مجله دندانپزشکی
سال نهم
شماره ۲ ـ ۱
بهار و تابستان ۱۳۷۶

مقاله علمی

میزان باکتریهای کاپنوفیل و بی‌هوازی جدا شده از نمونه بیماران مبتلا به پریودونتیت بالغین

دکتر محمدحسین سالاری*

چکیده :

عفونتهای پریودونتال یکی از شایعترین عفونتهای انسان است که آن را به دو گروه اصلی ژنژیویت و پریودونتیت تقسیم می‌کنند. اشکال پریودونتیت مرتبط با سن بیماران و نوع باکتریهای موجود در پاکت دور دندان به چند گروه تقسیم می‌شوند (پریودونتیت قبل از بلوغ، جوانان، با پیشرفت سریع و بالغین). پریودونتیت بالغین را یکی از شایعترین علل از دست دادن مکرر دندانها در بالغین معرفی می‌کنند. (۱۲،۷)

در این مطالعه باکتریهای موجود در ۱۰۰ نمونه مبتلایان به پریودونتیت بالغین را با استفاده از روشهای کشت هوازی، بی‌هوازی و کاپنوفیل مورد بررسی قرار داده، نتایج بدست آمده بقرار ذیل است:

۱ـ باکتری‌های کاپنوفیل

اکتینوباسیلوس اکتینومایستم کومیتانس	۳۸ مورد	۲۶ درصد
ایکنلاکورودنس	۲۲ مورد	۱۶/۸ درصد

۲ـ باکتری‌های بی‌هوازی

پورفیروموناس ژنژیوالیس	۲۵ مورد	۱۹ درصد
پرونلا	۲۱ مورد	۱۶ درصد
فوزوباکتریوم	۱۸ مورد	۱۳/۷ درصد

* استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

پپتواستریپتوکوکوس	۳ مورد	۲/۳ درصد
اثوباکتریوم	۴ مورد	۳ درصد
ولینلا رکتا	۴ مورد	۳ درصد

مقدمه :

در حالت طبیعی، دندانها درون بخشی از استخوان آرواره بنام استخوان آلوئلی قرار دارند و توسط یکسری بافتهای دیگر از جمله سمان، الیاف پریودونتال و لثه احاطه شده است. این بافت‌ها که مجموعاً به پریودونشیوم معروف هستند، کمک می‌کنند تا دندانها در وضعیت مناسبی قرار گرفته بتوانند فونکسیون طبیعی خود را داشته باشند. عوامل مختلفی می‌توانند بر روی پریودونشیوم تأثیر گذاشته و موجب تخریب آن و بروز بیماریهای پریودونتال شوند. بنابراین بیماریهای پریودونتال، بیماریهای التهابی هستند که پریودونشیوم را مبتلا می‌سازند. هنگامی که ضایعات وارده، علاوه بر لثه، سایر بافتهای نگهدارنده، بخصوص الیاف پریودونتال و استخوان آلوئولی را درگیر سازد، پریودونتیت نامیده می‌شود. در مراحل پیشرفته بیماری با تحلیل و تخریب استخوان آلوئولی و سایر بافت‌های نگهدارنده، منجر به لقی و در نهایت از دست دادن دندان‌ها می‌شود.

Listgarten در سال ۱۹۸۶ پریودونتیت را به چهار گروه ذیل تقسیم کرده که عبارتند از:

۱ـ پریودونتیت قبل از بلوغ	(PPP)	Prepubertal periodontitis
۲ـ پریودونتیت جوانان	(JP)	Juvenile periodontitis
۳ـ پریودونتیت با پیشرفت سریع	(RPP)	Rapidly progressive periodontitis
۴ـ پریودونتیت بالغین	(AP)	Adult periodontitis

