B. intermedius*、*B. gingivalis* 及び *C. sputigena* は内面中央部より創面の方が有意に高かったことより、歯周包帯に含有されている抗菌因子へのこれらの菌種の response が高いことが予想される。Coppes ら²¹⁾も内面より創面において若干 *Black-pigmented Bacteroides* が頻繁に検出されることを示している。創面上には、抗菌因子の拡散が起こっていると考えられる。包帯と創面の間のスペースには各部位ごとに濃度勾配が存在している。各菌種の消長はこの濃度勾配の微妙な差の上に成り立っていると考えられる。

歯周包帯の交換に関する評価は、その baseline data の相違、個人の response の差など種々の問題が存在し至難である。創面において、非交換群は、*B. intermedius*、*B. gingivalis* 及び *S. morbillorum* が有意に増加している。これらの菌種は交換群においても増加の傾向は示しているものの、有意差は見られず歯周包帯の交換が繁殖を抑制したと考えることもできる。同様に、歯肉溝内において非交換群で *F. nucleatum* が有意に減少しているのに対し、交換群では有意差は見られていない。*F. nucleatum* も *B. gingivalis* 同様病原性^{27,32,33,74)}が注目されており、包帯交換の影響が歯肉溝内までは反映されていないことが示唆される。歯周包帯の適用期間は、Goldman & Cohen⁷⁵⁾は 14 日、Glickman⁷⁶⁾は 7 日を推奨している。しかし微生物の繁殖の関係上、7 日以内に撤去すべきであると主張している研究者²⁰⁾もいる。本研究では、両群間で臨床的には有意差を見出していないが、術

後3~4日でリコールし包帯交換もしくは撤去を行い、創面を常に清潔に保つことは必要であると考えられる。

術後1ヵ月におけるポケット深さにより、2群に分類した表7においてポケット深さが3mm以上であったB群の創面において *B. intermedius* が有意に増加し、*S. sanguis* I は有意に減少していた。歯肉溝においては *Streptococcus* 属及び *S. mitis* の有意な減少を見せている。このことより、術後7日における創面及び歯肉溝の菌種の増減(特に *B. intermedius* の著明な増加)が術後経過を規定している可能性が考えられる。もちろん baseline を検討する必要があるが、“Beneficial”な微生物の定着、繁殖⁴⁹⁾に特に注目するなら、*S. sanguis* I や歯肉溝内の *Streptococcus* 属の比率の減少が治癒遅延の一つの原因と考えられるかもしれない。これらの菌種の比率の増減は治癒予測の指標として応用できる可能性もある。

5. 走査型電顕像の所見について

歯周包帯下の微生物の存在は、これまで光顕^{4,5)}及び電顕(走査型及び透過型)¹¹⁾で報告されている。

Heaney ら¹¹⁾は健康な歯周組織を持つ成人18人に歯周包帯を適用し、3時間~5日間で撤去し、光顕及び電顕(走査型及び透過型)でその内面の構造物(上皮細胞のシート、微生物など)を観察している。彼らは、内面の微生物数が適用期間に伴い増加すること、また細胞分裂像が頻繁に見られたことも報告している。本研究でも暗視野顕微鏡において細胞分裂像が認められた。

本研究では、走査型電顕を用い撤去した歯周包帯内面の観察を行った。Heaney ら¹¹⁾も、走査型電顕で観察しているけれども、表面の裂隙や上皮細胞のみで、微生物については言及していない。本研究では包帯内面に球菌や長桿菌など種々の形態の微生物が観察された。走査型電顕像のみでは、菌種の同定まではできないのが現状である。しかし、図17に関しては *Spirochetes* である可能性が高い。

なお、本研究においては歯周包帯内面に Tin foil を裏装し、Tin foil 上に付着したブラックの観察を行っている。これは臨床で頻繁に用いられる術式を踏襲したものであると同時に、包帯のみではアルコール脱水の途中及び像観察中に包帯表面に損傷が起り、正確な観察が不可能になるためである。Tin foil の表面を観察しているため、直接包帯が創面や歯肉と接した内面の状況をそのまま反映してはいない。しかし、暗視野顕微鏡や細菌培養の所見でも歯周包帯内面には微生物が繁殖していることは確認されており、Tin foil の使用のみで過度の微

