

携带 IL-1B 等位基因 2 牙周炎患者基础治疗后牙周可疑致病菌的变化

陈慧芝¹, 吴 坚², 肖 刚³, 梁焕友², 唐 倩²

(1. 广州市红十字会医院口腔科, 广东 广州 510220; 2. 广州市中山大学附属第三医院口腔科;
3. 检验科, 广东 广州 510630)

摘 要: 【目的】了解携带 IL-1B(+3954) 等位基因 2 的牙周炎患者在牙周基础治疗后龈下菌斑中牙周可疑致病菌的动态变化情况。【方法】选择了携带 IL-1B(+3954) 等位基因 2 牙周炎患者的 42 颗患牙为实验组(B2+ group), 无携带该等位基因牙周炎患者的 40 颗患牙为对照组(B2- group)。收集两组患牙在牙周基础治疗前、治疗后 1、3、6 个月时牙周临床指标菌斑指数(PI)、牙龈指数(GI)和探诊深度(PD), 采集龈下菌斑, 采用细菌培养鉴定方法测定牙周可疑致病菌的检出率和检出量(CFU/g)。【结果】(1) 在同一观察时间点, 两组的临床牙周各项指标无统计学差异。(2) 基线时, 实验组和对照组的牙周可疑致病菌检出率无统计学差异, 而实验组的梭杆菌、类杆菌和 BPAR 检出量则较对照组高($P < 0.05$)。(3) 基础治疗后 1 个月, 两组的检出率和检出量明显下降($P < 0.05$)。(4) 治疗后 3 个月时, 两组的可疑致病菌检出率和检出量较 1 个月均有上升, 且实验组的 BPAR 检出率和检出量均较对照组高($P < 0.05$)。(5) 治疗后 6 个月时, 两组的检出率基本回复基线水平; 而实验组的真杆菌、梭杆菌、类杆菌和 BPAR 检出量则较对照组高($P < 0.05$)。【结论】(1) 对于 PD ≥ 6 mm 的牙周炎患牙, 基础治疗只能暂时控制牙周可疑致病菌。(2) 基础治疗前后, 携带 IL-1B(+3954) 等位基因 2 患者的牙周深袋处都可检出有更多的梭杆菌、类杆菌和 BPAR。

关键词: 牙周炎; 牙周致病菌; 厌氧培养; 等位基因; 白细胞介素 1

中图分类号: R781.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)02-0175-05

Change of Putative Periodontopathic Bacteria in Periodontitis with IL-1B Allele 2 after Basic Treatment

CHEN Hui-zhi¹; WU Jian²; XIAO Gang³; LIANG Huan-you, TANG Qian²

(1. Department of Stomatology, Guangzhou Red Cross Hospital, Guangzhou 510220, China
2. Department of Stomatology, 3. Medical Laboratory, Third Affiliated Hospital of SUN Yat-sen University,
Guangzhou 510630, China)

Abstract: 【Objective】 To study the dynamic changes of putative periodontopathic bacteria in subgingival plaques in periodontitis with IL-1B allele 2 after periodontal basic treatment. 【Methods】 The experimental group (B2+ group) were 42 teeth in periodontitis with IL-1B(+3954) allele 2. The control group (B2- group) were 40 teeth in periodontitis without the allele. The clinical indexes (plaque index, gingival index, and probing depths) in two groups were collected before and 1, 3, 6 months after periodontal basic treatment. The detective rate and detective amount (CFU/g) of putative periodontopathic bacteria in subgingival plaques were assayed by cultivation. 【Results】 (1) At the same observing time, the clinical indexes in two groups had no statistical difference. (2) The detective rates in two groups had no statistical difference on baseline. The detective amount of Fusobacterium, Bacterioides and BPAR in the B2+ group were larger than those of B2- group ($P < 0.05$). (3) 1 month after basic treatment, the

收稿日期: 2006-11-12

基金项目: 广东省卫生厅科研基金(A2004053)

作者简介: 陈慧芝(1970,7-), 女, 广东阳江人, 学士, 主治医师, 联系电话: 34403616, 手机(小灵通): 88340658 电子邮箱: chenhuizhi07@163.com

通讯作者: 吴 坚

detective rates and detective amounts of putative periodontopathic bacteria in two groups decreased obviously ($P < 0.05$). (4) The detective rates and detective amounts of putative periodontopathic bacteria in the two groups increased 3 months after basic treatment compared with that 1 month after, as well as that those of BPAR in B2+ group were significantly higher than that of B2- group. (5) 6 month after treatment, the detective rates in the two groups almost returned to baseline; The detective amount of Eubacterium, Fusobacterium, Bacterioides and BPAR in the experimental group were larger than the control one ($P < 0.05$). 【Conclusions】 (1) Basic treatment could control the putative periodontopathic bacteria in the periodontal pocket with PD 6mm for a while. (2) Fusobacterium, Bacterioides, and BPAR in putative periodontopathic bacteria were easily detected in the deep periodontal pocket in periodontitis with IL-1B (+3954) allele 2.

