

共振型音波歯ブラシの慢性歯周炎患者に対する臨床効果

児島 暁

明海大学 歯学部 口腔生物再生医工学講座 歯周病学分野

(指導：申 基喆 教授)

Clinical Effects of Sonic-Powered Toothbrush Applying Mechanical Resonance on Patients with Chronic Periodontitis

Satoru KOJIMA

Division of Periodontology, Department of Oral Biology and Tissue
Engineering, Meikai University School of Dentistry

(Mentor: Prof. Kitetsu SHIN)

歯乙 第604号 2015年3月26日

共振型音波歯ブラシの慢性歯周炎患者に対する臨床効果

児島 暁

明海大学 歯学部 口腔生物再生医工学講座 歯周病学分野

(指導：申 基喆 教授)

Clinical Effects of Sonic-Powered Toothbrush Applying Mechanical Resonance on Patients with Chronic Periodontitis

Satoru KOJIMA

Division of Periodontology, Department of Oral Biology and Tissue
Engineering, Meikai University School of Dentistry

(Mentor: Prof. Kitetsu SHIN)

歯乙 第604号 2015年3月26日

要旨: 本研究の目的は、共振型音波歯ブラシ(SPB : sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance)の慢性歯周炎に対する効果を歯周炎の臨床的パラメータから評価することであった。

被験者は、明海大学病院歯周病科に来院した 15 名の慢性歯周炎患者(男性 6 名, 女性 9 名, 平均年齢 53.3 ± 12.4 歳)とした。被験歯は、プロービングポケット深さ(PPD : Probing Pocket Depth) 4 mm 以上の小臼歯 30 歯とした。被験者は、実験側に SPB を使用し、対照側に手用歯ブラシ(MB : manual toothbrush)を使用した。臨床的評価は、実験のベースライン, 2 週後, および 4 週後に行った。(1)プラークインデックス(P_{LI} : Plaque Index), (2) PPD, (3) プロービング時の出血(BOP : Bleeding on Probing), (4) 歯肉溝滲出液量(GCF : Gingival Crevicular Fluids), (5) 総細菌数, および(6) 歯周病原細菌(*A.a* : *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *P.g* : *Porphyromonas gingivalis*, *P.i* : *Prevotella intermedia*, および *T.f* : *Tannerella forsythensis*) 数を臨床的パラメータとして用いた。統計分析には IBM SPSS Statistics version 20 を用いた。

SPB の 4 週時の P_{LI} は、MB と比較して有意に低下し($p < 0.05$), また、歯間鼓形空隙の垂直距離が 3 mm 以上および 3 mm 未満の両群で、SPB の 4 週時の近遠心面の P_{LI} は、MB と比較して有意に低下した($p < 0.05$)。SPB の 4 週時の GCF は、MB と比較して有意に低下した($p < 0.05$)。細菌および歯周病原性細菌数の総数は、SPB および MB の両群で経時的に減少したが、両群の比較では有意差は見られなかった。共振型音波歯ブラシは、特に頬舌側面と比較して近遠心面のプラーク除去効果が高く、

GCF を有意に低下させたことから、慢性歯周炎患者のプラークコントロールに有用であることが示唆された。

索引用語: 共振型音波歯ブラシ, 慢性歯周炎, PCR 法

Abstract: The purpose of this study was to evaluate the effects of the sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance (SPB) on patients with chronic periodontitis by examining the clinical parameters of periodontal disease.

The subjects were 15 chronic periodontal patients (6 male and 9 female, average ages 53.3 ± 12.4 years old) who visited the Department of Periodontics, Meikai University Hospital. Thirty premolars, which had more than 4 mm of Probing Pocket Depth (PPD) were examined. The subjects used the SPB for the experiment side, and used the manual toothbrush (MB) for the control sides. Clinical evaluation was carried out at the initiation (baseline), 2 weeks, and 4 weeks after the use of SPB and MB. As clinical parameters, (1)Plaque Index (PlI), PlI and comparison can be divided into two groups of less than 3 mm and 3 mm or more vertical distance of interdental embrasure, (2)PPD, (3)Bleeding on Probing (BOP), (4)Gingival Crevicular Fluid volume (GCF), (5) the total numbers of microorganisms copies, and (6) the numbers of periodontal pathogenic bacteria (*A.a*: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *P.g*: *Porphyromonas gingivalis*, *P.i*: *Prevotella intermedia*, and *T.f*: *Tannerella forsythensis*) were examined.

The statistical analysis was performed using the IBM SPSS Statistics

version 20.

PlI at 4 weeks-use SPB was significantly lower compared with that of MB ($p < 0.05$). Further the vertical distance of interdental embrasure both in more and less than 3 mm groups and , PlI of the mesio-distal tooth surface at 4 weeks-use of SPB were significantly lower compared with these of MB ($p < 0.05$).

GCF at 4 weeks of SPB was reduced significantly compared with the MB ($p < 0.05$). The total numbers of microorganisms and periodontopathic bacteria (*A.a + P.i + P.g + T.f*) were decreased with time in both groups, but there were no significant difference between groups using SPB and MB.

Since SPB, removed plaque attached to the mesio-distal tooth surface and significantly reduced the GCF, it is suggested that PBS is useful for plaque control of chronic periodontitis patients.

Key words: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance, chronic periodontitis, polymerase chain reaction

緒言

平成 23 年度の歯科疾患実態調査¹⁾によると、80～84 歳代での 8020 の達成率は、平成 17 年度の調査時の 21.1%から 38.3%に増えたが、4 mm 以上の歯周ポケットを有するものの割合は 33.3%から 42.6%に増加している。このことは国民の高齢化に伴い歯周治療を必要とする高齢者が増える傾向にあることを示している。慢性歯周炎に伴う歯の喪失や歯列不正のある口腔を管理するためには、より長い時間と高い技術を伴うブラッシングが必要とされるが、これを日常的に可能にすることは容易ではない。

近年、口腔バイオフィルムが肺炎の発症に関わることが注目されている。El-Sol ら²⁾や Okuda ら³⁾は、高齢の誤嚥性肺炎患者から分離される細菌は、嫌気性の歯周病原細菌が最も多いとしており、Yoneyama ら⁴⁾は、誤嚥性肺炎の予防には口腔ケアが有用であることを報告している。今日の超高齢社会において患者の口腔環境を健康な状態に維持するためには、加齢とともに低下する運動機能を支援するとともに、簡便で効果的な口腔ケアが望まれる。近年、電動歯ブラシは、一般的な口腔清掃用具として広く普及するようになり、そのなかでも、音波歯ブラシは、手用歯ブラシや超音波歯ブラシと比較して、使用方法が簡便であり、プラークの除去効果が高いとされている⁵⁾。また、音波歯ブラシ Sonicare を 4 週間使用することによって有意に Gingival index および Bleeding on Probing (BOP; Ainamo & Bay)が低下したほか⁶⁾、Sonicare Elite と手用歯ブラシを比較した研究では、2 および 4 週の使用で有意にプラークを減

少し、4 週時には GI と出血の部位数に有意な低下がみられた⁷⁾といった歯肉の炎症を改善する効果も報告されている。

本研究で用いた共振型音波歯ブラシ(SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance)DENT EX systema VibratoCare の試作機 (ライオン歯科材, 東京)(Fig 1, Fig 2A)は, 異なる方向に共振する 2 種類の共振点および動作モード間を高速で切り換える機構を特徴としている。模型モデルを用いて共振型音波歯ブラシのプラーク除去効果をみた両角らの研究⁸⁾によると, そのプラーク除去効果は, ブラッシング圧 100 gf では, 高速(36,000 spm), 低速(17,800 spm), 中速(25,300 spm)の順に高く, 振動数に依存しない結果がみられた。これは共振の出現する高速(第 2 共振)および低速(第 1 共振)では, 共振による異なる振動が加わったことが優位に働いたものと考察されている。また, 共振型音波歯ブラシは, 本体の重量が 62 g と軽量で発振音が小さいという特徴を有することから, とくに歯肉に炎症のある歯周病患者への適用が期待される。しかし, 共振型音波歯ブラシは, 製品化されてからの歴史が浅く, 歯周病患者に対する臨床効果や歯周ポケット内の細菌叢に与える影響については十分に検討されてはいない。

そこで, 本研究は, 慢性歯周炎患者の 4 mm 以上の歯周ポケットを有する小臼歯に共振型音波歯ブラシを用い, 歯周病の臨床パラメータおよび細菌検査⁹⁾から歯肉縁下の細菌叢の変化を検討し, 共振型音波歯ブラシのその臨床的有用性を共振型音波歯ブラシと同じスーパーテーパー毛を有する手用歯ブラシ(MB : manual toothbrush)DENT EX systema 44M(ライオン歯科材)(Fig 2B)と比較することにより評

働いた。

材料と方法

1. 被験者

被験者は、明海大学歯学部附属明海大学病院歯周病科に来院した慢性歯周炎患者 15 名(男性 6 名, 女性 9 名, 平均年齢 53.3 ± 12.4 歳)とした。被験者は、過去 6 か月以内に抗菌薬の服用はなく、喫煙者および歯周疾患の治療に影響をおよぼす可能性のある全身疾患の罹患者は除外した。被験者は、実験開始 1~2 週間前にバス法の口腔清掃指導および全顎の歯肉縁上歯石のスクレーリングを受けた。

2. 被験歯

被験歯は、Probing Pocket Depth (PPD)が 4mm 以上ある部位を 1 か所以上有する小白歯 30 歯とし、実験歯の反対側の同名歯が対照歯になるスプリット・マウス・デザイン¹⁰⁾とした。

3. ブラッシングの条件

実験側の選択は、実験前に問診により、被験者の利き腕を調査し、可求的に均等になるように実験側の左右を振り分けた。実験側には SPB, 対照側には MB を用いた。MB のブラッシング方法は、バス法¹¹⁾とし、実験側では、対照側と同様に歯肉溝に 45 度の角度でブラシの毛が歯周ポケットに接するようにし、任意的な振動は与えないものとした。ブラッシングは、1日 3 回行うよう指示した。ブラッシングの手順は、実験側を SPB で 3 分間ブラッシングした後、対照側を MB で 3 分間ブラッシングするようにした。全ての被験者がブラッシングの際に歯磨剤を用いていたため、実験期間中も、ブラッ

シングの際には歯磨剤を使用することとした。本研究では、殺菌成分を含まない歯磨剤、Check-Up standard (ライオン歯科材)を用い、実験期間中はその他の清掃用具および歯磨剤の使用を禁止した。

4. 臨床的診査項目

1) Plaque Index (PQI; Silness & L e)¹²⁾は以下の方法で比較を行った。

①頬側, 舌側, 近心および遠心の 4 歯面

②頬舌側面(以下 BL)および近遠心側面 (以下 MD)

③歯間鼓形空隙の垂直的距離(隣在歯とのコンタクトから歯肉辺縁までの距離)が 3 mm 以上と 3 mm 未満の 2 群に分けた際の MD(Fig 3)。

2) Probing Pocket Depth (PPD)は, Williams プローブ(Hu-Friedy, Chicago, IL, USA)を用いて, 6 点法で診査を行った。

3) Bleeding on Probing (BOP; Ainamo & Bay)¹³⁾は, PPD と同様の 6 点法で診査を行った。

4) 歯肉溝滲出液量(GCF : Gingival Crevicular Fluids volume)の採取には, ペーパーストリップス法¹⁴⁾を用いた。最初にスリーウェーシリンジで被験歯の周囲を軽く乾燥し, ロールワッテで防湿した。歯肉縁上プラークを可求的に除去した後, Periopaper (Olafow, Smittown, NY, USA)を歯肉辺縁に 30 秒間静置し, 採取したサンプルを Periotoron 8000 (Olafow)を用いて測定した。測定は 3 回行い, その平均値を用いた。

5. 細菌検査

細菌検査の検体の採取は、被験部位の歯肉縁上プラークを滅菌した綿球で可及的に除去した後、スリーウェーシリンジで乾燥、ロールワッテで防湿した後、対象歯のポケットの最深部にペーパーポイント(ジョンソンアブソーベントポイント#30, ジョンソン・エンド・ジョンソン, 東京)の先端が到達するように挿入し, 10 秒間静置した. 採取したペーパーポイントは, クライオチューブ(T-2870-4, ビーエム機器, 東京)に入れた. この操作を 2 回繰り返す, チューブの蓋をパラフィルムで固定した後, 検体用ポリスピッツに入れて冷凍保存した. 検体は, 歯周病関連菌検査(ビー・エム・エル, 東京)を用いて以下の項目の細菌検査を行なった.

- 1) 総細菌数
- 2) 歯周病原細菌数: 総細菌数および歯周病原細菌は, Lyons ら⁹⁾の方法を用いて, 以下の 4 菌種を調べた.

① *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.a*)

② *Porphyromonas gingivalis* (*P.g*)

③ *Prevotella intermedia* (*P.i*)

④ *Tannerella forsythensis* (*T.f*)

リアルタイムPCR法で用いた細菌の16sRNA遺伝子のプライマーをTable 1に示す.