生物繁殖が引き起こされたとは考えにくい。

本研究において、歯周包帯と術後の組織の間には、より嫌気的な微生物相が存在することが、暗視野顕微鏡、培養結果及び走査型電顕像から確認された。これら微生物の繁殖がどの程度歯周創傷治癒に影響を与えているのかは不明であり、これまで歯周包帯の必要性の有無についての判断基準からは外されていた感もある。これは、歯周包帯が創面の保護を第1の目的としており、また微生物のみの関与で治癒遅延が生じたとする証明が極めて困難であったためであろう。本研究では、治癒遅延の所見は見られなかったが、歯周包帯下の微生物の繁殖がその後の段階での“Pathogenic”な微生物の定着及び繁殖を促すとも考えられる。本研究では術後1ヵ月という短い期間しか観察を行っておらず、その後の歯周ポケット内微生物の動態が注目される。いずれにしても、微生物を含めた創傷における刺激物質の排除と、その後の治癒の促進が今後の課題となろう。

結 論

歯周外科処置後の創傷治癒に対する歯周包帯の影響を知る目的で、歯周包帯下の微生物相の推移を暗視野顕微鏡、細菌培養法及び走査型電子顕微鏡を用いて検索し、以下の結論を得た。

1) FO 群の術前のポケット深さは、 5.8 ± 1.8 mm (Mean $\pm$ S.D.) で、術後1ヵ月のリコール時には 2.8 ± 0.9 mm に減少し、健康者群では適用前 2.1 ± 0.6 mm、適用後7日では 2.1 ± 0.3 mm であった。歯周包帯の適用により治癒遅延を示す所見は認められなかった。

2) 歯周包帯下の創面上は、術前に比較して Coccoid cells の比率が有意に減少し、Straight rods, Fusiforms, Filaments, Motile Rods 及び Curved rods の比率は有意に増加した。歯肉溝では Coccoid cells の比率が有意に増加し、*Spirochetes*, Motile Rods, Curved rods 及び Fusiforms の比率は有意に減少し、特に *Spirochetes* は全く観察されなかった。同様の傾向が PC 群でも見られたが術後7日の歯肉溝内に、*Spirochetes* が3.0% 認められた。健康者群では Filaments が歯肉表面で有意に増加し、逆に歯肉溝内で有意に減少したが、他の菌種には著明な変化は見られなかった。

3) 3日後に歯周包帯を交換することにより、創面上で有意に Coccoid cells の比率が高く、Curved rods の比率は低い値を示した。健康者群でも同様に Coccoid cells の比率が有意に高かった。

4) 歯周包帯下の創面上において、術前に比較して *B. intermedius* が有意に増加 (0.7%→3.8%) した。また, *S. sanguis* I は有意に減少し, *S. morbillorum* は有意に増加した。歯肉溝では, *Fusobacterium* 属 (10.2%→4.5%), *Capnocytophaga* 属及び *Peptostreptococcus* 属は術前に比較して有意に減少した。そして術後1ヵ月のリコール時でもこの level を維持していた。

5) 歯周包帯非交換群では, *B. intermedius* (0.9%→4.6%), *B. gingivalis* (0.0%→1.9%), *S. morbillorum* が有意に増加していたが, 交換群では有意な変化は見られなかった。

6) 術後1ヵ月のリコール時, ポケット深さが3mm以上の部位では術後7日の創面上で *B. intermedius* が有意に増加 (0.6%→4.8%) し, *S. sanguis* I は有意に減少 (3.8%→1.3%) していることよりこれらの菌種の比率の増減が治癒の予測の指標となる可能性も考えられる。

7) 歯周包帯内面の走査型電顕像からも球菌, 桿菌及び長桿菌の存在が確認できた。PC 群では *Spirochetes* も観察された。

謝 辞

稿を終えるにあたり, ご指導を賜りました当教室主任の堀内 博教授に慎んで感謝の意を表わします。御校閲並びに有益なご助言を戴きました口腔細菌学講座熊谷勝男教授, 歯科保存学第二講座奥田禮一教授に深謝致します。また, 実験にあたって御教示を戴きました遠藤英昭博士に感謝致します。最後に種々御協力を戴きました歯科保存学第一講座各位に厚く御礼申し上げます。