علت اصلی و واقعی بیماریهای پریودونتال مشخص نیست. به نظر می‌رسد وجود میکروارگانیسم‌ها از یک طرف و نقص سیستم ایمنی بدن از طرف دیگر در ایجاد این بیماری نقش داشته باشد. البته مواردی مانند مصرف دخانیات، افزایش سن، هورمونهای گوناگون، اختلالات ژنتیکی و بیماریهای سیستمیک از جمله دیابت نیز ممکن است در بروز بیماری موثر باشند. بعضاً به ارثی بودن این بیماری نیز اشاراتی می‌شود. به هر حال عامل اتیولوژیک در ایجاد این عفونت‌ها، میکروارگانیسم‌های موجود در پلاک‌ساب‌ژنژیوال (پلاک زیر لثه‌ای) می‌باشد. (۷)

روش کار :

طی مدت ۶ ماه ۲۵ نفر از بیماران مبتلا به پریودونتیت بزرگسالان که به بخش پریودونتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران مراجعه کرده بودند انتخاب شدند و ضمن تکمیل پرسشنامه مربوطه با رعایت موارد ذیل از آنها نمونه‌گیری بعمل آمد.

۱ـ براساس نظر Schluger بیماران می‌بایست مبتلا به پریودونتیت بزرگسالان باشند.

۲ـ برای بیماران فاز یک درمان به صورت جرمگیری فوق لثه انجام شده باشد.

۳ـ طی یکماه گذشته آنتی‌بیوتیک مصرف نکرده باشند.

۴ـ سن آنها حداقل ۳۵ سال باشد.

۵ـ بیماران فاقد بیماری سیستمیک بوده، خانم‌ها باردار نباشند.

۶ـ در موضع نمونه‌گیری، پلاک و کالکولوس موجود باشد.

۷ـ رادیوگرافی نشان دهنده تخریب استخوان باشد.

۸ـ بیماری در فاز اکتیو بوده و علائم التهاب در لثه دیده شود.

جهت نمونه‌گیری از هر بیمار، چهار دندان قدامی بالا، قدامی پائین، خلفی بالا، خلفی پائین که دارای پاکت با عمق ۵ میلی متر یا بیشتر در سطوح پروگزیمال بود و هنگام Probe کردن خونریزی داشتند را برای نمونه‌گیری انتخاب کرده، پس از اینکه توسط گاز استریل ورل پنبه‌ای کاملاً دندان مورد نظر جدا شد توسط یک کورت استریل، پلاک سوپراژنژیوال را از روی سطح دندان به طور کامل برداشته، سپس یک کورت استریل را وارد پلاک کرده در عمق ۵ میلی‌متر و یا بیشتر قرار دادیم. پس از اینکه کورت با سطح دندان کاملاً منطبق شد، کورت را روی سطح دندان با فشار ملایم حرکت داده، تا پلاک زیر لثه‌ای بدست آید. برای این منظور سه بار کورت را به اندازه ۳-۲ میلی متر حرکت داده، آنرا داخل ۲ میلی لیتر محیط ترانسپورت کرده و محیط ترانسپورت محتوی کورت را تکان داده تا پلاک دندانی کاملاً حل شود پس از آن بلافاصله آن را به آزمایشگاه منتقل کرده با آنس استاندارد محیط ترانسپورت محتوی نمونه را روی محیط‌های اختصاصی باکتریهای کاپنوفیل و بی‌هوازی کشت داده هر کدام در شرایط خاص و در مدت مناسب انکوبه گردید. (۱۴، ۱۳، ۱۰)

۱ـ کاپنوفیل :

پس از کشت هر نمونه روی محیط‌های اختصاصی اکتینوباسیلوس اکتینومایستم کومیتانس (تریپتیک سوی آگار همراه با باسیتراسین و وانکومایسین)، کاپنوسایتوفاگا (تریپتیک سوی

بلاداگار همراه با باسیتراسین وپلی میکسین ب)، ایکنلاکوردنس (محیط اختصاصی آن همراه با کلیندامایسین) و نیز محیط‌های شکلات آگاروآگار خون‌دار آن‌ها را در کندل جار و یا شرایط حضور هوا و حدود ۵٪ دی‌اکسید کربن قرار داده، حداقل به مدت سه روز در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس با در نظر گرفتن خصوصیات کلنی و باکتری و انجام تست‌های کاتالاز، اکسیداز، اوره، تخمیر قندها، احیاء نیترات و هیدرولیزاسکولین، باکتریهای مذکور مورد شناسائی قرار گرفتند. (۱۷، ۱۵، ۱۸)

