

DOI:10.13350/j.cjpb.230720

• 临床研究 •

成人牙周炎龈沟液厌氧菌感染特点及口腔卫生护理效果分析^{*}

王云,陈叶俊^{**},刘佳佳,张鸯,孙慧

(安徽医科大学附属口腔医院,安徽合肥 230032)

【摘要】 目的 分析本院成人牙周炎患者龈沟液分离厌氧菌分布特点及口腔卫生护理效果。方法 选取76例于本院就诊,由厌氧菌感染引发的牙周炎患者为本次研究对象。治疗前采集患者龈沟液,接种厌氧菌培养基中进行培养分离专性厌氧菌,采用API20a厌氧菌鉴定条鉴定菌种。琼脂稀释法检测临床常用8种抗菌药物对普雷沃菌属厌氧菌的最低抑菌浓度;采用酶联免疫吸附法检测龈沟液白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-23(IL-23)水平。随机选取同期30例牙周健康者为健康对照组,将76例牙周炎患者可分为轻中度牙周炎组和重度牙周炎组。将76例牙周炎患者随机分为对照组和口腔卫生护理组,对照组患者进行牙周系统治疗,口腔卫生护理组同时进行口腔护理,对比两组患者治疗3、6个月后的探针出血百分率(BOPR)、菌斑指数(PLI)。结果 共分离出76株厌氧菌,以中间普雷沃菌(30.26%)、变黑普雷沃菌(18.42%)、牙龈卟啉单胞菌(13.16%)为主。37株普雷沃菌属厌氧菌对阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、克林霉素的耐药率高于20%,对头孢曲松、头孢哌酮、甲硝唑的耐药率低于10%,对头孢匹肟、亚胺培南全部敏感。健康对照组、轻中度牙周炎组、重度牙周炎组龈沟液IL-10水平分别为(729.45±26.30)μg/L、(650.56±15.71)μg/L、(555.86±17.34)μg/L,IL-23水平分别为(6.25±0.27)μg/L、(8.05±0.33)μg/L、(12.35±0.23)μg/L,各组患者龈沟液IL-10、IL-23水平差异有统计学意义($P<0.05$)。护理组与对照组患者治疗前BOPR分别为(60.44±3.81)%、(59.87±2.28)%,治疗前PLI分别为(2.87±0.84)分、(2.82±0.15)分,治疗前差异无统计学意义($P>0.05$)。两组患者治疗3、6个月后BOPR、PLI差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。结论 由厌氧菌引发的成人牙周炎患者龈沟液分离厌氧菌主要为中间普雷沃菌,普雷沃菌属厌氧菌对多种抗菌药物的耐药率均较低。重度牙周炎患者龈沟液IL-10水平呈低表达,IL-23水平呈高表达,牙周炎患者基础治疗上进行口腔卫生护理可以有效提升治疗效果。

【关键词】 牙周炎;龈沟液;厌氧菌;耐药性;口腔卫生护理**【中图分类号】** R378**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1673-5234(2023)07-0844-04

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Jul;18(7):844-847.]

Distribution characteristics of anaerobic bacteria isolated from gingival crevicular fluid in adult periodontitis patients and analysis of oral hygiene care effectiveness

WANG Yun, CHEN Ye-jun, LIU Jiajia, ZHANG Yuan, SUN Hui (Affiliated Stomatology Hospital Of An hui Medical University, Hefei 230032, China)^{* **}

【Abstract】 **Objective** The distribution characteristics of anaerobic bacteria isolated from gingival crevicular fluid of adult periodontitis patients in our hospital and the effectiveness of oral hygiene care were analyzed. **Methods** 76 patients with periodontitis caused by anaerobic bacterial infection who were treated at the Affiliated Stomatological Hospital of An-hui Medical University were selected as the subjects of this study. Before treatment, the patient's gingival crevicular fluid was collected and inoculated into anaerobic culture medium for cultivation and isolation of specific anaerobic bacteria. The strain was identified using API20a anaerobic bacteria identification strip. The agar dilution method was used to detect the minimum inhibitory concentration of 8 commonly used antibiotics against anaerobic bacteria of the *Prevotella* genus in clinical practice. The levels of interleukin-10 (IL-10) and interleukin-23 (IL-23) in the gingival crevicular fluid were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Randomly select 30 healthy individuals with periodontitis during the same period as the healthy control group. According to relevant standards, 76 patients with periodontitis can be divided into mild to moderate periodontitis group and severe periodontitis group. 76 patients with periodontitis were randomly divided into a control group and an oral hygiene care group. The control group received periodontal system treatment, while the o-