総細菌数および歯周病原細菌数は, BLと2w, およびBLと4w間の改善率をそれぞれ計算した.

6. 実験スケジュール:

被験者には, 実験開始前1~2週の間, 実験の説明, 被験者として研究に参加

するか否かの同意の確認, 歯肉縁下歯石の除去, 機械的歯冠研磨, バス法の指導、および口腔内写真の撮影を行った。歯周病の臨床パラメータの診査①～④および細菌検査は, 実験開始時(BL: Base Line), 2 週時(2w), および 4 週時(4w) に行った。

7. 統計学的分析

統計学的分析には, SPSS Statistics version 20.0(日本 IBM, 東京)を用いた。P₀I, P₀I(頬舌側面), P₀I(近遠心側面), P₀I(歯間鼓形空隙の垂直的距離 ≥ 3 mm), P₀I(歯間鼓形空隙の垂直的距離 < 3 mm), および, BOP の経時的および群間の比較には, χ^2 検定による分析を用い, PPD, GCF, 総細菌数および, 歯周病原細菌数の群間の比較には, Wilcoxon signed rank test を用いた。有意差の判定は $p < 0.05$ をもって行った。

8. 人権の保護および法令等の遵守への対応

本研究の実験計画は, 明海大学歯学部倫理委員会の審査により承認 (承認番号:A0917)を得た。

結 果

本研究では、期間中に離脱した被験者はおらず、全ての被験者が4週間の実験スケジュールを終了した。また、実験期間中に歯ブラシによる擦過傷などの偶発症は認められなかった。

本研究に用いた評価項目である P₀I、BOP、GCF、PPD、および最深 PPD の BL 時の比較では、SPB 群および MB 群の間に有意差はなかった (Table 2)。

4 歯面をみた P₀I の経時的変化は、MB 群では、BL と 4w の間に有意差があったのに対して、SPB 群では、BL と 2w、2w と 4w、および BL と 4w の間に有意差がみられ、経時的に低下する傾向がより強くあった。ブラッシング法の比較では、4w において、SPB 群は、MB 群に対して有意な P₀I の低下がみられた (Fig 4)。

次に、頬舌側と近遠心側に分けて、P₀I の経時的変化の比較を行った。頬舌側の P₀I は、MB 群および SPB 群はいずれも、BL と 2w および BL と 4w 間で有意に低下したが、ブラッシング法の比較では、SPB 群と MB 群との間に有意差はみられなかった (Fig 5)。

近遠心側の P₀I の経時的変化は、MB 群では、BL と 4w 間に有意差があったのに対して、SPB 群では、BL と 2w、2w と 4w、および BL と 4w 間に有意差がみられ、経時的に低下する傾向がより強かった。ブラッシング法の比較では、2w および 4w において、SPB 群は、MB 群に対して有意な低下がみられた (Fig 6)。

次に、歯間鼓形空隙の垂直的距離を 3 mm 以上、および 3 mm 未満の二群に分け

て、近遠心面の P₀I を比較した。15 名の被験者のうち、歯間鼓形空隙の垂直的距離が 3 mm 以上は 8 名、3 mm 未満は 7 名であった。

歯間鼓形空隙の垂直的距離が 3 mm 以上の被験歯の近遠心面の P₀I の経時的比較では、MB 群では、有意差がみられなかったのに対して、SPB 群では、BL と 2w、および BL と 4w の間に有意差がみられ、経時的に低下する傾向がより強かった。ブラッシング法の比較では、4w において、SPB 群は、MB 群に対して有意な低下がみられた(Fig 7)。

歯間鼓形空隙の垂直的距離が 3 mm 未満の被験歯の近遠心面の P₀I の経時的比較では、MB 群では、有意差がみられなかったのに対して、SPB 群では、BL と 2w、および BL と 4w の間に有意差がみられ、経時的に低下する傾向がより強かった。ブラッシング法の比較では、4w において、SPB 群は、MB 群に対して有意な低下がみられた(Fig 8)。

次に PPD の経時的変化の比較では、両群ともに有意な低下はみられなかった。ブラッシング法の比較でも SPB 群と MB 群の間に有意差はみられなかった(Fig 9)。

次に BOP の経時的変化の比較では、MB 群では、BL と 2w および BL と 4w の間に有意差がみられたのに対して、SPB 群では、BL と 2w、2w と 4w、および BL と 4w の間に有意差がみられた。ブラッシング法の比較では有意差はみられなかった(Fig 10)。

次に、GCF の経時的変化の比較では、両群ともに低下する傾向がみられた。ブラッシング法の比較では 4 週時の比較において、SPB 群は、MB 群に対して有意な低

下がみられた(Fig 11).

次に、総細菌数および歯周病原細菌数の平均値の比較によると、両群ともに、経時的に低下する傾向がみられたが、ブラッシング法の比較では有意差はみられなかった(Table 3).

総細菌数の分布の比較では、両群ともに中央値が経時的に低下する傾向があったが、ブラッシング法の比較では有意差はみられなかった(Fig 12).

総細菌数の経時的改善率の比較では、両群ともに BL から 2w よりも BL から 4w の方の改善率が高かった。ブラッシング法の比較では、SPB 群は MB 群よりも改善率が高い傾向がみられたが、有意差はみられなかった(Fig 13).

4 種類の歯周病原細菌の総数による比較では、総細菌数と同様に経時的に低下する傾向がみられたが、ブラッシング法の比較では、有意差はみられなかった (Fig 14).

4 種類の歯周病原細菌の総数の経時的改善率の比較では、両群ともに BL から 2w よりも BL から 4w の方の改善率が高い傾向がみられた。ブラッシング法の比較では、SPB 群は MB 群よりも改善率が高い傾向がみられたが、有意差はみられなかった(Fig 15).

考 察

1. 共振型音波歯ブラシについて

本研究は、共振型音波歯ブラシの慢性歯周病患者に対する効果について臨床評価および細菌学的検討を行ったものである。電動歯ブラシは、ブラシの振幅を一定の幅にコントロールできるため、手用歯ブラシのような特別な指導や訓練を必要とせず、歯面に当てるだけで効果的なプラークの除去ができると言われている¹⁵⁾。電動歯ブラシは、当初は、肢体不自由な患者のブラッシングを支援する目的で用いられることが多かったが^{16,17)}、現在では、音波歯ブラシを中心に広く一般に普及している。音波歯ブラシは、従来の手用歯ブラシと比較してプラークの除去や歯肉炎の改善に有効とされており^{18,19)}、電動歯ブラシの中でも高いシェアを有している。音波歯ブラシと超音波歯ブラシのプラーク除去率を比較した深谷らの研究⁵⁾によると2分20秒間ブラッシングした際のプラーク除去率は、超音波歯ブラシが $32.6 \pm 15.3\%$ であったのに対して音波歯ブラシは $62.5 \pm 12.6\%$ で、音波歯ブラシのプラーク除去率の方が、有意に高かった。また、音波歯ブラシとカップ型回転電動歯ブラシによる臨床効果を3編の論文の被験者数268名について比較したGrenderら²⁰⁾によるシステマティックレビューでは、ブラッシング時間を2分間に設定すると、カップ型回転電動歯ブラシのプラーク除去作用は、音波歯ブラシ対して12~33%有意に高かった。一方、Klukowskaら²¹⁾は、62名にカップ型回転電動歯ブラシ、65名に音波歯ブラシを用い、4週および12週後のプラーク除去効果と歯肉炎指数を比較したところ、両群ともに実験開始時と比

較して4週, および12週ともすべての項目で有意に改善が見られ, カップ型回転ブラシと音波歯ブラシの比較では, 4週時の Modified Gingival Index²²⁾の比較においてカップ型回転ブラシの方が有意に低下したが, 総合評価では, 2種類の歯ブラシは同様に有用であったと結論付けている.

また, 音波歯ブラシによる歯面の摩耗を観察した Wiegand ら²³⁾の研究では, 手用歯ブラシ1種類, 超音波歯ブラシ1種類, 音波歯ブラシ4種類, およびカップ型回転歯ブラシ1種類の脱灰した歯面に対する摩耗の比較では, 6種類すべての電動歯ブラシは手用歯ブラシと比較して脱灰歯面を摩耗することが確認されたが, 6種類の電動歯ブラシの間には有意差はなかったとしている. 2種類の音波歯ブラシにスタンダードとミニの2種類のヘッドを用いて, プラーク除去率を比較した笠井らの研究²⁴⁾では, Sonicare Elite の刷掃時間の比較では, 全ての群で4分間の方が2分間よりも有意に高いプラーク除去率を示した. また, ブラシ別にみると4分間でのプラーク除去率の比較において, Sonicare FlexCare のミニブラシが Sonicare Elite スタンダードに対して高いプラーク除去効果を示した. このように, 音波歯ブラシの臨床効果を示す多くの報告があるが, 現在, 市場で販売されている音波歯ブラシには, 製品, ブラシヘッドの形状およびその使用方法に関して統一した基準はなく, 異なる製品コンセプトによる新製品が定期的の開発されている.

2. 実験のデザインについて

共振型音波歯ブラシには, いくつかの振動パターンがプログラムされているが, 本

研究では、共振を確実に得られる第 2 共振モード(200～250 Hz)にあたるポイントスイングモードを用いた。ポイントスイングモードは、近遠心的な振動に加えて定期的に頬舌方向の振動に切り替わることを特徴としている。対照側に用いた手用歯ブラシは、実験側と共通のスーパーテーパー毛である DENT EX Systema 44M とした。実験は、PPD が 4 mm 以上ある部位が 1 か所以上ある小臼歯を実験歯として、同顎の同名歯を対照歯とするスプリット・マウス・デザイン¹⁰⁾とした。実験側の選択については、実験前に被験者の利き腕を調査して可及的に均等になるようにした。Howkins ら²⁵⁾は、手用歯ブラシの場合、全ての歯を磨くためには、5.1 分が必要であったとしている。このことから本研究でのブラッシング時間は、左右 3 分間ずつ計 6 分間に設定した。また、全ての被験者がブラッシングの際に歯磨剤を用いていたため、実験期間中は、ブラッシングの際には歯磨剤を使用するように指導した。本研究で用いた歯磨剤 Check-Up standard, は、フッ化ナトリウム、ソルビット、プロピレングリコール、およびキシリトールなどを含むが、殺菌成分を含まないため、歯磨剤の含有する薬剤による影響は限定的なものであると考えた。本研究では、共振型音波歯ブラシを 4 週間の使用した際に、歯肉の擦過傷および知覚過敏症のような副作用は観察されなかった。Johnson ら²⁶⁾による音波歯ブラシを 6 か月間使用した際の安全性の評価では、製品に起因する軟組織の異常は観察されなかったとしている。

3. プラーク除去作用について

本研究の結果、共振型音波歯ブラシは、手用歯ブラシと比較して PDI に関してはブ

プラーク除去作用が高い傾向が見られた。特に近遠心面については、2週および4週で有意に低下した($p < 0.05$) (Fig 6)。Hopeら²⁷⁾は *in vitro* の実験によって、音波歯ブラシ(Sonicare Plus)は、実験的に形成したバイオフィルムの73.7%を除去し、その際、毛先から2.65 mm離れた部位まで到達したとしている。そして、この結果は、音波歯ブラシの振動によるキャビテーション効果²⁸⁾が毛先の接触していない部位におよんだものと考察している。一方、音波歯ブラシ(Sensonic)でブラッシングした後の歯肉縁下1~3 mmの細菌叢を電子顕微鏡で観察したWilliamsらの研究²⁹⁾によると、ポケット内からは、スピロヘータ、短桿菌、中等度の長さの桿菌および球菌が形態を損なうことなく観察され、対照群に用いた同じ形状のヘッドを持つ電動歯ブラシ(Plaque Remover 3000)と同様の所見であったとしている。超音波には、密度の高い水やジェルなどを媒介することによって力を伝播する特性があるが³⁰⁾、音波ではその特性は弱い。Hopeら²⁷⁾の実験は、水で満たされた水槽中で行われたために、振動が伝達された可能性があるが、実際の歯周ポケットは狭窄した複雑な形態であり、唾液やプラークなどの媒介も一様ではない。キャビテーション効果による流体力学的な洗浄作用は、28 kHzから100 kHz程度の振動周波数でも発生すると言われていた²⁸⁾、このような現象が歯周ポケット内でも生じ、プラークの除去に効果的に作用しているか否かは現在のところ不明である。

4. 隣接面でのプラーク除去作用について

本研究でのBL時の全歯面のPQIの平均値は、実験側で1.35、対照側で1.32で

あったのに対して、隣接面の PDI の平均値は、実験側で 1.73, 対照群で 1.70 であった(Table 1). BL 時のプラークの付着は隣接面に多く見られる傾向があった. PDI は経時的に減少が認められたが、実験側と対照側の比較では、実験側は、全歯面の比較で 4 週時に有意に改善を示した. これに対して、隣接面での比較では、実験側の 2 週および 4 週時に有意な改善を示した($p<0.05$) (Fig 2). また、歯間鼓形空隙の垂直的な距離から 3 mm 以上および 3 mm 未満の 2 群に分けた比較では、両群ともに実験群のプラーク除去効果の方が有意に高いという結果が見られた.