۲ـ بی‌هوازی :

پس از کشت نمونه روی محیط اختصاصی بروسلا آگار همراه با ویتامین K_1 و همین و با استفاده از گاز پک مخصوص، پلیت‌ها در جار بی‌هوازی قرار گرفت و به مدت ۴۸ ساعت در شرایط ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید سپس با در نظر گرفتن خصوصیات کلنی و باکتری و انجام بعضی از تستهای اختصاصی باکتریها مورد شناسائی قرار گرفتند. (۱،۱۹،۲۱)

نتایج :

۱۰۰ نمونه مورد مطالعه از چهار منطقه دهان ۲۵ بیمار مبتلا به پریودونتیت بالغین طبق جدول شماره یک گردآوری شد و سپس از نظر باکتریهای کاپنوفیل و بی‌هوازی مورد بررسی قرار گرفت. براساس جداول شماره ۳-۱ و نمودارهای مربوط ، ۶۰ مورد باکتری کاپنوفیل و ۷۵ مورد باکتری بی‌هوازی جدا شده است.

لازم به ذکر است، در حالی که از ۲۵ نمونه باکتری جدا نگردید، طبق جدول شماره ۴ تعدادی از نمونه‌ها دارای بیش از یک باکتری بودند یعنی هشت نمونه دارای دو باکتری کاپنوفیل، شش نمونه دارای دو باکتری بی‌هوازی، سه نمونه هر کدام دارای سه باکتری بی‌هوازی، هشت نمونه هر کدام دارای دو باکتری بی‌هوازی و کاپنوفیل، دو نمونه هر کدام دارای سه باکتری کاپنوفیل و بی‌هوازی، شش نمونه هر کدام دارای چهار باکتری کاپنوفیل و بی‌هوازی، یک نمونه دارای پنج باکتری کاپنوفیل و بی‌هوازی، ۲۸ نمونه دارای یک باکتری بی‌هوازی و ۱۳ نمونه دارای یک باکتری کاپنوفیل بودند. ضمناً با مطالعه لام مستقیم نمونه‌ها مشخص گردید که سه نمونه دارای تعداد زیادی اسپروکت بودند.

