维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2007)01-0072-04

复方茶多酚含漱液对牙周炎患者龈下菌群及龈沟液内毒素水平的影响

王 萍[1],季 平[1],罗慧琼[1],张 伟[2],唐 明[1]

(1.重庆医科大学附属第一医院口腔科,重庆 400016;2.重庆市药品检验所,重庆 400015)

【摘 要】目的:观察牙周洁刮治术和局部应用口灵(复方茶多酚含漱液)对成人牙周炎患牙龈下菌群及龈沟液中内毒素水平的影响。方法:选择 78 例成人牙周炎共 156 颗患牙,随机分为实验组、阴性对照组和阳性对照组。实验组给予牙周洁刮治术和口腔局部应用复方茶多酚含漱液漱口,阴性对照组给予牙周洁刮治术和蒸馏水漱口,阳性对照组给予牙周洁刮治术和 0.2%洗必泰液漱口。三组分别于治疗前后检测其龈沟液中内毒素含量,并对龈下细菌进行分离培养。结果:三组治疗后龈沟液中内毒素水平及龈下细菌的数量较治疗前明显降低($P<0.05$)。实验组治疗后龈沟液中内毒素水平明显低于阴性对照组($P<0.05$);龈下细菌的数量及组成发生明显改变,龈下细菌总数及革兰氏阴性杆菌较阴性对照组明显减少($P<0.05$),革兰氏阳性球菌增加($P<0.05$)。结论:牙周洁刮治术合并复方茶多酚含漱液局部应用对患牙龈下菌群及龈沟液中内毒素水平有明显影响。

【关键词】茶多酚;牙周炎;龈沟液;内毒素;细菌

【中国图书分类法分类号】R781.4 【文献标识码】B 【收稿日期】2006-06-05

Effects of gargle of composite of phenols in tea on subgingival bacteria and levels of endotoxin in gingival crevicular fluid of periodontitis

WANG Ping, et al

(*Department of Stomatology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To evaluate the effect of periodontal therapy and local application of Kouling(gargle of composite of phenols in tea)on the subgingival bacteria and levels of endotoxin in gingival crevicular fluid of adult periodontitis. Methods: Seventy-eight adult periodontitis (156teeth)were divided into three groups randomly. The experimental group was treated with periodontal scaling and root planning, and meanwhile administered gargle of composite of phenols in tea. The negative control group was treated with periodontal scaling and root planning, and administered distilled water as placebo. And the positive control group was treated with periodontal scaling and root planning, and administered0.2%chlorhexidine. Levels of endotoxin in gingival crevicular fluid were measured and the subgingival bacteria were cultivated before and after therapy. *Results*: After therapy, levels of endotoxin in gingival crevicular fluid and numbers of bacteria all decreased remarkably in three groups ($P<0.05$). Level of endotoxin in gingival crevicular fluid of experimental group after therapy was significantly lower than that of negative control group($P<0.05$). The number and composition of subgingival bacteria changed significantly, and bacterial total number and levels of gram-negative bacteria of experimental group decreased significantly after therapy comparing with negative control group ($P<0.05$), and levels of gram-positive bacteria increased ($P<0.05$). *Conclusion*: Periodontal scaling and root planning combining local application of gargle of composite of phenols in tea had apparent effect on the subgingival bacteria and levels of endotoxin in gingival crevicular fluid of adult periodontitis.

【Key words】Tea Polyphenols; Periodontitis; Gingival crevicular fluid(GCF); Endotoxin; Bacteria

牙周病是口腔常见的细菌性感染性疾病,是成人失牙的常见原因,其感染源为定居在牙菌斑中的微生物。研究认为牙周炎龈下菌斑以厌氧菌为主,其中大部分为革兰氏阴性杆菌[1]。内毒素为革兰氏阴性菌细胞壁成分,对牙周组织有很高毒性。研究已证实龈沟液内毒素与牙周炎临床症状密切相关[2]。因此龈沟内及龈下牙菌斑中微生物和内毒素的有效清除对牙周炎的疗效至关重要。一些学者对茶多酚的抗