5. 歯周組織の炎症に対する作用について

次に、BOP の比較では、両群ともに BOP の経時的な改善が観察されたが、両群間に有意差はなかった(Fig 10). これは、全ての被験者がバス法でのブラッシング経験があり、バス法でのブラッシングに習熟していたことと、また、対照群に用いた手用歯ブラシは、カットエンド毛の歯ブラシと比較して、プラーク除去効果が高いとされる高度テーパード毛³¹⁾であった影響もあるものと考えられる.

本研究では、GCF 量は 4 週において、実験側で対照側に対して有意に減少した($p<0.05$) (Fig 11). GCF 量は、両群ともに BL から 2 週でほぼ半減した. 2 週から 4 週では、手用歯ブラシでは差が無かった($0.23 \mu\ell \rightarrow 0.23 \mu\ell$)のに対して、共振型音波歯ブラシでは($0.20 \mu\ell \rightarrow 0.14 \mu\ell$)に改善した. BOP の比較(Fig 10)では両群間には有意差はみられなかったことから、GCF 量の減少は、1.6MHz の超音波歯ブラシを用いた大塚ら³²⁾の研究や、260 Hz の音波歯ブラシを用いた O'Beirne ら³³⁾によっても

報告されている。本研究での GCF の改善は、歯肉辺縁の歯周ポケットの比較的浅い部位での炎症の軽減を反映するものであると考えられる。音波歯ブラシの物理刺激による効果としては、ほかにも、柿木³⁴⁾は、要介護高齢者の左右の舌側縁と頬粘膜に対して、音波歯ブラシ(Sonicare)による刺激を 10 秒ずつ、週に 3 回、4 週間適用した結果、口腔乾燥症に有意な改善がみられたことを報告している。また、薬物性の口腔乾燥症患者 61 名に対して、音波歯ブラシおよび手用歯ブラシによる刺激を与えた Papas ら³⁵⁾の研究においても、音波歯ブラシを用いた群では、唾液の分泌の有意な増加がみられている。

6. 歯周ポケット内細菌に与える影響について

本研究ではリアルタイム PCR 法⁹⁾による細菌検査を用いて目的とする口腔細菌を定量的に測定した。Socransky らによって示された 40 種類の歯周病原細菌の集合体とその役割を明らかにしたバイオフィルムのモデルシステム^{36, 37)}によると、とくにレッドコンプレックスに属する *P.g.*, *T.f.* および *Toreponema.denticola* は、BOP 陽性の部位から検出されることが多く、歯周炎の活動期のマーカーとして有用であるとされている。また、*A.a* は、侵襲性歯周炎で高頻度に検出されることが知られているが³⁸⁾、本研究では、実験群の 15 部位中の 2 部位、対照群の 15 部位中の 1 部位に検出されたのみで、*A.a* の検出とポケット深さや BOP 陽性との間の関連性は明らかではなかった。

7. 高齢社会における音波歯ブラシの役割

2012 年度のデータブック国際労働比較³⁹⁾によると日本の 65 歳以上の割合は 22.7%で、2025 年度には 29.3%に達すると予測されており、世界一の水準である言われている。近年、デンタルバイオフィルムの存在が、糖尿病、呼吸器障害、循環器障害、早期低体重児出産など全身疾患の発症とその増悪に関与しているとするペリオドンタルメディスン⁴⁰⁾という考えが定着している。高齢者や有病者においては、オーラルケアが全身の健康に与える影響はより大きくなるものと考えられる。近年、高齢の肺炎患者から分離される細菌は、嫌気性の歯周病原細菌が最も多いとされ^{2,3)}、誤嚥性肺炎の多くがバイオフィルムを形成する歯周病原細菌が、唾液中に混入して誤嚥され下気道に流入することにより発症すると考えられている。また、慢性閉塞性肺疾患や人工呼吸器関連性肺炎などの呼吸器感染症も歯周病や口腔の不衛生から発症するとされている⁴¹⁾。2012 年に発行された日本内科学会の医療・介護関連肺炎 (NHCAP: Nursing and healthcare associated pneumonia)ガイドラインでは、肺炎の発症を未然に防ぐための口腔ケアの重要性が明記されている⁴²⁾。Yoneyama ら⁴⁾は、日本の特別養護老人ホーム 11 施設に入居している 417 名を無作為に抽出し、口腔ケアの有無により 2 群に分けて比較した結果、肺炎、発熱および肺炎による死亡の件数は口腔ケアを受けていた群で有意に少なかったとしている。一般病棟の入院患者を対象に、細菌の検出と発熱の有無を調査した堀らの研究⁴³⁾によると、経口摂取患者では、口腔清掃 1 日 3 回以上の群は、発熱と黄色ブドウ球菌の検出される割合は、口腔清掃 1 日 2 回以下の群と比較して有意に低く、非経口摂取患者では、歯ブラシを使用している群では、歯ブラシを使用していない群と比較して発熱の発症が有意

に低かったとしている。

日本の医療費は人口の高齢化に伴い年ごとに上昇する傾向にある⁴⁴⁾。小河原ら⁴⁵⁾は、歯科・顎・口腔外科の入院患者口腔悪性腫瘍の245名を口腔ケアの有無により2群に分けて比較検討した結果、口腔ケア施行群では、非口腔ケア施行群と比較して、手術療法、放射線治療、および化学療法施行群の全てで在院日数が短縮し、術後の抗菌薬の投与期間も50%以下に短縮したことから、口腔ケアの定着により医療費を抑制させる効果が期待できると述べている。また、中等度の歯周炎患者32名を対象にして電動歯ブラシの費用対効果をみたKilloyら⁴⁶⁾の研究では、電動歯ブラシを18か月使用することによって、平均で535ドルの歯科の治療費を抑えることができたとしている。

音波歯ブラシは、歯周炎患者、その中でも高齢者や有病者に対して有用であると考えられる。今後は、高齢者の使用を前提とした音波歯ブラシの製品開発や、より高齢の被験者を対象とした舌および唾液中の細菌を評価する研究も必要であると考えられる。

結 論

共振型音波歯ブラシは、特に近遠心面のプラーク除去効果が高く、GCFを有意に低下させたことから、中等度以上の慢性歯周炎患者のプラークコントロールに有用であることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究に御理解また御指導を賜りました本学口腔生物再生医工学講座歯周病学分野教授 申 基喆先生に深甚なる謝意を表します。さらに、御指導、御校閲を賜りました形態機能成育学講座口腔小児科学分野教授 渡部 茂先生、口腔生物再生医工学講座微生物学分野教授 大森喜弘先生、ならびに形態機能成育学講座歯科矯正学分野教授 須田直人先生に深甚なる謝意を表します。最後に、本研究の遂行に際し、御指導および御校閲を賜った口腔生物再生医工学講座歯周病学分野助教 大塚秀春先生を始め、御協力頂きました歯周病学分野の先生方に心より感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 解説 平成 23 年歯科疾患実態調査報告 日本口腔衛生学会編 口腔保健協会, 東京, pp27-32, 2013
- 2) El-Solh AA, Pietrantonio C, Bhat A, Okada M, Zambon J, Aquilina A, Berbari E: Colonization of dental plaques: a reservoir of respiratory pathogens for hospital-acquired pneumonia in institutionalized elders. *Chest* **126**, 1575-1582, 2004
- 3) Okuda K, Kimizuka R, Abe S, Kato T, Ishihara K: Involvement of periodontopathic anaerobes in aspiration pneumonia. *J Periodontol* **76**, 2154-2160, 2005
- 4) Yoneyama T, Yoshida M, Ohru T, Mukaiyama H, Okamoto H, Hoshihara K, Ihara S, Yanagisawa S, Ariumi S, Morita T, Mizuno Y, Ohsawa T, Akagawa Y, Hashimoto K, Sasaki H; Oral Care Working Group: Oral care reduces pneumonia in older patients in nursing homes, *J Am Geriatr Soc* **50**, 430-433, 2002
- 5) 深谷千恵, 穂坂康朗, 中川種昭: 音波歯ブラシと超音波歯ブラシのプラーク除去効果. *日歯保存誌* **48**, 481-487, 2005
- 6) Barlow AP, Zhou X, Roberts J, Colgan P: Effect of a novel integrated power toothbrush and toothpaste oral hygiene system on gingivitis. *Compend*

Contin Educ Dent **10 Suppl 1**, 15-20, 2004

- 7) Moritis K, Jenkins W, Hefti A, Schmitt P, McGrady M: A randomized, parallel design study to evaluate the effects of a Sonicare and a manual toothbrush on plaque and gingivitis. *J Clin Dent* **19**, 64-68, 2008
- 8) 両角祐子, 菅原淳道, 岩堀敏之, 宮崎晶子, 原田志保, 佐藤治美, 小倉英夫, 佐藤 聡: 共振を応用した音波歯ブラシのプラーク除去効果. *日歯周誌* **51**, 97-103, 2008
- 9) Lyons SR, Griffen AL, Leys EJ: Quantitative real-time PCR for *Porphyromonas gingivalis* and total bacteria, *J Clin Microbiol* **38**, 2362-2365, 2000
- 10) Antczak-Bouckoms AA, Tulloch JF, Berkey CS: Split-mouth and cross-over designs in dental research, *J Clin Periodontol* **17**, 446-453, 1990
- 11) Bass CC: An effective method of personal oral hygiene. Part II, *J la State Med Soc* **106**, 100, 1954
- 12) Silness J and Løe H: Periodontal disease in pregnancy II. Correction between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* **22**, 121-135, 1964
- 13) Ainamo J and Bay I: Problems and proposals for gingivitis and plaque. *Int Dent J* **25**, 533-551, 1975
- 14) Suppipat W and Suppipat N: Evaluation of an electronic device for gingival

- fluid quantitation. *J periodontol* **48**, 388–394, 1977
- 15) Van der Weijden GA, Timmerman MF, Danser MM, Van der Velden U: Relationship between the plaque removal efficacy of a manual toothbrush and brushing force. *J Clin Periodontol* **25**, 413–416, 1998
- 16) Bratel J, Berggren U, Hirsch JM: Electric or manual toothbrush? A comparison of the effects on the oral health of mentally handicapped adults, *Clin Prev Dent* **10**, 23–26, 1988
- 17) Bratel J and Berggren U: Long-term oral effects of manual or electric toothbrushes used by mentally handicapped adults. *Clin Prev Dent* **13**, 5–7, 1991
- 18) Robinson PG, Damien Walmsley A, Heanue M, Deacon S, Deery C, Glenny AM, Worthington H, Shaw W: Quality of Trials in a Systematic Review of Powered Toothbrushes; Suggestions for Future Clinical Trials, *J Periodontol* **77**, 1944–1953, 2006
- 19) Sicilia A, Arregui I, Gallego M, Cabezas B, Cuesta S: A systematic review of powered vs manual toothbrushes in periodontal cause-related therapy; *J Clin Periodontol* **29** Suppl , 39–54, 2002
- 20) Grender J, Williams K, Walters P, Klukowska M, Reick H: Plaque removal efficacy of oscillating-rotating power toothbrushes: review of six comparative clinical trials, *Am J Dent* **26**, 68–74, 2013

- 21) Klukowska M, Grender JM, Conde E, Goyal CR: A 12-week clinical comparison of an oscillating-rotating power brush versus a marketed sonic brush with self-adjusting technology in reducing plaque and gingivitis, *J Clin Dent* **24**, 55-61, 2013
- 22) Lobene RR, Weatherford T, Ross NM, Lamm RA, Menaker L: A modified gingival index for use in clinical trials, *Clin Prev Dent* **8**, 3-6, 1986
- 23) Wiegand A, Lemmrich F, Attin T: Influence of rotating-oscillating, sonic and ultrasonic action of power toothbrushes on abrasion of sound and eroded dentine, *J Periodont Res* **41**, 221-227, 2006
- 24) 笠井俊輔, 深谷千絵, 穂坂康朗, 両角祐子, 佐藤 聡, 中川種昭: 音波歯ブラシ(Sonicare® Elite・Sonicare® FlexCare)のプラーク除去効果 —ヘッドの大きさと刷掃時間について—, *日歯周誌* **53**, 235-242, 2011
- 25) Hawkins BF, Kohout FJ, Lainsou PA, Heckert A: Duration of toothbrushing for effective plaque control; *Quintessence International* **17**, 361-365, 1986
- 26) Johnson BD and McInnes C: Clinical evaluation of the efficacy and safety of a new sonic toothbrush, *J Periodontol* **65**, 692-697.1994
- 27) Hope CK and Wilson M: Effects of dynamic fluid activity from an electric toothbrush on *In vitro* oral biofilms, *J Clin Periodontol* **30**, 624-629, 2003
- 28) 谷腰欣司: 超音波洗浄 In 超音波とその使い方-超音波センサ・超音波モータ, 日刊工業新聞社, 東京, pp150-152, 1994