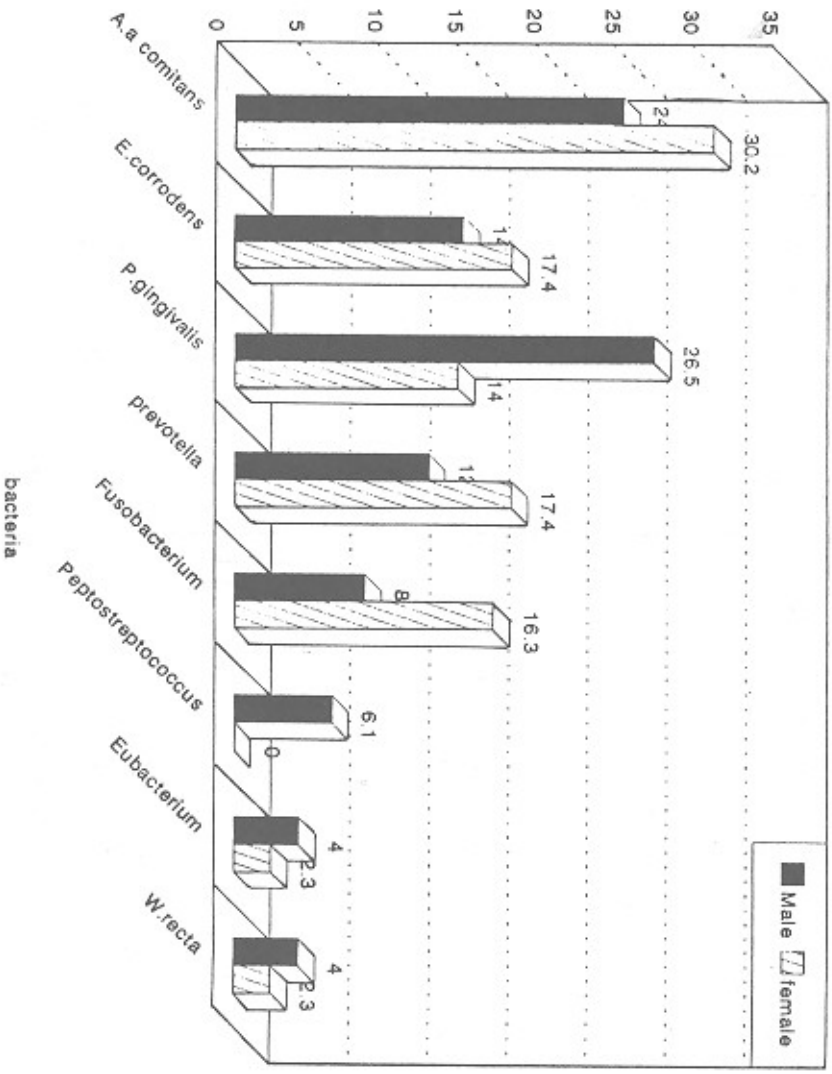
جدول شماره ۱ : توزیع فراوانی بیماران مبتلا به پریودونتیت بالغین و نمونه‌های آنها بر حسب سن و جنس

جنس / سن	مرد			زن			جمع		
	تعداد بیمار	تعداد نمونه	درصد	تعداد بیمار	تعداد نمونه	درصد	تعداد بیمار	تعداد نمونه	درصد
۳۵-۴۰	۴	۱۶	(۳۳/۳)	۳	۱۲	(۲۵)	۷	۲۸	(۲۹/۲)
۴۱-۴۵	۲	۸	(۱۶/۷)	۳	۱۲	(۲۵)	۵	۲۰	(۲۰/۸)
۴۶-۵۰	۱	۴	(۸/۳)	۳	۱۲	(۲۵)	۴	۱۶	(۱۶/۷)
۵۱-۵۵	۲	۸	(۱۶/۷)	۱	۴	(۸/۳)	۳	۱۲	(۱۲/۵)
۵۶-۶۰	۲	۸	(۱۶/۷)	۱	۴	(۸/۳)	۳	۱۲	(۱۲/۵)
۶۱-۷۰	۱	۴	(۸/۳)	۱	۴	(۸/۳)	۲	۸	(۸/۳)
جمع	۱۲	۴۸	(۱۰۰)	۱۲	۴۸	(۱۰۰)	۲۴	۹۶	(۱۰۰)

جدول شماره ۲ : توزیع فراوانی باکتریهای جدا شده از نمونه بیماران مبتلا به پریودونتیت بزرگسالان بر حسب سن و جنس بیماران

باکتری / جنس بیمار	مرد	زن	جمع
کاپنوفیل: - اکتینوباسیلوس اکتینومایستم کومیتانس	(۲۴/۵)۱۲	(۳۰/۲)۲۶	(۲۸/۱)۳۸
- ایکنلاکورودنس	(۱۴/۳)۷	(۱۷/۴)۱۵	(۱۶/۲)۲۲
بی هوازی: - پورفیرومونس ژنژیوالیس	(۲۶/۵)۱۳	(۱۴)۱۲	(۱۸/۵)۲۵
- پرونلا	(۱۲/۲)۶	(۱۷/۴)۱۵	(۱۵/۶)۲۱
- فوزوباکتریوم	(۸/۲)۴	(۱۶/۴)۱۴	(۱۳/۳)۱۸
- پپتوامستریتوکوکوس	(۶/۱)۳	—	(۲/۲)۳
- اتوباکتریوم	(۴)۲	(۲/۳)۲	(۳)۴
- ولینلارکتا	(۴)۲	(۲/۳)۲	(۳)۴
جمع	(۱۰۰)۴۹	(۱۰۰)۸۶	(۱۰۰)۱۳۵