文 献

- Bernier, J.L. and Kaplan, H. : The repair of gingival tissue after surgical intervention. J. Am. Dent. Assoc., 35 : 697-705, 1947.
- Asboe-Jørgensen, V., Attström, R., Lang, N.P. and Løe, H. : Effect of a chlorhexidine dressing on the healing after periodontal surgery. J. Periodontol., 45 : 13-17, 1974.
- Newman, P.S. and Addy, M. : Comparison of hypertonic saline and chlorhexidine mouth-rinses after the inverse bevel flap procedure. J. Periodontol., 53 : 315-318, 1982.
- Waerhaug, J. and Løe, H. : Tissue reaction to gingivectomy pack. Oral Surg. Oral Med. Oral Path., 10 : 923-937, 1957.
- Løe, H. and Silness, J. : Tissue reactions to a new gingivectomy pack. Oral Surg. Oral Med. Oral Path., 14 : 1305-1314, 1961.
- Frleigh, C.M. : An evaluation of topical terramycin in postgingivectomy pack. J. Periodontol., 27 : 201-208, 1956.
- O'Neil, T.C.A. : Antibacterial properties of periodontal dressings. J. Periodontol., 46 : 469-474, 1975.
- Greensmith, A.L. and Wade, A.B. : Dressing after reverse bevel flap procedures. J. Clin. Periodontol., 1 : 97-106, 1974.
- Stahl, S.S., Witkin, G.J., Heller, A. and Brown, R.Jr. : Gingival healing III. The effects of periodontal dressings on gingivectomy repair. J. Periodontol., 40 : 34-37, 1969.
- Allen, D.R. and Caffesse, R.G. : Comparison of results following modified Widman flap surgery with and without surgical dressing. J. Periodontol., 54 : 470-475, 1983.
- Heaney, T.G. and Appleton, J. : The effect of periodontal dressings on the healthy periodontium. J. Clin. Periodontol., 3 : 66-76, 1976.
- Haugen, E. and Mjør, I.A. : Bone tissue reactions to periodontal dressings. J. Periodont. Res., 14 : 76-85, 1979.
- Wampole, H.S., Allen, A.L. and Gross, A. : The incidence of transient bacteremia during periodontal dressing change. J. Periodontol., 49 : 462-464, 1978.
- Blanquie, R.H. : Fundamentals and technique of surgical periodontal packing. J. Periodontol., 33 : 346-352, 1962.
- Hildebrand, C.N. and DeRenzis, F.A. : Effect of periodontal dressings on fibroblasts in vitro. J. Periodont. Res., 9 : 114-120, 1974.
- Sachs, H.A., Farnoush, A., Checchi, L. and Joserph, C.E. : Current status of periodontal dressings. J. Periodontol., 55 : 689-696, 1984.
- Haugen, E., Gjermo, P. and Ørstavik, D. : Some antibacterial properties of periodontal dressings. J. Clin. Periodontol., 4 : 62-68, 1977.