Key words: periodontitis; periodontal pathogen; anaerobic culture; allele; interleukin-1

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(2):175-179]

菌斑是牙周炎的始动因素, 而影响龈下菌斑生物膜生成的因素除了有局部牙周状况、口腔卫生, 还有宿主的遗传背景。近期研究发现携带 IL-1B(+3954) 等位基因 2 牙周炎患者的龈下菌斑中可检出更多的牙周可疑致病菌, 这可能是影响慢性牙周炎个体差异的因素之一^[1]。基础治疗是牙周治疗的常用手段。基础治疗后, 携带 IL-1B(+3954) 等位基因 2 患者的牙周致病菌变化是否与无携带该等位基因的相同呢? 为此, 本课题拟通过细菌培养鉴定, 了解这两组牙周炎患者在牙周基础治疗后龈下菌斑中可疑致病菌变化的差异。

1 材料和方法

1.2 研究对象

收集 2004 年 9 月-2005 年 7 月在中山大学附属第三医院口腔科就诊的牙周病患者的资料, 经 PCR 鉴定携带 IL-1B(+3954) 等位基因 2(B2+) 的患者纳入实验小组(B2+ group), 无携带 IL-1B(+3954) 等位基因 2(B2-) 的患者纳入对照组(B2-group)。所有观察对象均要求: 年龄 35~60 岁; 已明确诊断为中、重度慢性牙周炎, 6 个月内无牙周治疗史; 口腔内除了第 3 磨牙, 至少余留有 18 颗牙齿, 每个象限内至少有 3 颗功能牙; 无明显咬伤创伤; 口腔内每侧至少有 1 颗后牙的牙周袋 6 mm; 无需行松牙固定术; 牙周袋内取样前 1 个月内无进行任何抗生素和激素治疗; 无系统性疾病, 非肝炎病毒携带者; 无怀孕, 非哺乳期; 5 年内无嗜烟史; ①患者本人同意。

1.2 检测指标

口腔内每侧各选取一颗后牙牙周袋 6 mm, 且无牙体牙髓病的患牙作为本研究观察取样牙

位。携带 IL-1B(+3954) 等位基因 2 患者的观察牙归为实验组(B2+ group), 无携带 IL-1B(+3954) 等位基因 2 (B2-) 患者的观察牙归为对照组 (B2-group)。

1.3 临床观察指标

由同一医师分别记录每个观察牙齿的菌斑指数(plaque index, PI), 牙龈指数(gingival index, GI); 探诊深度 (probing depths, PD) 探诊出血(bleeding on probing, BOP)^[3]。

1.2.2 微生物学检查

龈下菌斑的采集: 两侧观察牙分别用无菌面卷隔湿, 龈上洁治器清除龈上软垢、牙石, 吹干牙面, 将消毒纸尖小心插入牙周袋底, 留置 20 s 后取出, 立即放入盛有 0.5 ml 的无菌还原转送液的厌氧转送管内, 送至细菌实验室。

细菌的分离、培养、鉴定: 转送管置于漩涡震荡器, 震荡 1 min 使菌斑团块分散后, 将取样标本 10 倍系列稀释至 10^{-2} 。取不同稀释度的样本 0.01 ml 接种于牛心脑浸液-辅助琼脂 (BHI-S 琼脂) 培养基, 置于厌氧箱内在体积分数 80 %N₂、10 %H₂、10 %CO₂ 环境中, 37 °C 培养 48~72 h。初代培养物进行菌落计数, 以平板上菌落形成单位 (colony forming unit, CFU/g) 为菌量测定指标。将不同的单个菌落分离、接种于牛心脑浸液 (BHI) 培养基进行次代培养, 包括耐氧实验 (37 °C 需氧培养 48 h) 和厌氧培养 (37 °C 厌氧培养 48 h)。对纯化的次代培养物进行生化鉴定, 根据伯杰氏细菌学鉴定手册鉴定可疑菌群至属。观察实验组和对照组牙周袋内的牙周可疑致病菌: 包括真杆菌 (Eubacterium), 梭杆菌 (Fusobacterium), 类杆菌 (Bacterioides), 弯曲菌 (Campylobacter), G⁻ 产黑色厌氧杆菌 (black-pigmented gram negative anaerobic

rod), BPAR(主要有牙龈卟啉单胞菌、中间普氏菌和产黑色素普氏菌等)的检出率。

1.3 实验设计

初诊所得检测数据为基线(Baseline), 然后给予相应的牙周基础治疗(包括龈上洁治和龈下刮治)和口腔卫生指导。1个月、3个月、6个月复诊, 分别检查取样、龈上洁治和加强口腔卫生宣教。