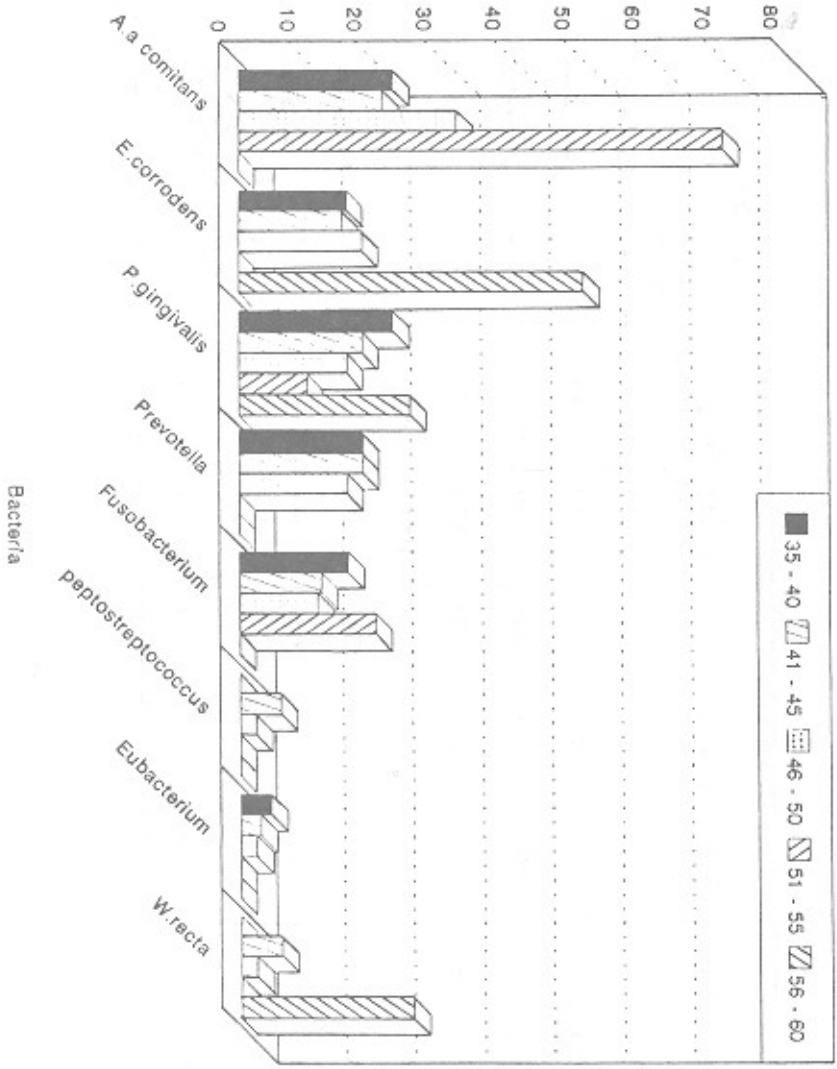
نمودار شماره ۱ : توزیع فراوانی باکتریهای کاپنوفیل و بی‌هوازی جدا شده از نمونه بیماران مبتلا به پریودونتیت بزرگسالان بر حسب جنس بیماران



جدول شماره ۳: توزیع فراوانی باکتریهای جدا شده از نمونه بیماران مبتلا به پریودونتیت بزرگسالان بر حسب سن بیماران