- 29) Williams KB, Cobb CM, Taylor HJ, Brown AR, Bray KK: Effect of sonic and mechanical toothbrushes on subgingival microbial flora: a comparative *in vivo* scanning electron microscopy study of 8 subjects, Quintessence Int **32**, 147-154, 2001
- 30) 谷腰欣司: 超音波の概要 In 超音波とその使い方-超音波センサ・超音波モータ, 日刊工業新聞社, 東京, pp1-40, 1994
- 31) 藤川謙次, 佐藤秀一, 吉沼直人, 音琴淳一, 太田典子, 田中憲二, 辻 康雄, 村井正大: 高度テーパード毛歯ブラシのプラーク除去に関する研究, 日歯周誌 **36** , 206-214, 1994
- 32) 大塚秀春, 市村 光, 石井麻紀子, 松田敦至, 三上晃一郎, 谷田部一大, 大橋敏雄, 林 丈一朗, 辰巳順一, 申 基喆: 超音波歯ブラシの慢性歯周炎患者に対する臨床効果, 日歯保存誌 **52**, 199-207, 2009
- 33) O'Beirne G, Johnson RH, Persson GR, Spektor MD: Efficacy of a sonic toothbrush on inflammation and probing depth in adult periodontitis; J Periodontol **67**, 900-908, 1996
- 34) 柿木保明: 高齢者における口腔乾燥症, 九州歯会誌 **60**, 43-50, 2006
- 35) Papas A, Singh M, Harrington D, Rodríguez S, Ortblad K, de Jager M, Nunn M: Stimulation of salivary flow with a powered toothbrush in a xerostomic population, Spec Care Dentist **26**, 241-246, 2006
- 36) Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RI Jr : Microbial

- complexes in subgingival plaque ; J Clin Periodontol **25**, 134-144, 1998
- 37) Socransky SS, Haffajee AD: Dental biofilms: difficult therapeutic targets, Periodontol 2000 **28**, 12-55, 2002
- 38) Zambon JJ, Christersson LA, Slots J: Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. Prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families, J Periodontol **54**, 707-711, 1983
- 39) データブック国際労働比較(2012年版)第1刷 独立行政法人 労働政策研究・研修機構編, 東京, 59, 2012
- 40) Page RC: The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm, Ann Periodontol **3**, 108-120,1998
- 41) Mori H, Hirasawa H, Oda S, Shiga H, Matsuda K, Nakamura M : Oral care reduces incidence of ventilator-associated pneumonia in ICU populations, Intensive Care Med **32**, 230-236, 2006
- 42) 今村圭文 , 河野 茂 : 医療・介護関連肺炎(NHCAP)ガイドライン 日本内科学会雑誌 **101**, 787-794, 2012
- 43) 堀 良子, 高野尚子, 葭原明弘, 宮崎秀夫: 一般病棟入院患者における口腔清掃と発熱との関連, 日本環境感染学会誌 **25**, 85-90, 2010
- 44) 結果の概要 In 平成 23 年度 国民医療費の概況, 厚生労働省大臣官房統計情報部人口動態・保健社会統計課保健統計室編, 東京, pp1-6, 2013
- 45) 小河原克訓, 丹沢秀樹: 口腔ケアによる医療費高騰の抑制, 日本歯科医師

会雑誌 **64**, 165-172, 2011.

- 46) Killoy WJ, love JW, love JD, Tira DE: Clinical and cost effectiveness of the counter-rotational brush in private practice, **16**, 599-605, 1993

Figure legends

Fig 1 Structure of the sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance(Prototype of DENT EX systema VibratoCare).

Fig 2 Appearance of the toothbrushes (A: Prototype of DENT EX systema VibratoCare, B: DENT EX system 44M).

Fig 3 Classification by vertical distance of interdental embrasure.

Upper line indicates the height of the gingival margin. Lower line indicates the height of the contact between the test tooth and adjacent teeth. Vertical distance interdental embrasure is the distance between the two lines. Experimental group were divided into two groups of less than 3mm ($3\text{mm} >$) or more and 3mm ($\geq 3\text{mm}$).

Fig 4 Changes in time course of P \emptyset I

P \emptyset I at 4 weeks of SPB was reduced significantly compared with the MB. ($p < 0.05$).

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush.

Fig 5 Changes in time course of P \emptyset I(Bucco-lingual)

There was no significant difference in comparison with the SPB and MB.

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush.

Fig 6 Changes in time course of P \emptyset I(Mesial-distal)

P \emptyset I at 2 weeks and 4 weeks of SPB was reduced significantly compared with the MB ($p < 0.05$).

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush.

Fig 7 Changes in time course of P \emptyset I(Mesial-distal) Vertical distance of interdental embrasure ≥ 3 mm

P \emptyset I at 4 weeks of SPB was reduced significantly compared with the MB. ($p < 0.05$)

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush. This group included 8 subjects.

Fig 8 Changes in time course of P \emptyset I(Mesial-distal) Vertical distance of interdental embrasure < 3 mm

POI at 4 weeks of SPB was reduced significantly compared with the MB.
($p < 0.05$)

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush. This group included 7 subjects.

Fig 9 Changes in time course of PPD

There was no significant difference in comparison with the SPB and MB.

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush.

Fig 10 Changes in time course of BOP

There was no significant difference in comparison with the SPB and MB

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush.

Fig 11 Changes in time course of GCF

GCF at 4 weeks of SPB was reduced significantly compared with the MB
($p < 0.05$)

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush.

Fig 12 Changes in time course of the total copy numbers of microorganisms

There was no significant difference in comparison with the SPB and MB

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush.

Fig 13: Improvement rate of the total copy numbers of microorganisms

There was no significant difference in comparison with the SPB and MB.

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush.

Fig 14: Changes in time course of the copy numbers of periodontopathic bacteria (*A.a* + *P.i* + *P.g* + *T.f*)

There was no significant difference in comparison with the SPB and MB.

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush.

Fig 15: Improvement rate of the copy numbers of periodontopathic bacteria (*A.a* + *P.i* + *P.g* + *T.f*)

There was no significant difference in comparison with the SPB and MB.

SPB: sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance. MB: manual toothbrush.

Table 1 PCR primers used in this study

TaqMan Probe of PCR primer	Sequence (5'→3')
<i>P.g</i> -P	CGTTGAAACTGCCGGGCTTGACTTC
<i>P.g</i> -F	GGGCTCAACGTTCAGCCT
<i>P.g</i> -R	CACGAATTCCGGCCTGCC
<i>P.i</i> -P	TGTGGACACACATCGGGTATTAGGCCG
<i>P.i</i> -F	CGTATCCAATCTTCCCTCCA
<i>P.i</i> -R	CGATAGAAITCTTTGGTCCACGT
<i>A.a</i> -P	TGCCAGCGTTAATCGGAATAACTGGG
<i>A.a</i> -F	ATAGCATGCCCACTTAAAGGTGTA
<i>A.a</i> -R	GATTTCACACCCTCACTTAAAGGTCC
<i>T.f</i> -P	AGATGAAGAAGTAGGCGGAATGCCGTGTA
<i>T.f</i> -F	TGAAAGTTTGTGCGCTTAACGATAAAA
<i>T.f</i> -R	TCGTGCTTCACTGTCAAGTTATACCT

P.g : *Porphyromonas gingivalis*, *P.i* : *Prevotella intermedia*, *A.a*: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *T.f*: *Tannerella forsythensis*, P: TaqMan Probe

All probes were labeled at the 5' end with FAM and at the 3' end with TAMRA.

F : Forward PCR primer, R : Reverse PCR primer

Table 2 Clinical parameters on Baseline (average ± SD)

	P ℓ I (Bucco -lingual)	P ℓ I (Mesial -distal)	BOP (%)	GCF (μ l)	PPD (Deepest-site) (mm)	PPD (mm)	
SPB	1.35 ± 0.33	0.97 ± 0.40	1.73 ± 0.42	60.00 ± 25.04	0.46 ± 0.25	4.60 ± 0.63	3.42 ± 0.55
MB	1.32 ± 0.41	0.93 ± 0.59	1.70 ± 0.37	61.11 ± 24.12	0.44 ± 0.31	4.60 ± 0.51	3.38 ± 0.51

SPB : sonic-powered toothbrush applying mechanical resonance

MB : manual toothbrush

P ℓ I : Plaque Index

BOP : Bleeding on Probing

GCF : amount of Gingival Crevicular Fluids

PPD : Probing Pocket Depth

(Not Significant)

Table 3 Changes in time course of the bacterial examination (average)

	TM (Log)	PPB (Log)	<i>A.o</i> (Log)	<i>P.i</i> (Log)	<i>P.g</i> (Log)	<i>T.f</i> (Log)
BL	5.49	4.29	2.01	2.28	4.14	3.76
	<hr/>					
SPB	5.24	4.02	1.00	2.29	3.78	3.52
	<hr/>					
4w	5.23	3.99	1.00	2.37	3.71	3.54
	<hr/>					
BL	5.17	4.14	1.03	3.17	3.79	3.72
	<hr/>					
MB	5.13	3.69	1.00	2.27	3.38	3.38
	<hr/>					
4w	4.94	3.84	1.05	2.08	3.55	3.40
	<hr/>					

TM: the total copy numbers of microorganisms

(Not Significant)

PPB: the copy numbers of periodontopathic bacteria(*A.actinomyetemcomitans*,

P.gingivalis, *P.intermedia*, and *T.forsythensis*)