1.4 统计学分析

使用 SPSS10.0 统计软件包处理数据。以观察取样牙作为统计对象, 两组临床指标的比较采用 t 检验; 可培养细菌检出率的比较采用卡方检验; 菌落计数结果经对数处理后, 比较采用 t 检验。

2 结 果

2.1 实验组和对照组患者牙周临床指标的比较

表 1 基础治疗前后临床牙周指标的变化

Table 1 Changes of the clinical indexes before and after basic treatment ($\bar{x} \pm s$, B2+ group: n=42, B2- group: n=40)

Time	PI		GI		PD	
	B2+ group	B2- group	B2+ group	B2- group	B2+ group	B2- group
Baseline	2.44 \pm 1.09	2.74 \pm 1.18	2.14 \pm 0.41	2.02 \pm 0.41	8.01 \pm 2.34	7.45 \pm 1.09
1 month	0.74 \pm 0.25 ¹⁾	0.81 \pm 0.27 ²⁾	1.27 \pm 0.34 ³⁾	1.22 \pm 0.29 ⁴⁾	6.75 \pm 1.21 ⁵⁾	6.24 \pm 1.05 ⁶⁾
3 months	1.09 \pm 0.35 ⁷⁾⁹⁾	1.13 \pm 0.40 ⁸⁾¹⁰⁾	1.97 \pm 0.44	1.54 \pm 0.48	7.35 \pm 1.14	6.48 \pm 1.11
6 months	1.29 \pm 0.42	1.25 \pm 0.42	2.38 \pm 0.88	1.71 \pm 0.98	8.56 \pm 2.85	7.27 \pm 1.89

Compared with baseline: 1) t=9.85, 2) t=10.08, 3) t=10.59, 4) t=10.08, 5) t=3.10, 6) t=5.06; P<0.05. 7) t=6.38, 8) t=7.53; P<0.05.

Compared with 1 month: 9) t=6.38, 10) t=7.53; P<0.05

2.2 微生物学观察结果

2.2.1 牙周可疑致病菌检出率的比较 由表 2 可见, 除基础治疗 3 个月时实验组的 BPAR 检出率高于对照组(P< 0.05)外, 其余两组间的各致病菌检

实验组 23 例患者中失访 2 例, 21 例有效病例, 共有 42 颗观察牙作为实验组统计对象。21 例有效病例中男性 12 例, 女性 9 例, 年龄(39 \pm 4)岁。对照组 23 例患者中失访 3 例, 20 例有效病例, 共有 40 颗观察牙作为统计对象。20 例有效病例中男性 10 例, 女性 10 例, 年龄(42 \pm 3)岁。

由表 1 可见, 不论是在基线时间还是基础治疗后 1 个月、3 个月、6 个月, 同时期的实验组和对照组的各项牙周临床指标均没有统计学差异(P> 0.05)。牙周基础治疗后 1 个月实验组和对照组的 PI、GI、PD 指数较基线时有所下降(P< 0.05)。6 个月后, 两组的 PI 指数较 1 个月时上升, 但较基线时减少(P< 0.05); GI 和 PD 指数则与基线时无统计学差异(P>0.05)。

出率无统计学差异。基础治疗 1 个月时, 各致病菌的检出率较基线时明显下降(P< 0.05), 随着时间的推移, 检出率逐渐上升, 至 6 个月时, 基本回复基线水平(P>0.05)。

表 2 基础治疗前后牙周可疑致病菌检出率的变化

Table 2 Changes of detective rate of putative periodontopathic bacteria before and after basic treatment (% , B2+ group: n=42, B2- group: n=40)