باکتری / سن بیمار	۳۵-۴۰	۴۱-۴۵	۴۶-۵۰	۵۱-۵۵	۵۶-۶۰	۶۱ ۷۰	جمع
کاپنوفیل: - اکتینوباسیلوس اکتینومایستم کومیتانس	(۲۲/۷)۱۰	(۲۱/۲)۷	(۳۱/۸)۱۴	(۷۰)۷	-	-	(۲۸/۱)۳۸
- ایکنلاکورودنس	(۱۵/۹)۷	(۱۵/۲)۵	(۱۸/۲)۸	-	(۵۰)۲	-	(۱۶/۳)۲۲
بی هوازی: - پورفیروموناس ژنژیوالیس	(۲۲/۷)۱۰	(۱۸/۲)۶	(۱۵/۹)۷	(۱۰)۱	(۲۵)۱	-	(۱۸/۵)۲۵
- پروتلا	(۱۸/۲)۸	(۱۸/۲)۶	(۱۵/۹)۷	-	-	-	(۱۵/۶)۲۱
- فوزوباکتریوم	(۱۶)۷	(۱۲/۱)۴	(۱۱/۴)۵	(۲۰)۲	-	-	(۱۳/۳)۱۸
- پپتواستریپتوکوکوس	-	(۶)۲	(۲/۳)۱	-	-	-	(۲/۲)۳
- اتوباکتریوم	(۴/۵)۲	(۳)۱	(۲/۳)۱	-	-	-	(۳)۴
- ولینلارکتا	-	(۶)۲	(۲/۳)۱	-	(۲۵)۱	-	(۳)۴
جمع	(۱۰۰)۴۴	(۱۰۰)۳۳	(۱۰۰)۴۴	(۱۰۰)۱۰	(۱۰۰)۴	-	(۱۰۰)۱۳۵

نمودار شماره ۲ : توزیع فراوانی باکتریهای کاپنوفیل و بی‌هوازی جدا شده از نمونه بیماران مبتلا به پریودونتیت بالغین بر حسب سن بیماران



جدول شماره ۴: فراوانی بیماران مبتلا به پریودونتیت بزرگسالان بر حسب نوع و تعداد باکتری کاپنوفیل و بی‌هوازی جدا شده از هر نمونه

کشت منفی	کاپنوفیل	تعداد	بی هوازی	تعداد	کاپنوفیل + بی هوازی	تعداد
	اکتینوباسیلوس	۹	پورفیرومونتاس	۱۱	اکتینوباسیلوس + پورفیرومونتاس + پروتلا + فوزوباکتریوم	۲
	ایکتلا	۴	پروتلا	۶	اکتینوباسیلوس + پورفیرومونتاس	۲
	اکتینوباسیلوس + ایکتلا	۸	فوزوباکتریوم	۶	اکتینوباسیلوس + پروتلا	-
			پپتواستربتوکوکوس	۳	اکتینوباسیلوس + فوزوباکتریوم	-
			اتوباکتریوم	۲	اکتینوباسیلوس + اتوباکتریوم	۱
			ولینلا	-	اکتینوباسیلوس + ولینلا	۱
			پورفیرومونتاس + پروتلا	۲	اکتینوباسیلوس+ایکتلا+پورفیرومونتاس+پروتلا + فوزوباکتریوم	۱
			پورفیرومونتاس + فوزوباکتریوم	-	اکتینوباسیلوس + ایکتلا + پورفیرومونتاس + پروتلا	۱
			پورفیرومونتاس + ولینلا	۲	اکتینوباسیلوس + ایکتلا + فوزوباکتریوم	۱
			پورفیرومونتاس + فوزوباکتریوم + پروتلا	۳	اکتینوباسیلوس + ایکتلا + فوزوباکتریوم + پروتلا	۱
			پروتلا + فوزوباکتریوم	۲	اکتینوباسیلوس + ایکتلا + فوزوباکتریوم	-
					اکتینوباسیلوس + ایکتلا + اتوباکتریوم	۱
					ایکتلا + پورفیرومونتاس + پروتلا + فوزوباکتریوم	۱
					ایکتلا + ولینلا + پروتلا + فوزوباکتریوم	۱
					ایکتلا + پورفیرومونتاس + فوزباکتریوم	۱
					ایکتلا + پروتلا	۲
					ایکتلا + فوزوباکتریوم	۱
جمع	۲۵ (۲۵)	۲۱ (۲۱)		۳۷ (۳۷)		۱۷ (۱۷)