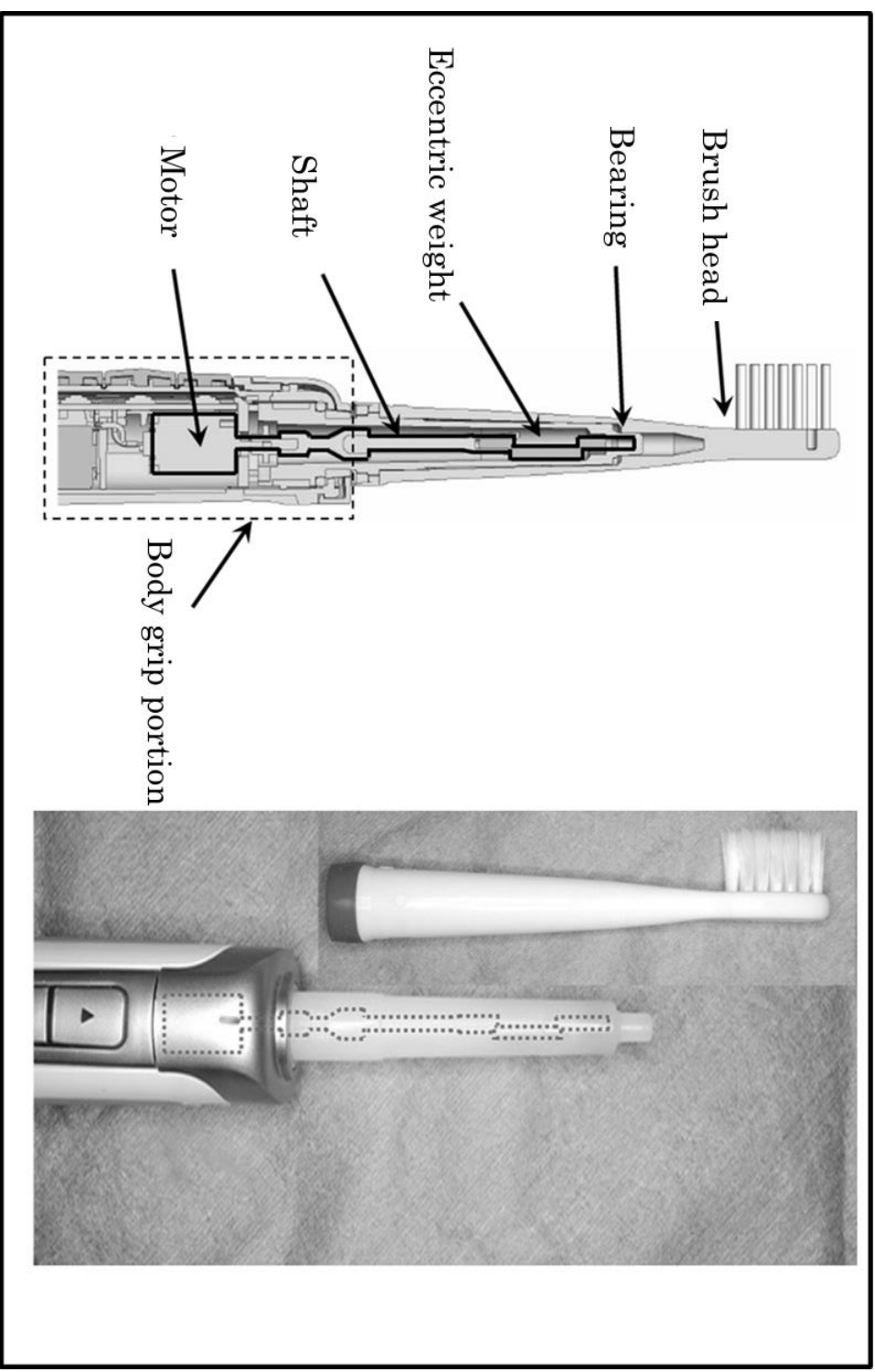


Fig 1

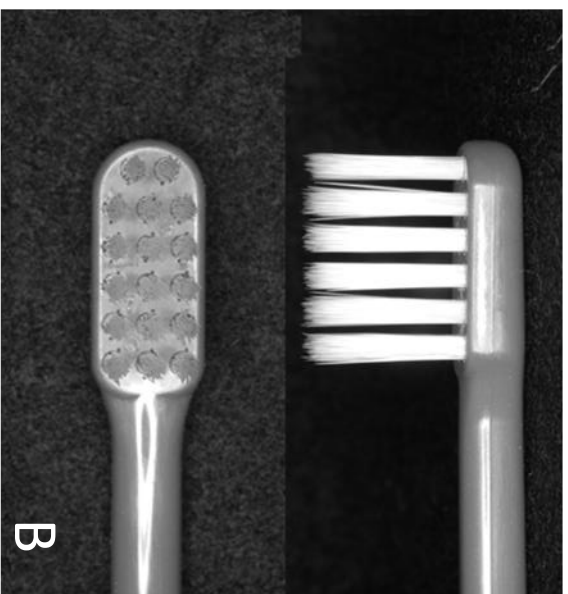


Fig 2

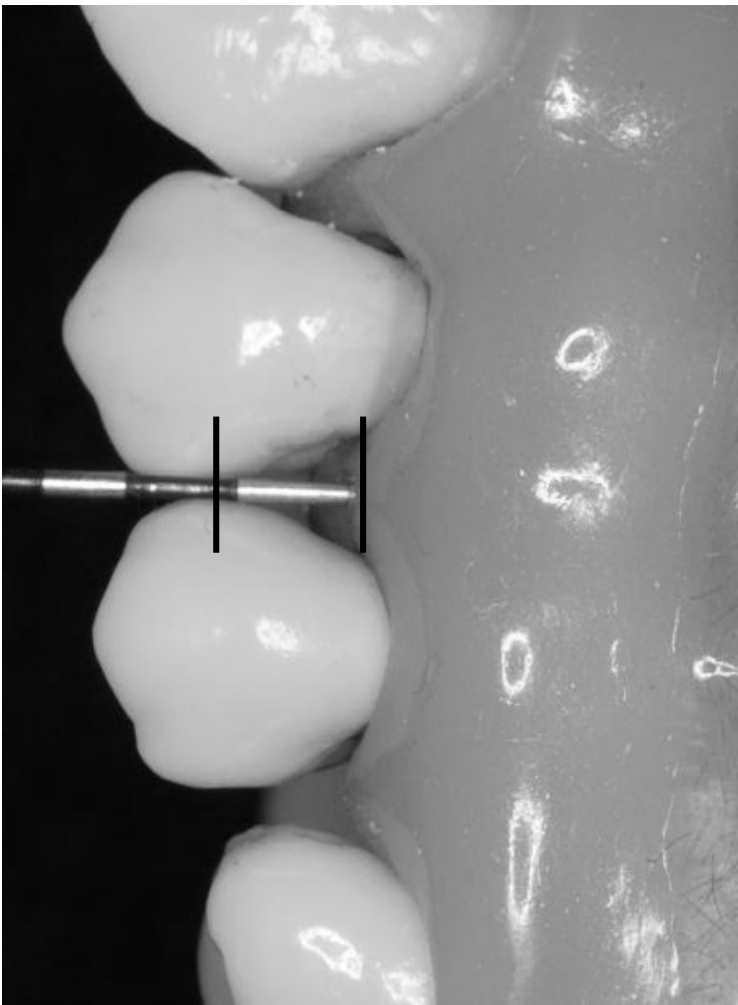


Fig 3

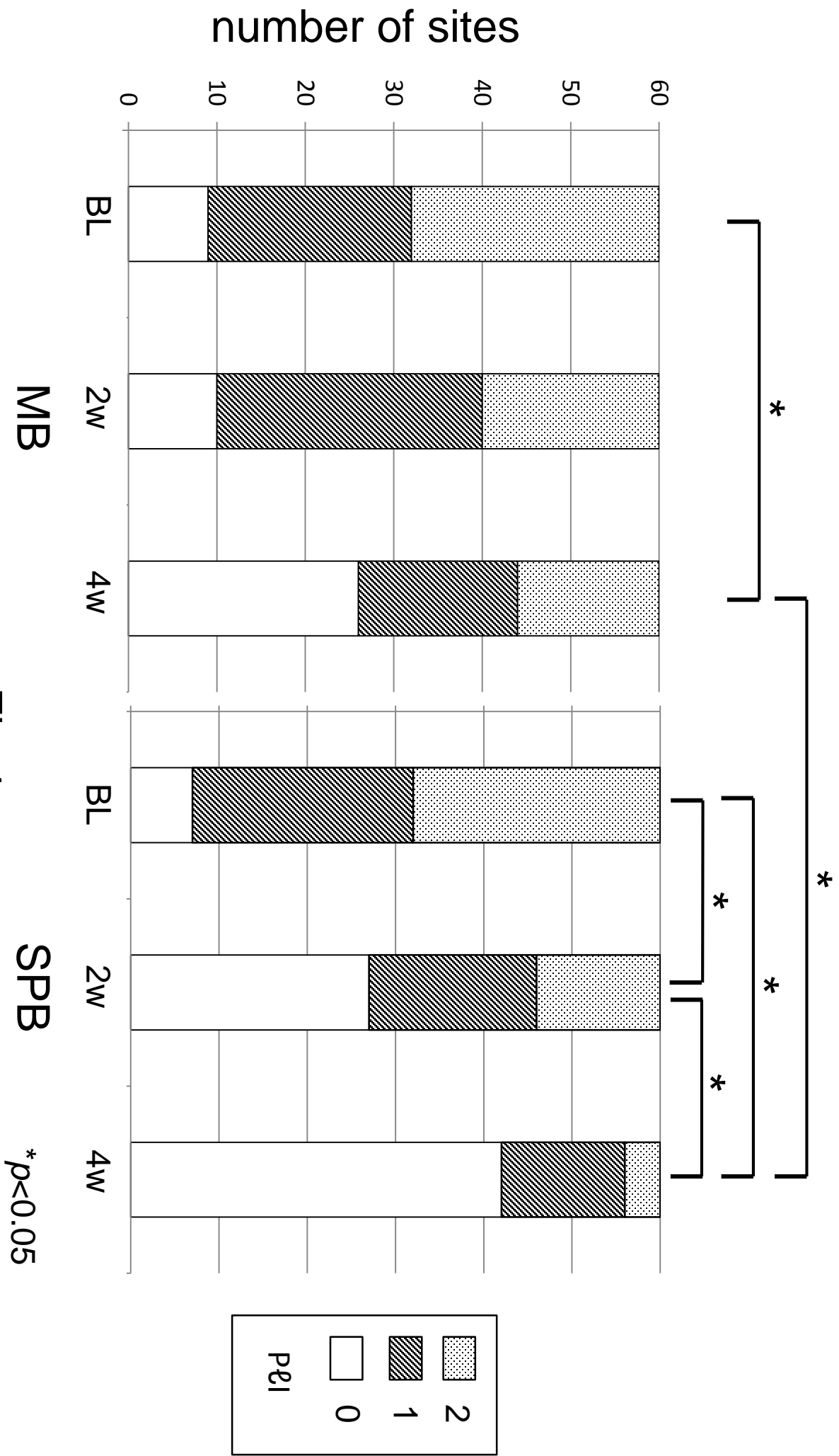