Time	Eubacterium		Fusobacterium		Bacteroides		Campylobacter		BPAR	
	B2+ group	B2- group	B2+ group	B2- group	B2+ group	B2- group	B2+ group	B2- group	B2+ group	B2- group
Baseline	66.7	75	76.2	70	81.0	75	71.4	75	73.8	67.5
1 month	33.3	25	38.1	45	33.3	30	23.8	20	19	15
3 months	42.9	40	61.9	55	52.4	40	52.4	50	66.7	45 ¹⁾
6 months	61.9	55	81.0	70	76.2	75	66.7	62.5	69.0	60

1) The detective rate of BPAR in B2+ group compared with that of B2- group: $\chi^2=4.017$, P< 0.05

2.2.2 牙周可疑致病菌检出量的比较 由表 3 可见,基线时实验组的梭杆菌、类杆菌和 BPAR 的检出量高于对照组 ($P < 0.05$); 两组的真杆菌和弯曲菌检出量无统计学差异。1、3 个月时各组的检出量较基线的低。3 个月时,实验组的 BPAR 检出量高于对照组。6 个月时,实验组的真杆菌、梭杆

菌、类杆菌和 BPAR 检出量高于对照组。6 月的检出量与基线相比,实验组除了弯曲菌较基线的下降外 ($P < 0.05$),其他各菌的检出量与基线无统计学差异;对照组的真杆菌和弯曲菌较基线的降低,梭杆菌、类杆菌和 BPAR 则与基线无统计学差异 ($P > 0.05$)。

表 3 基础治疗前后牙周可疑致病菌检出量的变化

Table 3 Changes of detective amount of putative periodontopathic bacteria before and after basic treatment (CFU/g, $\bar{x} \pm s$; B2+ group: n=42, B2- group: n=40)

Time	Eubacterium		Fusobacterium		Bacteroides		Campylobacter		BPAR	
	B2+ group	B2- group	B2+ group	B2- group	B2+ group	B2- group	B2+ group	B2- group	B2+ group	B2- group
Baseline	5.81 \pm 2.68	5.24 \pm 2.11	6.58 \pm 2.10	4.59 \pm 2.27 ¹⁾	5.44 \pm 2.38	4.18 \pm 2.42 ²⁾	6.34 \pm 2.06	5.97 \pm 2.48	6.11 \pm 3.20	4.13 \pm 2.46 ³⁾
1 month	2.06 \pm 1.33	2.23 \pm 1.58	2.95 \pm 1.25	2.64 \pm 1.13	2.83 \pm 1.05	2.24 \pm 0.99 ⁴⁾	1.42 \pm 0.88	1.43 \pm 0.96	2.01 \pm 1.11	1.63 \pm 1.13
3 months	3.09 \pm 2.91	2.64 \pm 1.93	3.98 \pm 2.76	3.22 \pm 2.43	3.79 \pm 2.36	2.95 \pm 1.89	3.46 \pm 1.14	3.12 \pm 0.99	4.32 \pm 2.10	3.31 \pm 1.36 ⁵⁾
6 months	4.93 \pm 2.52	3.04 \pm 2.22 ¹⁰⁾	6.15 \pm 2.03	3.62 \pm 2.51 ⁷⁾	5.28 \pm 2.47	3.27 \pm 2.00 ⁸⁾	4.87 \pm 2.36 ¹⁾	4.53 \pm 2.25 ¹²⁾	6.34 \pm 2.78	4.76 \pm 1.59 ⁹⁾

Compared with B2- group: 1)t=4.12, 2)t=2.38, 3)t=3.13, 4)t=2.62, 5)t=2.57, 6)t=3.60, 7)t=5.03, 8)t=4.04, 9)t=3.87; $P < 0.05$.

Compared with baseline: 10) t=4.54, 11) t=3.04, 12) t=2.72; $P < 0.05$.

3 讨论

3.1 牙周可疑致病菌与牙周基础治疗

菌斑中牙周可疑致病菌与牙周病的发生、发展有着密切的联系,研究发现有十余种可疑致病菌与各型牙周病相关,其中与慢性牙周炎相关的主要有牙龈卟啉单胞菌、中间普氏菌、福赛类杆菌、直肠弯曲菌和核梭杆菌。随着牙周袋的加深,不仅牙周袋内的细菌总量增加,可疑致病菌,特别是牙龈卟啉单胞菌、福赛类杆菌的构成比升高^[4,5]。