作者介绍:王 萍(1970-),女,副主任医师,硕士,主要研究方向:牙周病学。

维普资讯 http://www.cqvip.com

菌作用做了研究,但仅限于体外实验,用于体内研究报道的较少。本研究的目的是观察牙周基础治疗合并局部复方茶多酚含漱液治疗前后龈沟液中内毒素含量变化及龈下菌群的组成变化。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选择我院口腔内科门诊就诊的慢性牙周炎患者 78 例,其中男 45 例,女 33 例,年龄 35~61 岁。随机分为实验组、阴性对照组和阳性对照组。要求除牙周病外身体健康,无明显全身系统性疾病,近 3 个月内未服用抗生素,未接受过牙周专科治疗。每例患者口腔内至少有 2 个以上的重度牙周病损患牙。每例患者口腔内选取 2 颗牙周袋探诊深度≥5mm 且牙颈部无龋坏及充填体、无咬合创伤的患牙作为观察牙。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 三组治疗前均采集龈沟液和龈下菌斑,测定内毒素量及进行细菌培养作为基线值。随后对实验组 56 颗患牙进行龈上洁治术和龈下刮治术,并口腔内局部应用口灵(复方茶多酚含漱液),每日 3 次,共 7 天。口灵由云南三利消毒药业有限公司提供。阴性对照组 56 颗患牙进行龈上洁治术和龈下刮治术,并用蒸馏水漱口。阳性对照组 44 颗患牙进行龈上洁治术和龈下刮治术,并用 0.2%洗必泰液漱口。以上 3 种试剂均加入少许香精、食用色素,使气味和外观一致。要求患者在观察期内不再接受其它牙科治疗,不使用其它药物,于治疗后 1 周再次取样测定上述指标。

1.2.2 龈沟液的采集 用灭菌的洁治器械去除观察牙龈上菌斑,隔湿干燥后,将统一规格的无菌纸尖小心插入牙周袋内约 1mm,留置 30s 后取出,10s 后在同一位点再次取样。立即放入去热源小管内-20°C 冷冻保存待检。

1.2.3 龈下菌斑的采集 在龈沟液采集完后,用消毒刮匙伸入牙周袋底部采集龈下菌斑。将采集的龈下菌斑样本置装有 0.5ml 硫乙醇酸盐转送液(TD 液)的转送瓶内,30min 内转运实验室备检。

1.2.4 内毒素的测定 采用产色基质鲎试剂盒Ⅱ(上海伊华临床医学科技公司)测定内毒素:参照李德懿方法[3],将系列稀释已知浓度的内毒素标准品(阳性对照),去热源水(阴性对照)各 0.5ml,分别加鲎试剂 0.05ml 混匀,37°C 水浴箱中 25min,加入显色基质鲎三肽 0.05ml,37°C 水浴箱中 3min,立即置冰-水浴中终止反应,再依次加入亚硝酸钠、氨基磺酸胺、萘乙二胺,于波长 545nm 处测定吸光度 A 值。以内毒素标准品浓度为横坐标,吸光度 A 值为纵坐标,绘制标准曲线,求得直线回归方程。采集的龈沟液样本解冻后加入去热源水 1ml 在康氏振荡器上充分振荡 1h,然后离心 15min,吸取上清液 0.1ml 置 100°C 水浴加热 10min,用上法显色后测其吸光度 A 值,根据标准曲线或回归方程得出其内毒素量。为保证实验结果的准确性,实验中凡与鲎试剂接触的器件均需去热源处理。