Fig 4

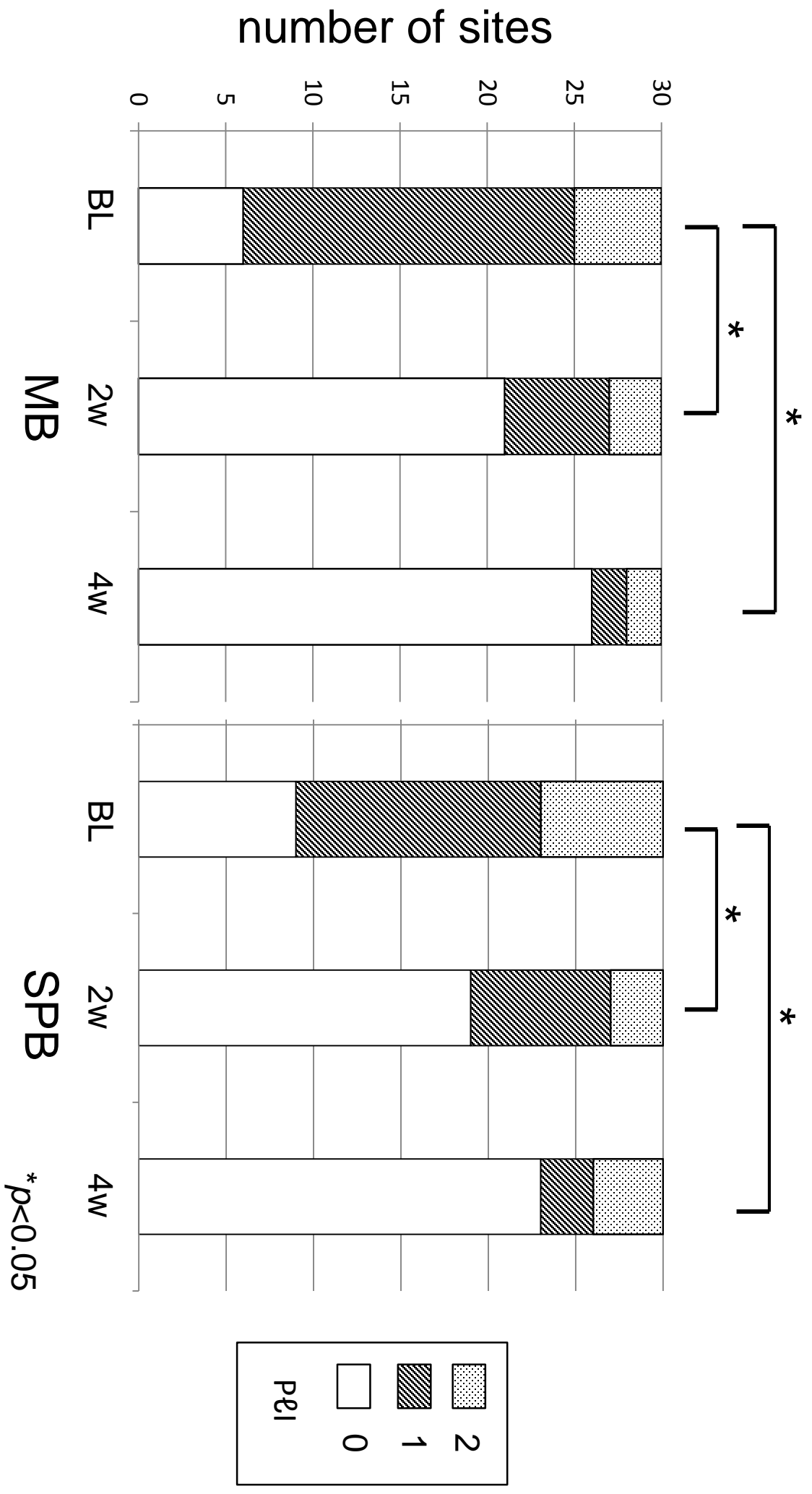


Fig 5

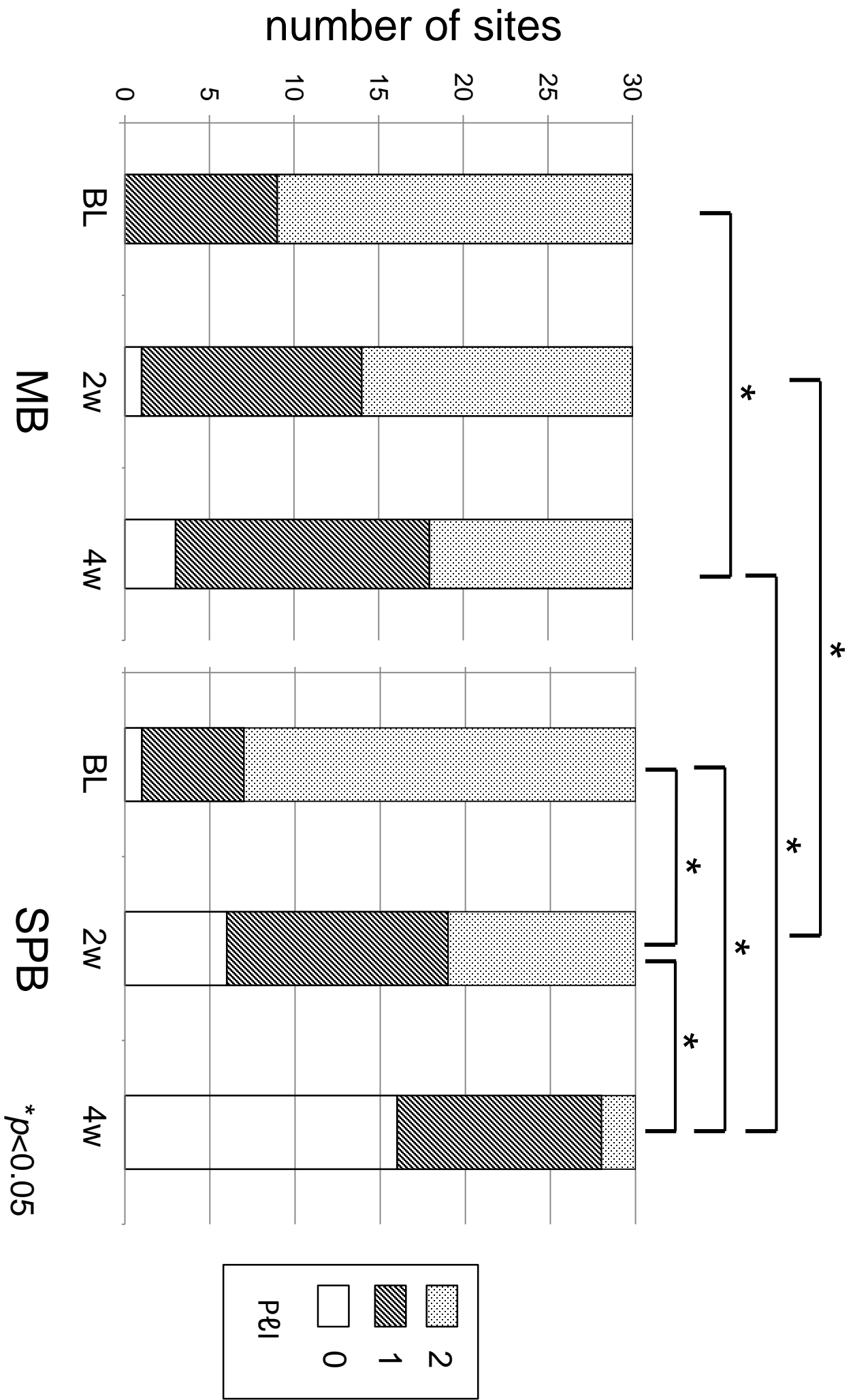


Fig 6

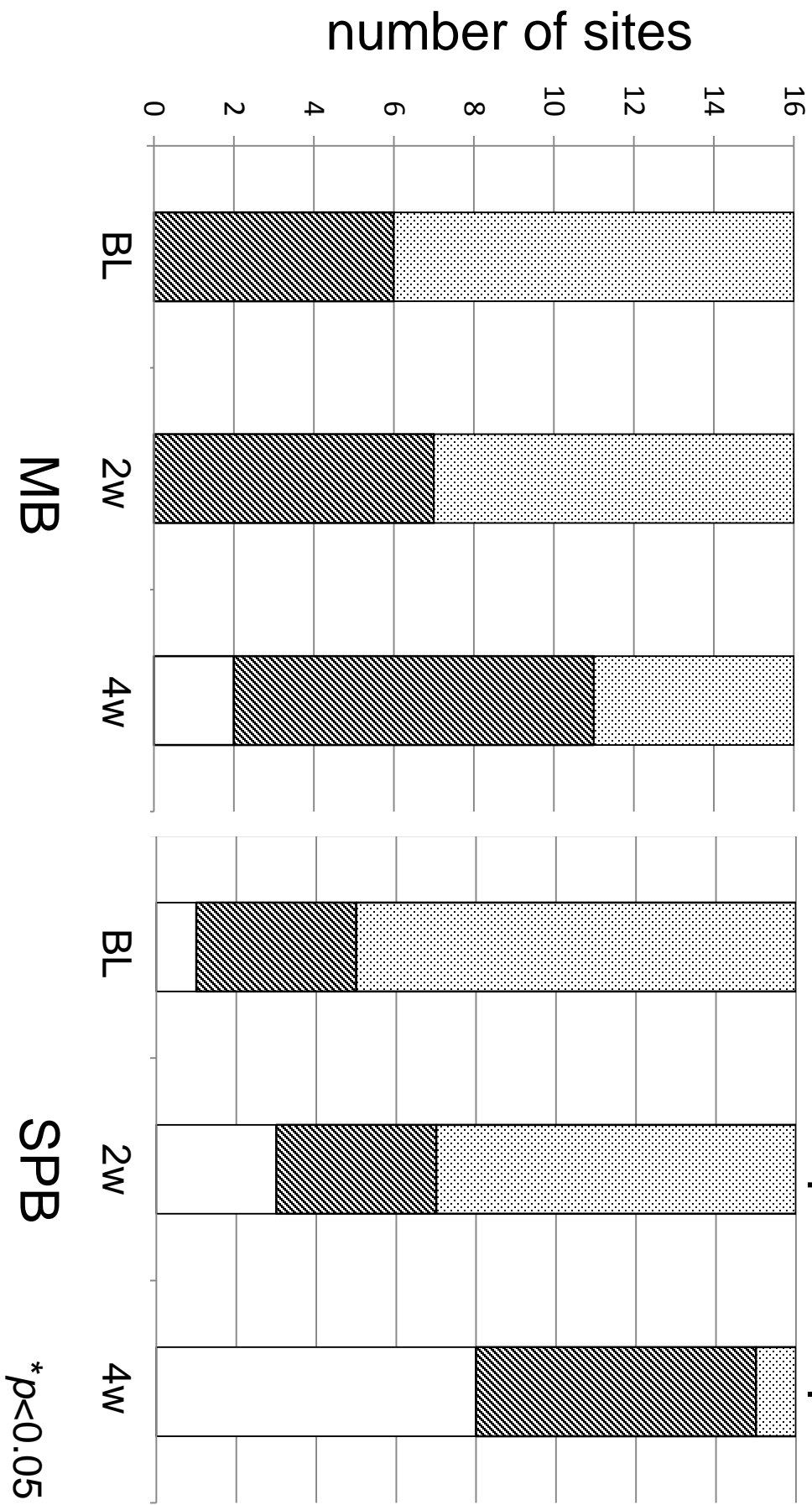
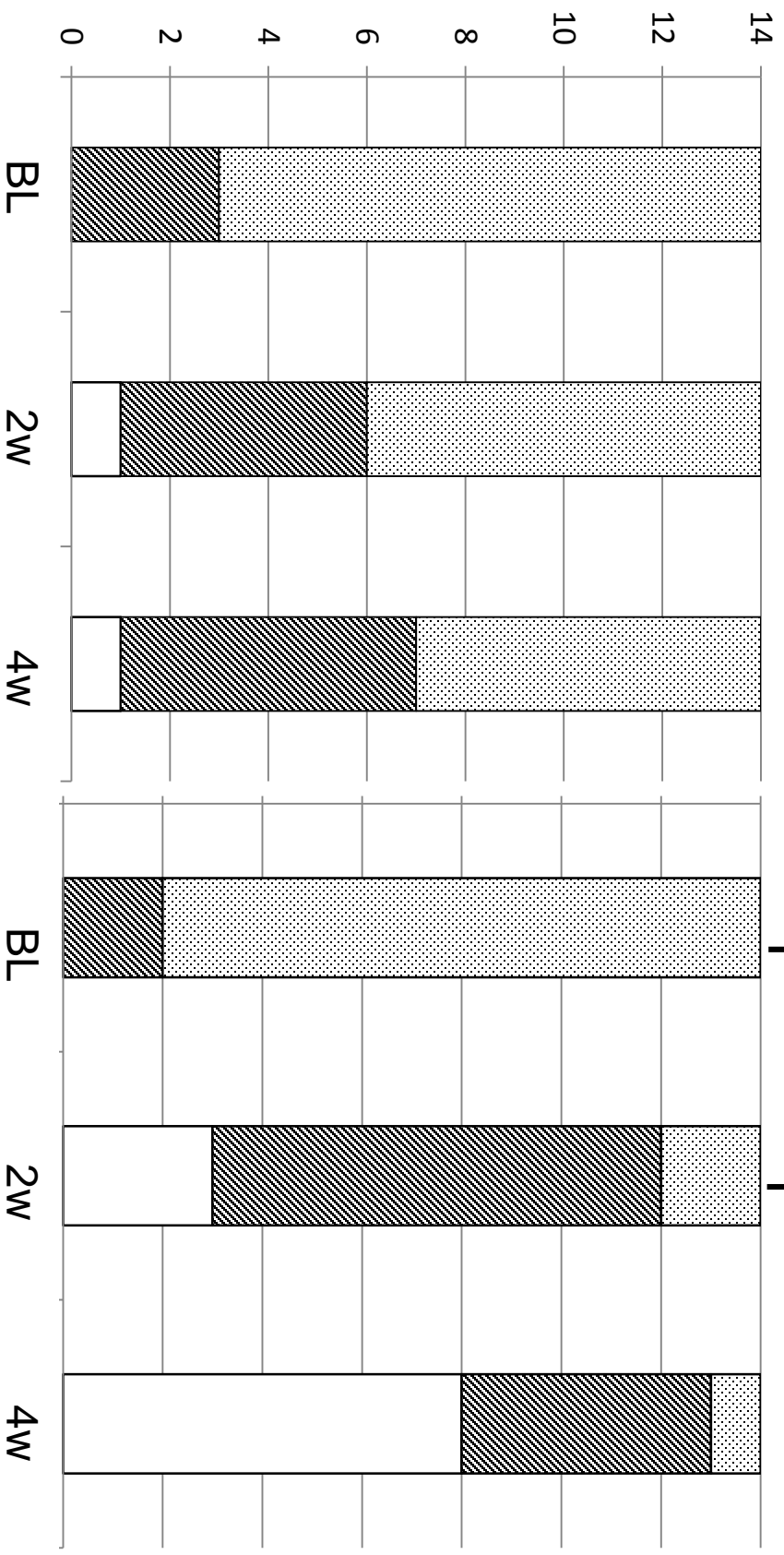