牙周基础治疗包括龈上洁治术和龈下刮治术,通过去除菌斑和炎症组织,能消除牙周炎症,增加牙周附着水平,是牙周炎的常规治疗方法;然而研究资料表明,基础治疗后 3 个月,牙周袋内的微生物种类已基本回复到治疗前的基线水平,只是细菌数量较前明显减少^[6]。本实验中,基础治疗前两组牙周临床指标无统计学差异,提示有可比性;基础治疗后 1 个月,不论是 B2+患者还是 B2-患者,临床指标均有下降;同时牙周可疑致病菌的检出率和检出量也明显下降。随着时间的推移,各检测指标逐渐上升,至基础治疗后 6 个月时,基本回复到基线水平,只有菌斑指数和类杆菌、弯曲菌的检出量较基线时有所减少。这可能与深袋(PD 6 mm)解剖结构复杂,刮治器械难以深入窄深部

位,造成刮治不彻底,容易残余牙石和细菌有关。基础治疗后一段时间,牙周袋内的厌氧环境使袋内菌群失调,残留致病菌生长比例渐高,可疑致病菌出现频率和数量均升高,当其对牙周组织的破坏超越了宿主的防御和修复能力,使病变继续缓慢进展^[7]。提示针对有深袋的牙周炎,仅牙周基础治疗只能短期控制致病菌和改善临床症状。

3.2 牙周可疑致病菌与 IL-1B 基因

国内外研究均发现 IL-1B(+3954)等位基因 2 的多态性与重度牙周炎的易感性有关^[2,8]。Socransky 等学者研究发现在 B2+患者的牙周深袋中,牙周可疑致病菌的细菌量和构成比均比 B2-患者的高^[1,9]。本研究的结果显示,基础治疗前各类牙周可疑致病菌检出率与是否携带 IL-1B 等位基因 2 无关,但在 B2+患者的深袋中梭杆菌、类杆菌和 BPAR 的细菌数量高于 B2-患者;基础治疗后 1 个月,两组患者牙周袋中各可疑致病菌的检出情况无差异;然而,基础治疗后 3 个月开始,B2+患者的可疑致病菌检出率和检出量就高于 B2-患者(表 2、3)。其具体原因现尚不清楚,提示龈下菌斑中牙周致病菌的定植、生长与宿主的 IL-1B 基因可能有关:IL-1B2+患者龈沟液中有高浓度的 IL-1,使牙周组织炎症程度加重,刺激龈沟液的分泌量增加^[10];龈沟液的增加可促进龈下菌群,尤其是可疑致病菌的生长,这又进一步加重了牙周炎症

和牙周袋的加重; 炎症和深袋也是可疑致病菌数量和构成比增加的原因之一^[4]。

本研究结果显示对于 PD 6 mm 的牙周炎患牙, 基础治疗只能暂时控制牙周可疑致病菌; 基础治疗前后, B2+患者的牙周深袋处都可检出有更多的梭杆菌、类杆菌和 BPAR; 提示携带 IL-1B 等位基因 2 的牙周炎患者需要更强有力的杀菌消炎措施。

参考文献:

- [1] SOCRANSKY S S, HAFFAJEE A D, SMITH C, et al. Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients [J]. J Clin periodontol, 2000, 27:810- 818.
- [2] 梁焕友, 吴 坚, 刘国萍. 汉族成人牙周炎患者白细胞介素-1 基因多态性分析[J]. 中山医科大学学报, 2001, 22(6): 468- 472
- [3] 曹采方主编. 牙周病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 85- 89.
- [4] SOCRANSKY S S, HAFFAJEE A D, CUGINI M A, et al. Microbial complexes in subgingival plaque[J]. J Clin Periodontol, 1998, 25(2):134- 144.
- [5] AIRILA-MANSSON S, SODER B, KARI K, et al. Influence of combinations of bacteria on the levels of prostaglandin E(2), interleukin-1 beta, and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid and on the severity of periodontal disease[J]. J Periodontol, 2006, 77(6): 1025- 1031
- [6] HAFFAJEE A D, CUGINI M A, DIBART S, et al. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases [J]. J Clin Periodontol, 1997, 24:324- 334.
- [7] QUIRYNEN M, VOGELS R, PAUWELS M, et al. Initial subgingival colonization of pristine pockets[J]. J Dent Res, 2005, 84(4):340- 344.
- [8] KORNMANN K S, CRANE A, Wang H Y, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal in adult periodontal disease [J]. J Clin Periodontal, 1997, 24(1):72- 77
- [9] CULLINAN M P, WESTERMAN B, HAMLET S M, et al. A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in general adult population [J]. J Clin Periodontol, 2001, 28(12): 1137- 44.
- [10] 吴 坚, 刁惠波, 唐 倩, 等. IL-1B 基因多态性与汉族慢性牙周炎临床指标的相关性[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2004, 25(3s): 58- 59

(编辑 王晓鹰)