1.2.5 龈下菌斑细菌的分离培养和鉴定[4] 将采集的菌斑样本在旋涡振荡器上振荡 1min,系列 10 倍稀释,选择适当稀释度的菌斑液 0.1ml,均匀涂布在 BHI-S 血琼脂培养基上,置于厌氧培养箱内 (DY-Ⅱ型, 浙江义乌冷冻机械厂),80%氮气,10%氢气,10%二氧化碳大气条件下,37°C 培养 72h,取出完成菌落计数(用 CFU/ml 的对数值表示)。挑取单个菌落增菌,分别进行需氧和厌氧培养,选取厌氧菌进行鉴定。依据 Bergey's 细菌学鉴定手册[5],根据厌氧菌形态、革兰氏染色性质、菌落特征、生化反应结果对主要细菌进行鉴定并分类,计算主要细菌的检出率。

1.3 统计处理

采用 SPSS 10.0 统计软件进行统计分析。

2 结 果

2.1 患牙治疗前后龈沟液内毒素量

患牙治疗前后龈沟液内毒素量比较见表 1。由表 1 可见,三组患牙治疗前龈沟液内毒素量(基线值)比较无显著性差异($P>0.05$);治疗后三组患牙龈沟液内毒素量较治疗前明显降低($P<0.05$),实验组龈沟液内毒素量明显低于阴性对照组($P<0.05$)。

2.2 患牙治疗前后龈下菌斑的菌落计数

患牙治疗前后龈下菌斑的菌落计数见表 2。由表 2 可见,三组患牙治疗前总细菌数无显著性差异($P>0.05$);治疗后三组患牙龈下菌斑总细菌数较治疗前明显降低($P<0.05$),且实验组总细菌数明显低于阴性对照组($P<0.05$)。治疗前三组菌群组成基本相似,以 G^-杆菌为主,G^+球菌较少,三组间差异无显著性($P>0.05$);治疗后三组均为 G^+球菌数增加,G^-杆菌减少, 与治疗前比较有显著性差异 ($P<0.05$), 且实验组与阴性对照组比较差异有显著性($P<0.05$)。

2.3 患牙治疗前后龈下菌斑内主要细菌检出情况(%)

表 1 各组患牙治疗前后龈沟液内毒素量比较($\bar{x}\pm s$)(Eu/ml)

检测时间	实验组	阴性对照组	阳性对照组
治疗前	3.89±1.85	3.42±1.26	3.65±0.95
治疗后	1.02±0.86	2.10±0.36	1.10±0.57

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 2 各组患牙治疗前后龈下菌斑的菌落计数(对数值)比较($\bar{x} \pm s$)

检测时间	总细菌数		G^+ 球菌		G^- 杆菌	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
实验组	9.07 ± 0.49	6.38 ± 0.36	4.18 ± 0.42	6.29 ± 0.20	7.61 ± 0.32	4.13 ± 0.52
阴性对照组	9.18 ± 0.56	7.64 ± 0.12	4.05 ± 0.34	5.16 ± 0.45	7.70 ± 0.25	5.12 ± 0.14
阳性对照组	9.20 ± 0.61	6.36 ± 0.34	4.28 ± 0.54	6.12 ± 0.20	7.88 ± 0.56	4.56 ± 0.32

表 3 各组患牙治疗前后龈下菌斑内主要细菌检出情况(%)

细菌种类	治疗前检出率			治疗后检出率		
	实验组	阴性对照组	阳性对照组	实验组	阴性对照组	阳性对照组
消化链球菌	30.36	33.93	32.66	8.93	10.71	9.56
放线菌	55.36	53.57	55.89	7.14	21.43	8.89
产黑色素 G^- 杆菌	80.36	78.57	82.65	7.14	28.57	7.99
梭杆菌	67.80	71.42	65.23	8.93	30.36	8.82
不产黑色素 G^- 杆菌	71.42	69.64	72.81	21.43	35.71	22.01