Fig 7

number of sites



MB

SPB

BL

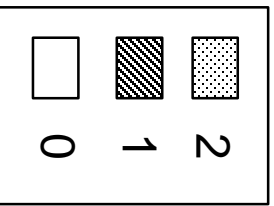
2w

4w

BL

2w

4w



* $p < 0.05$

Fig 8

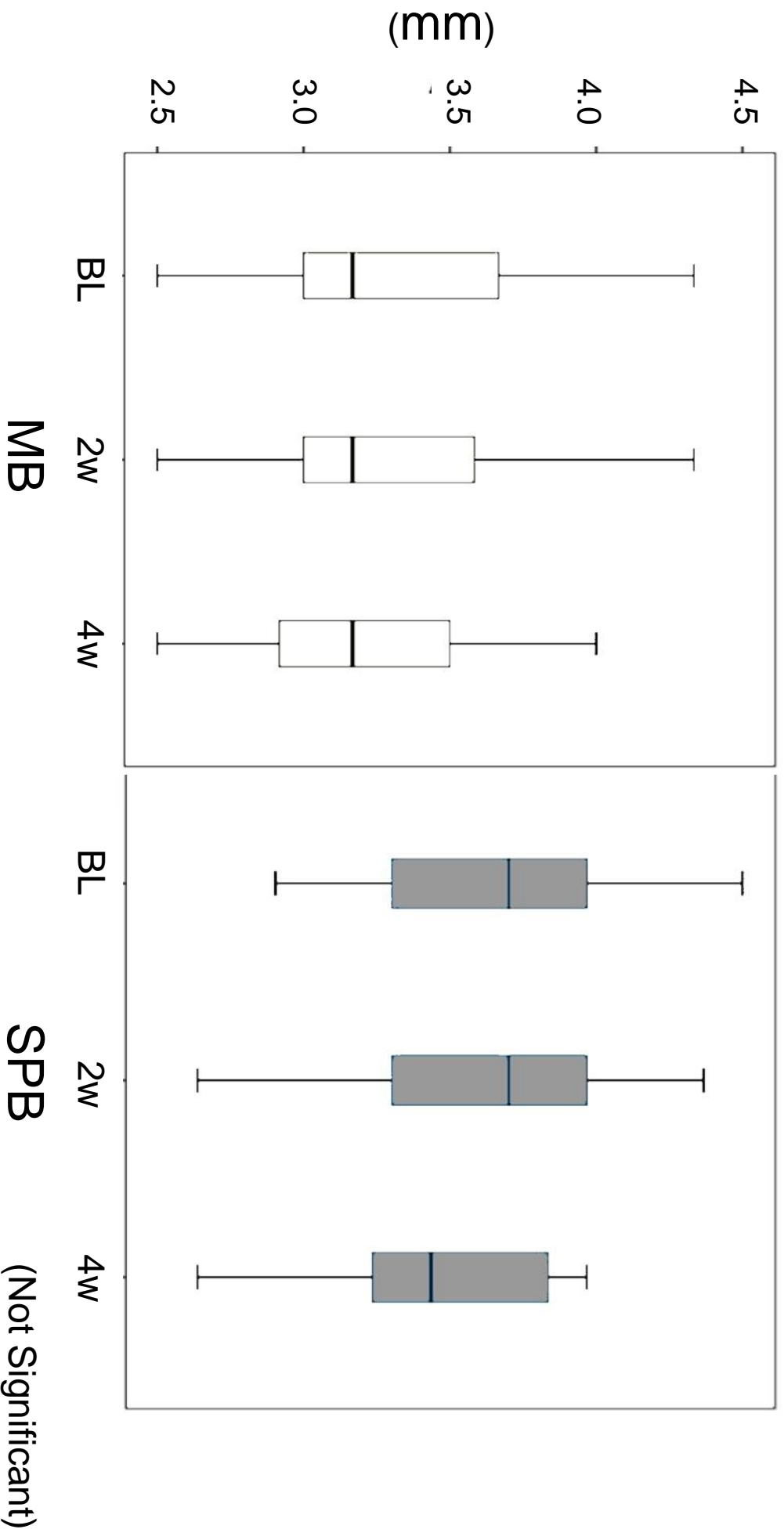


Fig 9

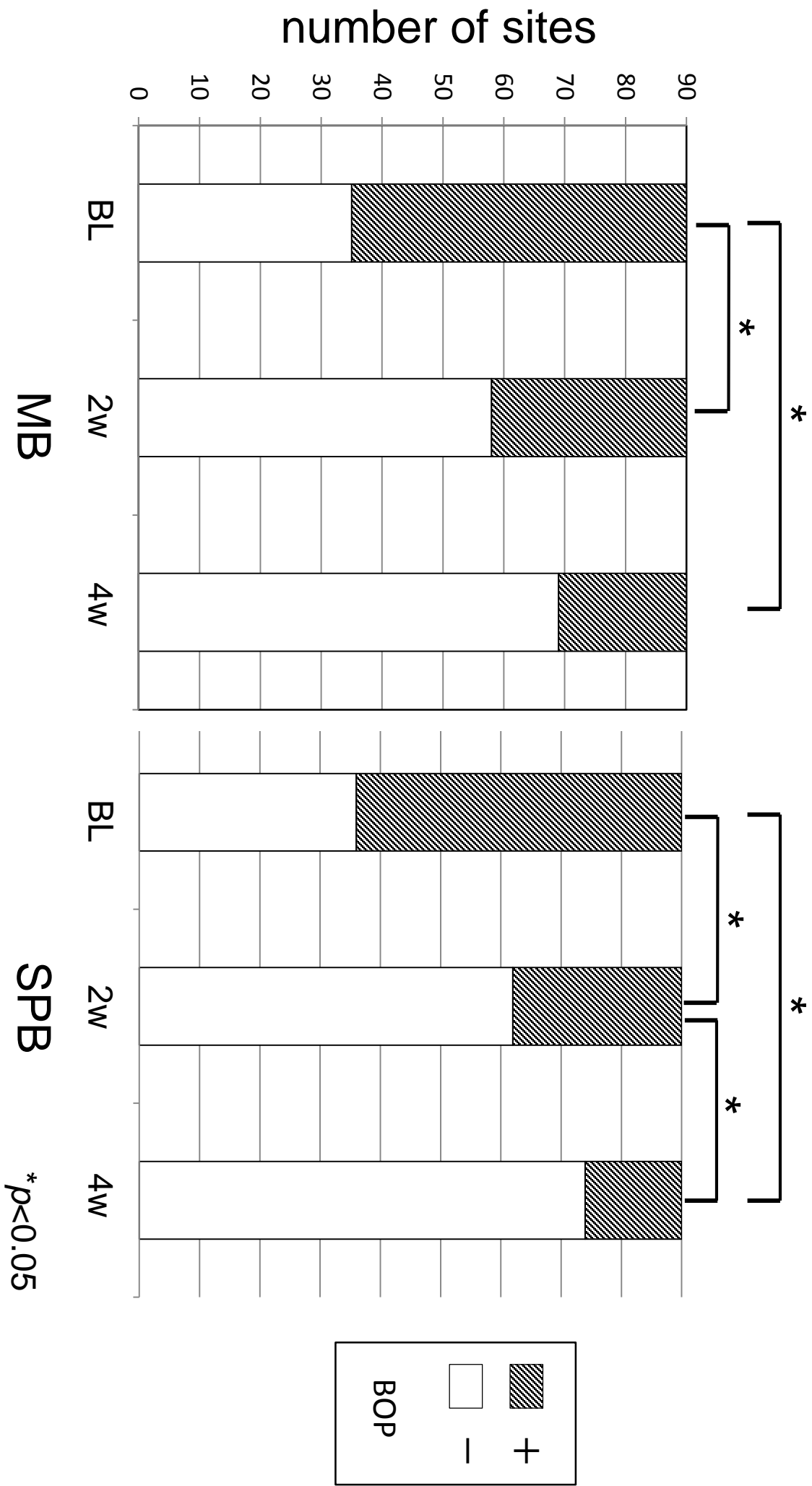


Fig 10

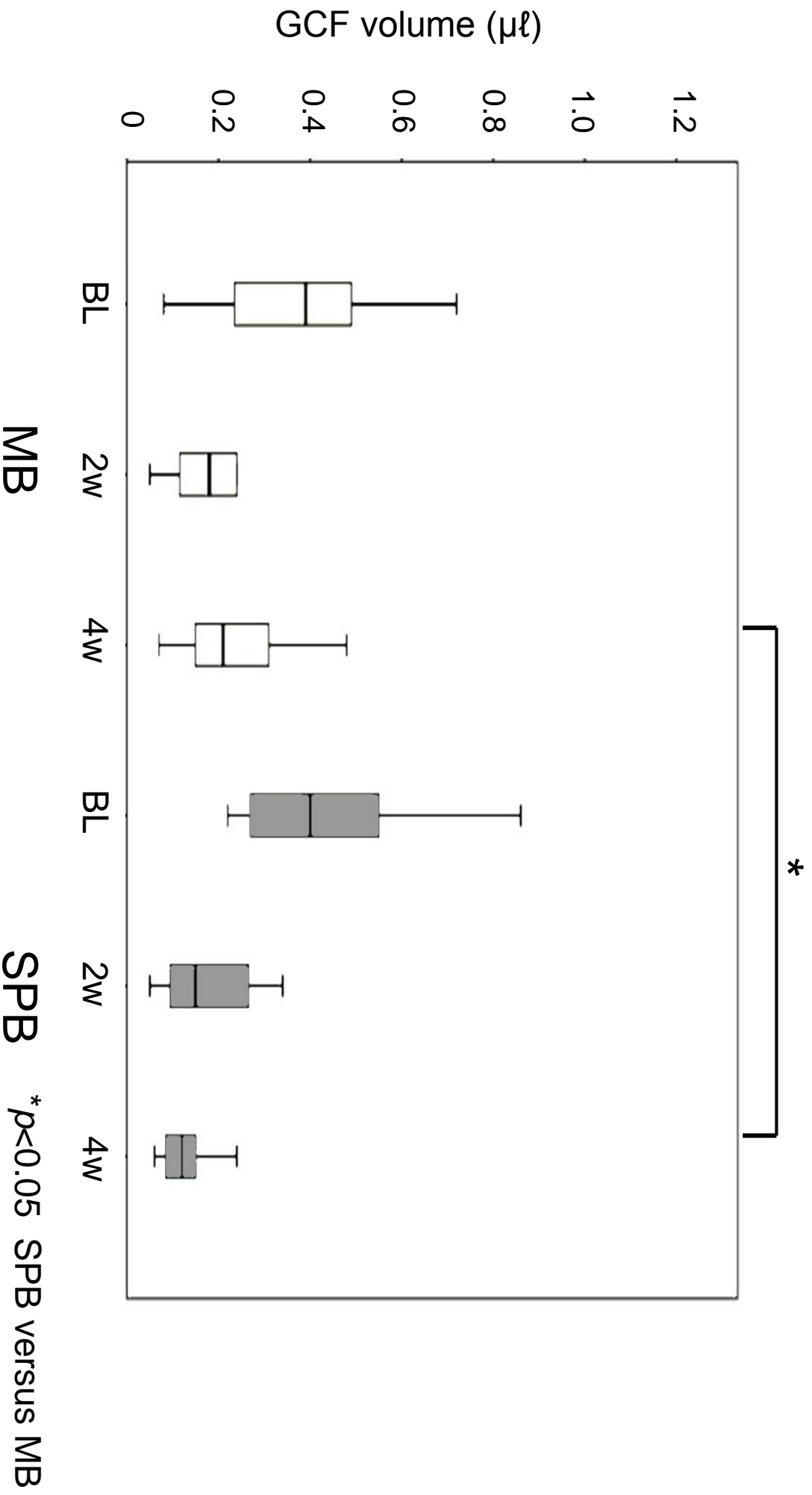


Fig 11

total copy number of microorganisms (Log)

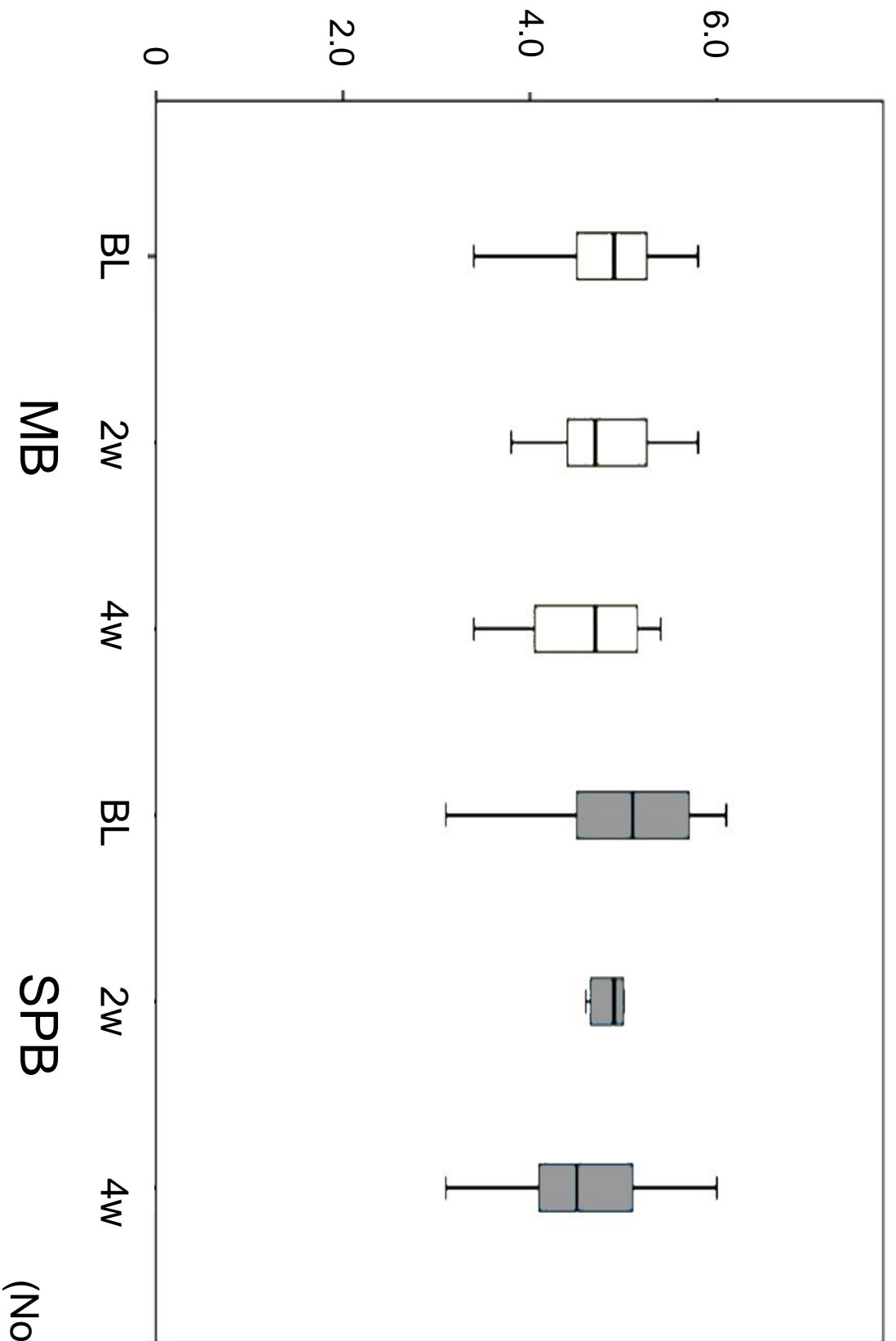


Fig 12

(Not Significant)