- 18) Burke, J.F. : Effects of inflammation on wound repair. *J. Dent. Res. Supplement*, 50 : 296-301, 1971.
- 19) Heaney, T.G., Melville, T.H. and Oliver, W.M. : The effect of different types of periodontal surgical dressings on the bacterial flora of the healing wound. *J. Dent. Res.*, 48 : 1104, 1969.
- 20) Heaney, T.G., Melville, T.M. and Oliver, W.M. : The effect of two dressings on the flora of periodontal surgical wounds. *Oral Surg. Oral Med. Oral Path.*, 33 : 146-151, 1972.
- 21) Coppes, L., Grevers, A. and Hoogendijk, J.L. : A comparison between a eugenol and a non-eugenol periodontal dressing. *Ned. Tijdschr. Tandheelkd*, 74 : 43-49, 1967.
- 22) Persson, G. and Thilander, H. : Experimental studies of surgical packs 1 In vitro experiments on antimicrobial effect. *Odontol. Tidskr*, 76 : 147-155, 1968.
- 23) Pihlstrom, B.L., Thorn, H.L. and Folke, L.E.A. : The effect of periodontal dressing on supragingival microorganisms. *J. Periodontol.*, 48 : 440-445, 1977.
- 24) Newman, M.G. and Socransky, S.S. : Predominant cultivable microbiota in periodontosis. *J. Periodont. Res.*, 12 : 120-128, 1977.
- 25) Gibbons, R.J., Socransky, S.S., Sawyer, S., Kapsimalis, B. and Macdonald, J.B. : The microbiota of the gingival crevice area of man—II The predominant cultivable organisms. *Arch. oral Biol.*, 8 : 281-289, 1963.
- 26) Socransky, S.S., Gibbons, R.J., Dale, A.C., Bortnick, L., Rosenthal, E. and Macdonald, J.B. : The microbiota of the gingival crevice area of man—I Total microscopic and viable counts and counts of specific organisms. *Arch. oral Biol.*, 8 : 275-280, 1963.
- 27) Slots, J. : The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. *Scand. J. Dent. Res.*, 85 : 114-121, 1977.
- 28) Listgarten, M.A. : A rationale for monitoring the periodontal microbiota after periodontal treatment. *J. Periodontol.*, 59 : 439-444, 1988.
- 29) Slots, J. : Bacterial specificity in adult periodontitis. A summary of recent work. *J. Clin. Periodontol.*, 13 : 912-917, 1986.
- 30) Slots, J., Møenbo, D., Langebaek, J. and Frandsen, A. : Microbiota of gingivitis in man. *Scand. J. Dent. Res.*, 86 : 174-181, 1978.
- 31) Slots, J. : Microflora in the healthy gingival sulcus in man. *Scand. J. Dent. Res.*, 85 : 247-254, 1977.
- 32) Tanner, A.C.R., Haffer, C., Bratthall, G.T., Visconti, R.A. and Socransky, S.S. : A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J. Clin. Periodontol.*, 6 : 278-307, 1979.
- 33) 奥田克爾, 高添一郎 : 歯周病局所細菌叢. *日本歯科評論*, 503 : 99-106, 1984.
- 34) 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.
- 35) Spiegel, C.A., Hayduk, S.E., Minah, G.E. and Krywolak, G.N. : Black-pigmented *Bacteroides* from clinically characterized periodontal sites. *J. Periodont. Res.*, 14 : 376-382, 1979.
- 36) 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.
- 37) Oosterwaal, P.J.M., Matee, M.I., Mikx, F.H.M., van't Hof, M.A. and Renggli, H.H. : The effect of subgingival debridement with hand and ultrasonic instruments on the subgingival microflora. *J. Clin. Periodontol.*, 14 : 528-533, 1987.
- 38) Mousquès, T., Listgarten, M.A. and Phillips, R.W. : Effect of scaling and root planing on the composition of the human subgingival microbial flora. *J. Periodont. Res.*, 15 : 144-151, 1980.
- 39) Schiøtt, C.R., Briner, W.W. and Løe, H. : Two year oral use of chlorhexidine in man II. The effect on the salivary bacterial flora. *J. Periodont. Res.*, 11 : 145-152, 1976.
- 40) 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.
- 41) 井上純一, 本城範典, 山岡 昭, 前田陽規, 岩本吉則, 福島久典, 佐川寛典 : Advancing periodontitis 患者の外科処置後における歯周ポケット内細菌の検索. 日歯周誌, 27 : 400-406, 1985.
 - 42) 井上純一 : 歯周初期治療による Moderate periodontitis 患者の歯周ポケット内細菌叢の変動 ; 日歯周誌, 28 : 484-499, 1986.
 - 43) Listgarten, M.A., Lindhe, J. and Hellden, L. : Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease. Clinical, microbiological and histological observations. J. Clin. Periodontol., 5 : 246-271, 1978.
 - 44) 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.
 - 45) 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.
 - 46) Slots, J., Mashimo, P., Levine, M.J. and Genco, R.J. : Periodontal therapy in humans. I. Microbiological and clinical effects of a single course of periodontal scaling and root planing, and of adjunctive tetracycline therapy. J. Periodontol., 50 : 495-509, 1979.
 - 47) Haffajee, A.D., Dzink, J.L. and Socransky, S.S. : Effect of modified Widman flap surgery and systemic tetracycline on the subgingival microbiota of periodontal lesions. J. Clin. Periodontol., 15 : 255-262, 1988.
 - 48) Listgarten, M.A. and Schifter, C. : Differential dark field microscopy of subgingival bacteria as an aid in selecting recall intervals : results after 18 months. J. Clin. Periodontol., 9 : 305-316, 1982.
 - 49) Syed, S.A. and Loesche, W.J. : Survival of human dental plaque flora in various transport media. Appl. Microbiol., 24 : 638-644, 1972.
 - 50) Mandell, R.L. and Socransky, S.S. : A selective medium for *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and the incidence of the organism in juvenile periodontitis. J. Periodontol., 52 : 593-598, 1981.
 - 51) 鈴木祥一郎, 上野一恵 : 臨床嫌気性菌 マニュアル, 第1版, 日水製薬株式会社, 東京, 1979, 99.
 - 52) Walker, C.B., Tanner, A.C.R., Smith, C. and Socransky, S.S. : Selective medium for *Eikenella Corrodens*. J. Dent. Res., 57 : special A 315 abstract, 961, 1978.
 - 53) Mashimo, P.A., Yamamoto, Y., Nakamura, M. and Slots, J. : Selective recovery of oral *Capnocytophaga spp.* with sheep blood agar containing bacitracin and polymyxin B. J. Clin. Microbiol., 17 : 187-191, 1983.
 - 54) Holdeman, L.V., Cato, E.P. and Moore, W.E.C. : Anaerobe laboratory manual, 4th ed., Virginia Polytechnique Institute and State University, Blacksburg Virginia, 1977, 1-151.
 - 55) Murray, R.G.E. et al : Bergey's manual of systematic bacteriology, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1984.
 - 56) Facklam, R.R. : Physiological differentiation of viridans streptococci. J. Clin. Microbiol., 5 : 184-201, 1977.
 - 57) Rivera-Hidalgo, F., Wyan, V.J. and Horton, J.E. : Effect of soluble extracts from periodontal dressings on human granulocytic leukocytes *in vitro*. J. Periodontol., 48 : 267-272, 1977.
 - 58) Nezwiek, R.A., Caffesse, R.G., Bergenholtz, A. and Nasjleti, C.E. : Connective tissue response to periodontal dressings. J. Periodontol., 51 : 521-529, 1980.
 - 59) Colman, G. : A study of some antimicrobial agents used in oral surgery. Br. Dent. J., 113 : 22-28, 1962.
 - 60) Romanow, I. : Allergic reaction to periodontal pack. J. Periodontol., 28 : 151-153, 1957.
 - 61) Arnold, R., Lunstad, G., Bissada, N. and Stallard, R. : Alterations in crevicular fluid flow during healing following gingival surgery. J. Periodont. Res., 1 : 303-308, 1966.
 - 62) 川村 真, 沼部幸博, 保母良基, 鴨井久一 : フラップ手術後の創傷治癒過程について—オートラジオグラフィーによる歯肉上皮及び歯肉結合組織の再生様式について—. 日歯周誌, 30 : 730-747, 1988.
 - 63) Theilade, E., Wright, W.H., Jensen, S.B. and