患牙治疗前后龈下菌斑内主要细菌检出情况见表 3。由表 3 可见,治疗后三组各菌群检出率均减少($P<0.05$),其中放线菌和产黑色素 G^- 杆菌减少最多。

3 讨 论

牙周炎是侵犯牙龈和牙周支持组织的慢性炎症性破坏性疾病,是一种微生态失调性疾病[3]。所致的牙周组织破坏主要通过牙周致病菌及其产物的直接破坏和过度的宿主反应所造成的间接破坏两种途径。牙周致病菌为口腔常驻菌群,在健康和疾病状态的牙周组织中均可检出,只是二者的数量、组成比例和菌群检出率不同。大量研究表明,龈下微生物的组成与牙周的健康状况以及牙周疾病的发生发展密切相关。牙周健康部位以高比例的球菌,低比例的杆菌为其特征,而病变部位则与之相反,主要以 G^- 厌氧杆菌为主。本研究中的 156 颗牙周炎患牙治疗前龈下菌斑中细菌组成以 G^- 杆菌为主,G^+ 球菌较少,其中产黑色素 G^- 杆菌检出率较高,与已往研究一致[1]。

牙周基础治疗,特别是龈上洁治术和龈下刮治术,是治疗牙周炎的重要手段。牙周治疗可使病变部位龈下微生物的组成向着健康部位的菌群组成转化[6]。本研究中牙周炎患牙经牙周治疗后龈下菌斑中总细菌数较治疗前明显减少,细菌组成亦发生变化,G^+ 球菌数增加,G^- 杆菌减少,与牙周炎相关的主要细菌的检出率,如产黑色素 G^- 杆菌、放线菌的检出率明显降低。然而传统的洁治、刮治等方法虽能清除龈下微生物,但对深牙周袋和深部软组织有其局限性,因此抗菌药物的应用是治疗的重要环节[7]。大量研究证实洗必泰含漱液具有较好的菌斑控制作用,已在临床使用。但由于其存在易使牙面着色、口感差、粘膜刺激性以及长期使用可能导致口腔正常菌群失调等副作用,其推广应用始终受到限制。口灵(复方茶多酚含漱液)是由天然成分茶多酚为主要原料,替硝唑为辅药,再配以口腔粘膜保护剂、清凉性香料等共同配制而成的广谱抗菌剂。茶多酚是茶叶中含有的多酚类化合物,不仅对口腔主要致龋菌——变形链球菌有抗菌作用,还可减少细菌粘附,降低葡糖基转移酶的活性[8]。研究认为茶多酚对口腔常见牙周病原菌亦有抗菌作用[9]。替硝唑为新一代抗厌氧菌药物,它对龈袋内厌氧微生物有明显抑制和杀灭作用,近年来已被广泛用于牙周病的临床治疗中。本研究中实验组治疗后龈下菌斑总细菌数明显低于阴性对照组,G^- 杆菌数较阴性对照组明显降低,与阳性对照组(洗必泰组)具有相同的作用,且略优于洗必泰组。说明牙周基础治疗合并复方茶多酚漱口液的局部应用比单纯洁刮治更能有效降低龈下菌斑微生物量,特别是 G^- 厌氧菌。茶多酚作为天然绿色药品,不但具有良好的抑菌能力,且具有价廉、来源丰富、安全可靠、无蓄积毒性和遗传毒性等优点,因而用于菌斑控制具有良好的前景。细菌内毒素脂多糖是 G^- 细菌细胞壁的成分,为脂质多糖聚合的大分子物质,具有多种生物学、免疫

维普资讯 http://www.cqvip.com

学及细胞学活性，是一种烈性致炎因子，存在于牙菌斑及龈沟液中，可结合于牙骨质表面，亦可通过龈沟上皮进入牙周结缔组织，引起牙槽骨吸收、破坏，影响成纤维细胞的活力并抑制其对牙根表面的附着，对牙周组成有很高毒性。内毒素被认为是牙周炎症的重要病因之一，在牙周病的发生发展过程中起重要作用[10]。龈沟液是牙周的微环境，研究龈沟液中的各种成分可以揭示宿主反应在牙周组织局部的表现，对了解牙周病病因及监测牙周炎的发生、发展，指导临床治疗均有重要意义[11]。龈沟细菌定量分析表明，G⁻杆菌和球菌的数量或者单 G⁻杆菌的数量与龈沟液中内毒素量显著相关[12]。本研究中牙周炎患牙经治疗后龈下菌斑总细菌数较治疗前明显降低，与牙周炎有关的 G⁻杆菌减少，同时龈沟液内毒素量较治疗前亦降低，且实验组明显低于阴性对照组，表明牙周洁刮治术合并局部药物复方茶多酚漱口液治疗能有效减少龈下菌斑微生物量，降低龈沟液内毒素量，从而提高疗效。