^{*} 【基金项目】 安徽医科大学校科研基金立项资助项目(No. 2020xkj149)。^{**} 【通讯作者】 陈叶俊,E-mail:chiquin200111@163.com

【作者简介】 王云(1980-),女,安徽合肥人,本科,主管护师,主要研究方向:口腔临床护理、医院感染控制与管理。

E-mail:wuyuepi19811215@163.com

ral hygiene care group also received oral care. The probe bleeding percentage (BOPR) and plaque index (PLI) of the two groups of patients were compared after 3 and 6 months of treatment. **Results** 76 strains of anaerobes were isolated, mainly *Prevotella intermedia* (30.26%), *Prevotella nigricans* (18.42%) and *Porphyromonas gingivalis* (13.16%). 37 strains of *Prevotella anaerobes* were more than 20% resistant to amoxicillin, amoxicillin/clavulanic acid and clindamycin, less than 10% resistant to ceftriaxone, cefoperazone and metronidazole, and all were sensitive to cefepime and imipenem. The levels of IL-10 in gingival crevicular fluid of the healthy control group, mild to moderate periodontitis group, and severe periodontitis group were (729.45±26.30) µg/L, (650.56±15.71) µg/L, (555.86±17.34) µg/L. The levels of IL-23 were (6.25±0.27) µg/L, (8.05±0.33) µg/L, (12.35±0.23) µg/L. The levels of IL-10 and IL-23 in the gingival crevicular fluid of patients in each group showed statistically significant differences ($P<0.05$). The pretreatment BOPR of patients in the nursing group and the control group were (60.44±3.81)% and (59.87±2.28)%, respectively, and the pre-treatment PLI was (2.87±0.84) points and (2.82±0.15) points, respectively. There was no statistically significant difference before treatment ($P>0.05$). There was a statistically significant difference in BOPR and PLI between the two groups of patients after 3 and 6 months of treatment ($P<0.05$). **Conclusion** The anaerobic bacteria isolated from the gingival crevicular fluid of adult periodontitis patients caused by anaerobic bacteria were mainly intermediate *Prevotella*, and the resistance rate of *Prevotella* anaerobic bacteria to various antibiotics was relatively low. Patients with severe periodontitis have low levels of IL-10 expression and high levels of IL-23 expression in the gingival crevicular fluid. Oral hygiene care in addition to basic treatment for periodontitis patients can effectively improve their treatment effectiveness.

【Key words】 periodontitis; gingival crevicular fluid; anaerobic bacteria; drug resistance; oral health care

牙周炎作为常见牙周疾病之一,主要由牙齿周围生物膜或牙菌斑内病原微生物引发牙周结缔组织及牙槽骨丧失的炎性疾病,35岁后发病率显著增高^[1-2]。有关研究发现,慢性牙周炎患者并发心脑血管疾病的风险高于口腔健康人群,因此,牙周炎患者的早期诊断及病情评估具有重要意义^[3]。牙周炎局部炎症微环境及炎性分子是导致牙周组织炎症、进行性附着丧失、骨吸收的原因之一,其中白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)、白介素-23(interleukin-23, IL-23)与牙周炎发病密切相关^[4]。通过对患者进行口腔卫生护理及口腔健康教育,可以增强患者对牙周炎疾病的认知,培养患者掌握有效口腔护理方法,对牙周炎的防治具有重要作用^[5]。本研究通过分析76例厌氧菌感染牙周炎患者的临床资料,分析患者龈沟液分离厌氧菌分布特点及口腔卫生护理效果,结果报告如下。

材料与方法

1 研究对象

选取76例于安徽医科大学附属口腔医院就诊,由厌氧菌感染引发的牙周炎患者。年龄18~72(46.72±5.59)岁。男性患者45例,女性患者31例。病程4~24(9.78±2.84)个月。纳入标准:①符合《2018年牙周病和植体周病国际新分类简介》关于成人牙周炎的诊断标准,患者均有不同程度牙龈出血、牙床附着丧失等症状^[6];②6个月内未接受系统性牙周治疗。排除标准:①临床资料缺失;②孕妇及哺乳期女性;③合并糖尿病者;④合并免疫功能缺陷者;⑤合并口腔黏膜炎症或假牙、正畸器具携带者。本研究经安徽医科大学附属口腔医院伦理委员会审核通过,参与研究者均