بحث :

بعضی از باکتریهای بی‌هوازی مانند پورفیرومونـاس ژنژیوالیس، پروتلا و نـیز بـاکـتریهای کاپنوفیل مانند اکتینو باسیلوس اکتینومایستم کومیتانس به عـنوان پـریودونتوپاتوژن در انـواع مختلف بیماری پریودونتال انسان مطرح می‌باشد. این باکتریها در پلاک زیر لثه‌ای بیماران مبتلا به پریودونتیت یافت می‌شوند. طبق تحقیق به عمل آمده و نیز گزارش دیگران این گروه باکتریها را می‌توان به عنوان عوامل بروز عفونت پریودونتال قلمداد کـرد. مـوضوع مـورد اخـتلاف ایـن پژوهشها بیشتر در رابطه با نسبت و ترکیب این میکروارگانیزم‌ها می‌باشد. در مورد باکـتریهای بی‌هوازی جدا شده در این پژوهش می‌توان به ترتیب اهمیت پورفیرومونـاس ژنژیوالیس (۱۹٪) پـروتلا (۱۶٪)، و در مـراتب بـعد فـوزوباکـتریوم (۱۳/۷٪)، پـپتواسـترپتوکوکوس (۲/۳٪)، ولیـنلارکتا(۳٪)، وائـوباکـتریوم (۳٪) را مـعرفی کـرد (جـداول شـماره ۲ و ۳). گزارشهایی که تاکنون در این رابطه شده است تقریباً با نتایج این تحقیق مشابهت دارد با این تفاوت که بعضی از محققین پپتوا سترپتوکوکوس را به عنوان عامل اصلی قلمداد نکرده و برای ولینلارکتا اهمیت زیادی در بروز بیماری قائل شده‌اند.(۲۱، ۲۰، ۱۶، ۹، ۵، ۴)

در مورد باکتریهای کاپنوفیل جدا شده از نمونه‌های مورد مطالعه می‌توان به ترتیب اهمیت اکتینوباسیلوس اکتینو مایستم کومیتانس (۲۶٪) و ایکنلاکوردنس (۱۶/۸٪) معرفی کرد. (جدول شماره ۳،۲) میزان این باکتریها در مقایسه با نتایج مطالعه بعضی از پژوهشگران تـا حـدودی قرابت داشته، لیکن محققینی مانند Dzink و همکاران (سال ۱۹۸۵) و نیز Chen و همکاران (سال ۱۹۹۲) میزان آلودگی بـه اکـتینوباسیلوس اکـتینومایستم کـومیتانس را ۳۱/۹٪ گـزارش کرده‌اند. در مورد ایکنلاکوردنس Goldstein و همکاران (سـال ۱۹۸۳) و Chen و هـمکاران (سال ۱۹۸۹) میزان آلودگی به این باکتری را ۷۰-۵۸ درصد گزارش کرده‌اند.

موضوع قابل توجه دیگر این که این گروه باکتریها (بی‌هوازی و کاپنوفیل) اغلب به صورت عفونت مخلوط (Mix infection) عمل می‌نماید، ایـن پـدیده را مـی‌توان مـربوط بـه روابـط سی نرژیستی موجود بین آنها دانست. البته وقوف به نوع متابولیت‌ها و مکانیزم مشارکت آنها نیاز به بررسی بیشتر دارد. (۲۲، ۱۸، ۱۱، ۶، ۴، ۳، ۲)

سپاسگزاری :

بدینوسیله از استادان گرامی و همکاران محترم بخش باکـتریولوژی دانشکـده بـهداشت و بخش پریودونتیکس دانشکده دندانپزشکی تهران مخصوصاً دکـتر کـیومرث قـاضی سـعیدی، خانم‌ها دکتر زینب کدخدا، ربابه حافظی، نسرین ایران‌پـرست و از مـرکز آمـوزش و تـحقیقات بهداشتی یزد سحرا میرمعافی صمیمانه تشکر می‌نماید.