参 考 文 献

[1] Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Microbial composition of supra-and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis[J]. J Clin Periodontol, 2000; 27(10): 722-726.

[2] 李德懿，张国驰，叶 军，等. 口腔内毒素监测牙周病初探[J]. 临床口腔医学杂志，1993; 9(2): 67-71.

[3] 李德懿，主编. 牙周病微生物学[M]. 第 1 版，天津：天津科技翻译出版公司，1994.248.

[4] 肖晓蓉，主编. 口腔微生物学及实用技术[M]. 第 1 版，北京：北京医科大学·协和医科大学联合出版社，1993.131-133.

[5] King NR, Holt JG. Bergey's manual of Systematic bacteriology [J]. Baltimore: Wilkin, 1984; 602-631.

[6] Singletary MM, Crowford JJ, Simpson DM. Darkfield microscopic of subgingival bacteria during periodontal therapy[J]. J Periodontol, 2002; 73(11): 671-679.

[7] Gillettew.Re: Antibiotics and periodontal disease[J]. J Periodontol, 1999; 67(7): 726-730.

[8] 徐竺婷，李鸣宇. 10 种中药有效成分抑制口腔主要致病菌比较[J]. 中国现代应用药学，2000; 17(4): 277-279.

[9] 刘建国，梁文红，杨德琴，等. 茶多酚对牙周主要病原菌的体外抗菌活性研究[J]. 口腔医学，2005; 25(2): 72-74.

[10] Bergamini A, Bolacchi F, Bongiovanni B, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor regulates cytokine production in cultured macrophages through CD14-dependent and independent mechanisms[J]. Immunology, 2001; 102(2): 254-257.

[11] Champagne CM, Buchanan W, Reddy MS, et al. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases[J]. Periodontol, 2000; 31(2): 167-180.

[12] Fine DH, Mendieta C, Barnett ML, et al. Endotoxin levels in periodontally healthy and diseased sites: correlation with levels of gram-negative bacteria[J]. J periodontal, 1992; 63(11): 897-901.

《第三军医大学学报》(半月刊)征订启事

《第三军医大学学报》为国内外公开发行的综合性医药卫生类学术刊物。先后被确定为《中国科技论文统计源期刊》和中国自然科学类核心期刊；并被《俄罗斯文摘杂志(AJ)》和《美国化学文摘(CA)》及国内所有相关收录机构所收录。2003 年及 2005 年分别荣获第二届和第三届国家期刊奖百种重点期刊。

本刊面向国内外征稿，报道医疗、教学、科研工作者在医药科研领域及临床工作中所取得的新理论、新成果、新经验、新技术、新方法。主要栏目设有：专家论坛、基础医学、临床医学、军事医学、预防医学、综述、技术方法、经验交流与个案短篇等。

本刊为半月刊，铜版纸彩色印刷，大 16 开，96 页，每期定价 10.00 元，全年 240.00 元。国内统一刊号：CN51-1095/R，国际标准刊号：ISSN 1000-5404，国内邮发代号：78-91，国外邮发代号：M6529。请及时向当地邮局订阅，漏订读者可直接汇款至我刊编辑部。欢迎订阅，欢迎投稿！

地 址：重庆市高滩岩第三军医大学学报编辑部

邮 编：400038

联系人：王 红，曾 颖

电 话：(023)68752187；(023)68752189

电子信箱：aammt@mail.tmmu.com.cn

http://aammt.tmmu.com.cn