- Löe, H. : Experimental gingivitis in man. II A longitudinal clinical and bacteriological investigation. J. Periodont. Res., 1 : 1-13, 1966.
- 64) Löe, H., Theilade, E. and Jensen, S.B. : Experimental gingivitis in man. J. Periodontol., 36 : 177-187, 1965.
- 65) 奥田一博 : 排膿と歯周ポケット内細菌叢との関連について. 日歯周誌, 27 : 757-770, 1985.
- 66) 濱田 哲, 宮田裕之, 鴨井久一 : ポピドンヨード液による歯周ポケット内洗浄が臨床症状および細菌叢に及ぼす影響について. 日歯周誌, 32 : 534-553, 1990.
- 67) 谷 真彦, 柴田芳子, 原 宜興, 加藤伊八 : 臨床パラメーターとポケット内細菌叢に対するスクーリング・ルートプレーニングの効果 1. 臨床パラメーターおよびポケット内細菌叢の経時的変化. 日歯周誌, 31 : 895-904, 1989.
- 68) Bay, L.M. and Langebaek, J. : Effect of chlorhexidine-coated dressing on plaque formation after gingivectomy. Scand. J. Dent. Res., 86 : 303-304, 1978.
- 69) 戸来 徹, 斉藤邦男, 花村裕之, 岡本 浩, 鴨井久一 : 0.2% chlorhexidine gluconate 溶液含嗽による歯周包埋期間中の Plaque control について. 日歯周誌, 22 : 476-485, 1980.
- 70) 太田安昭, 太田功正, 奥田克爾, 高添一郎 : 形成充填剤の抗菌性について. 歯科学報, 84 : 83-88, 1984.
- 71) Addy, M. and Douglas, W.H. : A chlorhexidine-containing methacrylic gel as a periodontal dressing. J. Periodontol., 46 : 465-468, 1975.
- 72) 村山洋二 : 歯肉溝細菌の歯周病原性. 歯界展望, 57 : 103-116, 1981.
- 73) 太田功生, 高添一郎 : 黒色色素産生性 *Bacteroides* の抗原性状. 日本歯科評論, 503 : 115-123, 1984.
- 74) Genco, R.J. and Mergenhausen, S.E. : 浜田茂幸ほか (訳) : 歯周病の科学, 第1版, 医歯薬出版, 東京, 1984, 12-38.
- 75) Goldman, H.M. and Cohen, D.W. : 石川 純, 佐藤徹一郎 (監訳) : ゴールドマン & コーエン歯周治療学, 第1版, 医歯薬出版, 東京, 1979, 650-652.
- 76) Glickman, I. : 木下四郎, 末田 武 (監訳) : グリックマン臨床歯周病学, 第1版, 医学書院, 東京, 1976, 653-660.

連絡先 :

東北大学歯学部歯科保存学第一講座

〒 980 仙台市青葉区星陵町 4-1