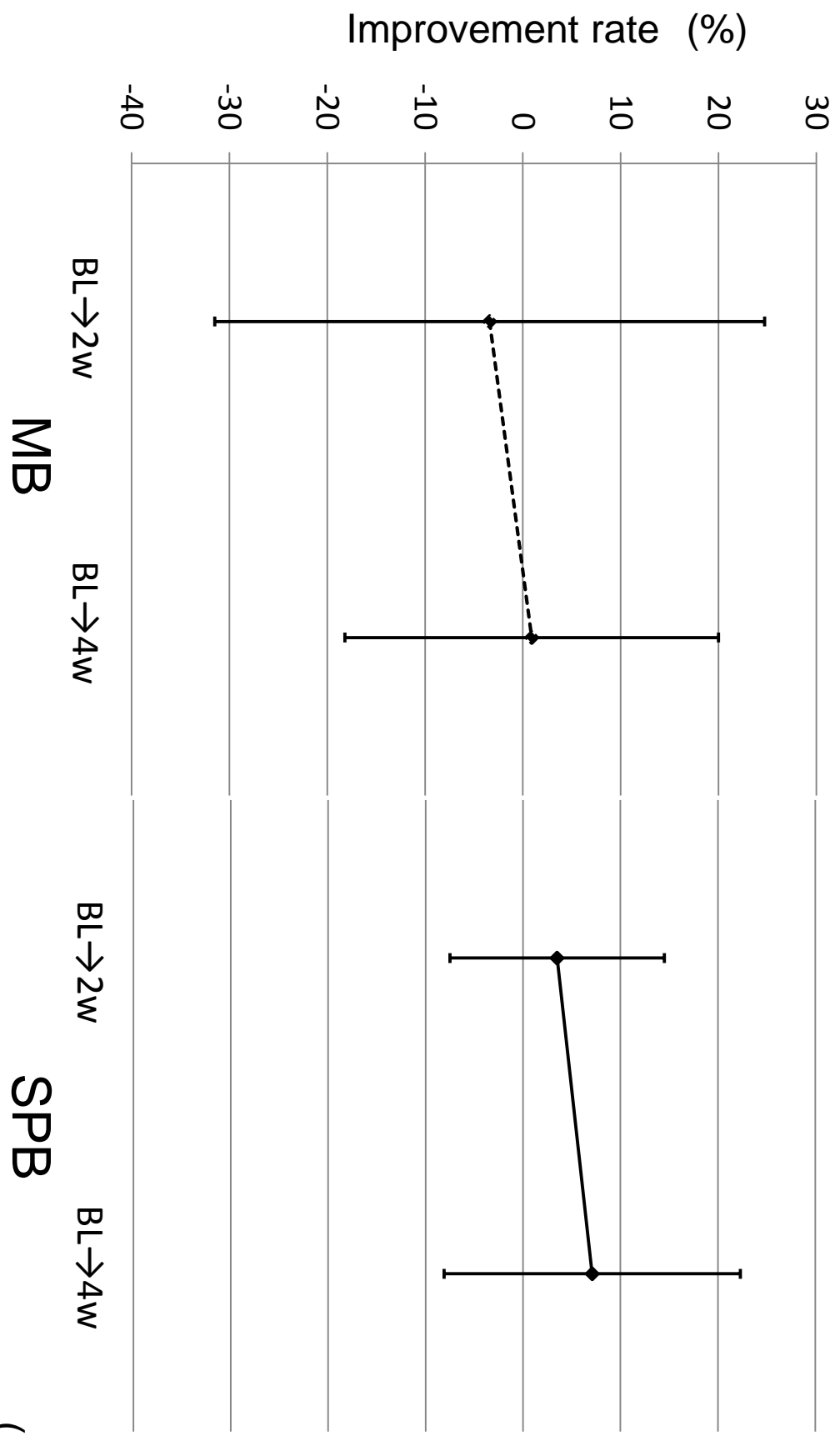


Fig 13

(Not Significant)

total copy number of
periodontopathic bacteria(Log)

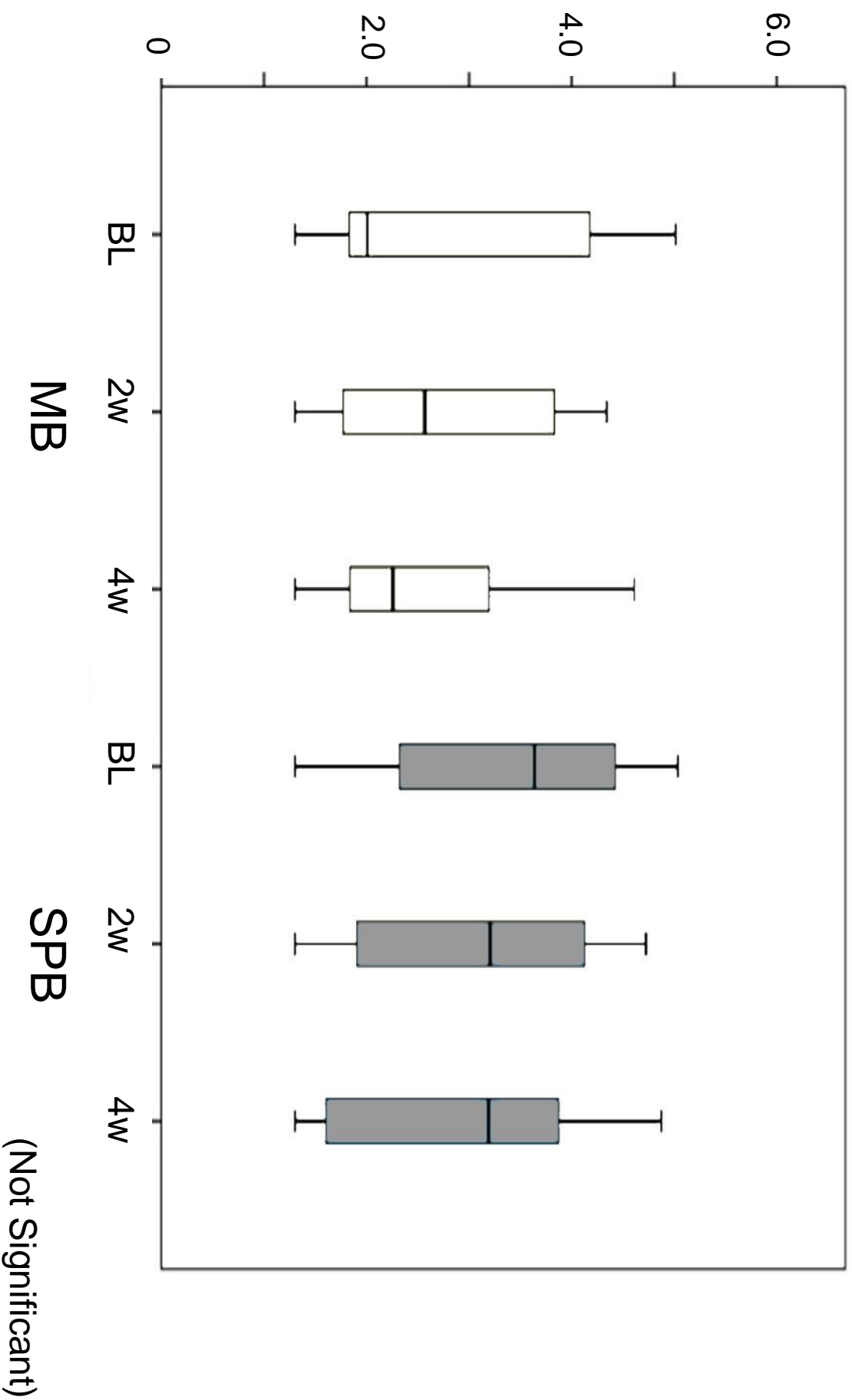


Fig 14

(Not Significant)

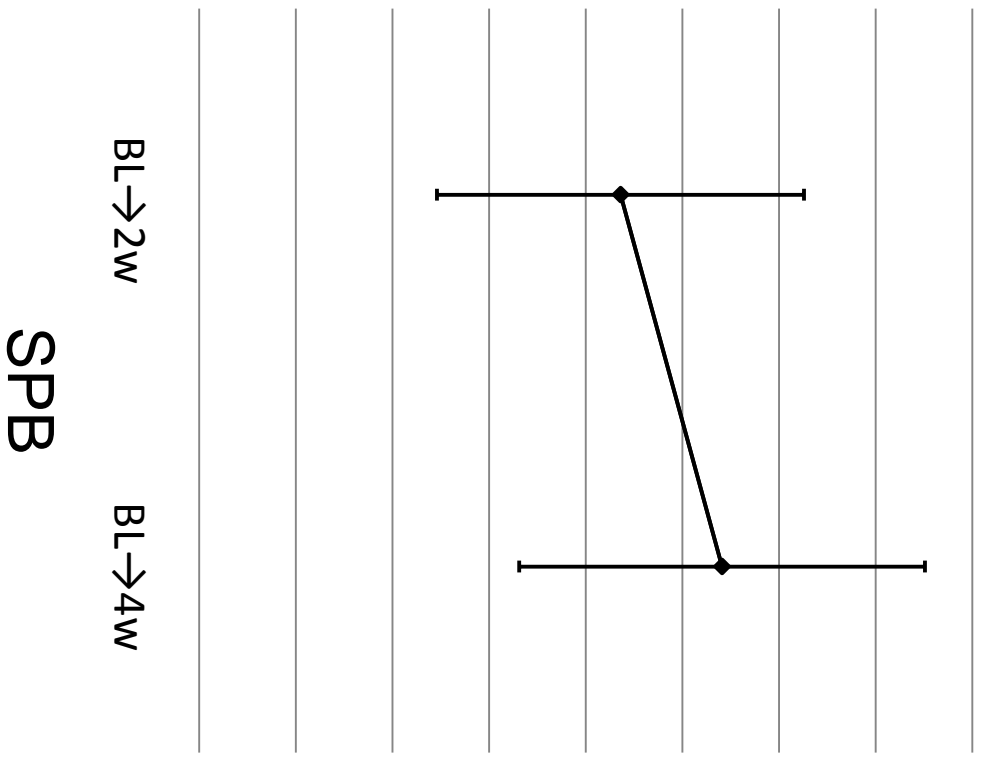
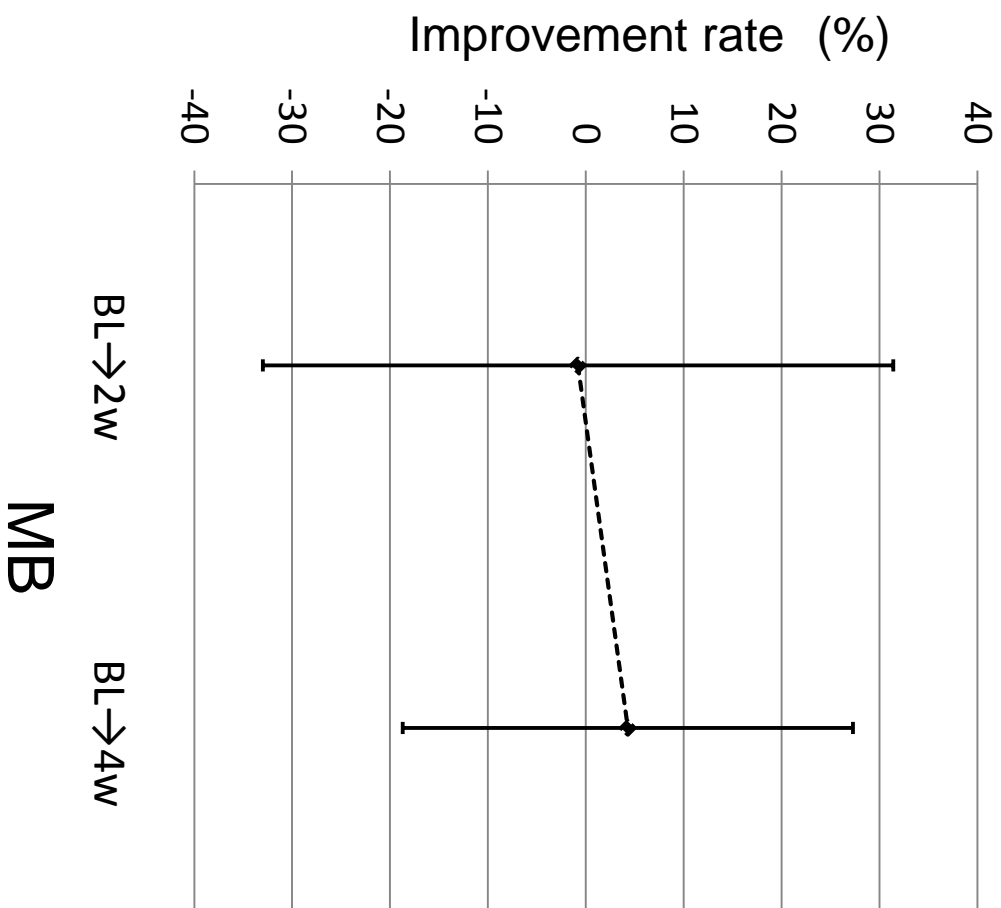


Fig 15

(Not Significant)