REFERENCES

منابع لاتین :

1. Baron, E.j; Baileyand Finegold, S.M. 1990. *Scott's Diagnostic microbiology*. 8th ed. USA, Mosby, 422 - 427. appendixA.
2. Chen, C.K; Wilson, M.E. 1992. Eikenella Corrodens in human Oral and non oral Infections. *J. of Perio*. 63: 941-953.
3. Chen, C.K; [et al.]. 1989. Eikenella Corrodens in the human oral cavity. *J. of Periodont*. 60(11): 611-60
4. Dzink, J.L; [etal.]. 1985. Grame negative species associated with active destructive periodontal lesions. *J. of Clin. Periodont*. 12: 642-659.
5. Dzink, J.L; [etal.] 1988. The predominat cultivable microbial active and in active lesions of destructive periodontal disease. *J. of Clin. Periodont*. 15: 516-523.
6. Goldstein, E.J; [etal.]. 1983. prevalence of eikenlla corrodens in dental. *J. of Clin. Microbiol*. 17(4): 636-90.
7. Macfarlane, T.W; Samaranayake, L.P. 1989. *Clinical Oral Microbiology*. Londan, Butterworth. 7-31; 51-70.
8. Mashimo, P.A; [etal.]. 1983. selective recovery of oral capnocytophaga (spp) with sheep blood agar Containing bacitracin and polymyxin *B*. *J. of Clin. Microbiol*. 17(2): 187-191.
9. Monbilli. a; [etal.]. 1991. Black pigmenting bacteria in periodontal disease. *J. of Periodont. Res*. 26: 301 - 307.
10. Monder, R; Sacransky, S.S. 1981. A selective medium for actinobacillus actinomycetem Comitans and the incidance of the organism in Juvenile periodontitis. *J. of Periodont*. 52: 593-598.
11. Moore, W.E.C; Holdeman, L.V. 1983. Bacteriology of moderate (chronic) periodontitis in mature adult human infection and immunity. 42: 510-515.

12. Murray, R.R; [etal.]. 1990. *Medical Microbiology*. London, Mosby. 146-147; 176; 279-293.

13. Naiming, H. [etal.]. 1991. Bacteriological study of Juvenile periodontitis in China. *J. Periodont. Res.* 26: 406-414.

14. Schluger, Saul; [etal.]. 1990. *Periodontal Disease: basic phenomena clinical mangement and occlusal and restorative Interrelationship.* 2nd ed. Philadelphia, Lea & Febiger.

15. Slee, A.M; Tanzer, j.M. 1978. Selective medium for isolation of eikenella Corrodens from periodontal lesions. *J. of Clin. Micobiol.* 8(4): 459-462.

16. Slots, j. 1986. Bacterial specificity in adult periodontitis a summary of recent work. *J. of Clin. Periodont.* 13: 912-917.

17. Slots, j. 1982. selective medium for isolation of A.a. *J. of Clin. Microbiol.* 15(4): 606-609.

18. Slots, j; Listgarten, M.A. 1988. Bacteroides gingivalis, Bacteroides intermedius and actionbacillus actinomycetem comitans in human periodontal disease. *J. of Clin. Periodont.* 15: 85-93.

19. Syed, S.A; [etal.]. 1979. Proportions of bacteroides as a charolyticus in the pocket plaques of untreated humans and beagle dogs with perio dontitis. Washington, D.C, American Society for Microbiology, abstract c(H) 25.

20. Tanner, A; [etal.]. 1979. A study of the bacteria associated with advan cing periodontal disease in man. *J. of Clin. Periodont.* 6: 278-307.

21. Tanner, A; Bouldin, H. 1989. The microbiole of early Periodontitis lesions in adults. *J. of Clin. Periodont.* 16: 467-471.

22. Zambon, j. 1985. Actinobacillus actinomycetem comitans in human periodontal disease. *J. of Clin. Periodont.* 12: 1-20.