签署知情同意书。

2 标本采集

于患者接受治疗前,由专业医护人员指导患者使用3% H₂O₂漱口,然后采用一次性无菌纸尖采集患者龈沟液。并将采集后的无菌纸尖置于运输液内,于2 h内送检。

3 厌氧菌培养与鉴定

将采集标本接种于10%脱纤维羊血厌氧菌培养基中,将培养基置于厌氧袋中密封后,于专性厌氧环境(N₂ 85%、H₂ 10%、CO₂ 5%)条件下,36℃培养2~3 d。观察培养基上细菌的生长状况,记录性状、颜色、产气、镜检等。挑取饱满菌落进行2次耐氧实验,分离获得专性厌氧菌,采用API20a厌氧菌鉴定条(法国梅里埃)进行菌种鉴定。

4 药敏试验

采用琼脂稀释法检测临床常用8种抗菌药物对普雷沃菌属厌氧菌的最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC),包括阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、头孢曲松、头孢哌酮、头孢吡肟、亚胺培南、克林霉素、甲硝唑。将受试菌种接种于10%脱纤维羊血厌氧菌培养基中,37℃培养2~3 d。挑取饱满菌落,使用无菌Wikins-Chalgren厌氧肉汤制成0.5麦氏浊度菌悬液。依据美国临床实验室标准协会推荐的琼脂稀释法进行药敏试验,药敏结果判断标准参考美国临床实验室标准协会2021版标准^[7]。

5 龈沟液IL-10、IL-23水平检测

随机选取同期30例牙周健康者为健康对照组,按照文献[8]标准将76例牙周炎患者可分为轻中度牙周

炎组($n=44$)，重度牙周炎组($n=32$)。将采集患者龈沟液的一次性无菌纸尖浸润于PBS缓冲液内，12 000 r/min(离心半径10.3 cm)离心5 min后取上清液，采用酶联免疫吸附法检测龈沟液IL-10、IL-23水平，操作过程依据试剂盒(武汉博士德公司)说明书进行。

6 口腔护理效果对比

将76例牙周炎患者随机分为两组，每组患者38例，一组为对照组，另一组为口腔卫生护理组。两组患者的牙周炎疾病程度、治疗前探针出血百分率(BOPR)、菌斑指数(PLI)对比差异不具有统计学意义。对照组患者进行龈上洁治、龈下刮治的牙周系统治疗。口腔卫生护理组在进行牙周系统治疗的基础上，同时进行口腔护理，包括口腔健康教育，宣教正确刷牙方法，宣教正确使用牙线及间隙刷。对比两组患儿治疗3个月、6个月后的探针出血百分率、菌斑指数，以评价两组患者的治疗效果。

7 统计学分析

采用SPSS 26.0统计分析本次研究数据，包括患者厌氧菌分布情况、普雷沃菌属厌氧菌耐药性、不同病情程度牙周炎患者龈沟液IL-10、IL-23水平及不同分组患者治疗前后的探针出血百分率、菌斑指数，计量资料采用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示，组间比较采用t检验，多组间对比采用F检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 厌氧菌分布情况

患者龈沟液共分离出76株厌氧菌。其中，中间普雷沃菌23株(30.26%)，变黑普雷沃菌14株(18.42%)，牙龈卟啉单胞菌10株(13.16%)，具核梭杆菌8株(10.53%)，微小消化链球菌6株(7.89%)，大消化链球菌5株(6.58%)，黄褐二氧化碳嗜纤维菌4株(5.26%)，伴放线嗜血杆菌2株(2.63%)，小韦荣球菌2株(2.63%)，福赛斯坦纳菌1株(1.32%)，黏性放线菌1株(1.32%)。

2 普雷沃菌属厌氧菌耐药性分析

37株普雷沃菌属厌氧菌对阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、克林霉素的耐药率高于20%，分别为29.73%、27.03%和21.62%，对头孢曲松、头孢哌酮、甲硝唑的耐药率较低，分别为5.41%、2.70%和8.11%，对头孢吡肟、亚胺培南全部敏感(表1)。

3 不同病情程龈沟液IL-10、IL-23水平对比

健康对照组龈沟液IL-10水平为(729.45±26.30)μg/L，轻中度牙周炎组龈沟液IL-10水平为(650.56±15.71)μg/L，重度牙周炎组龈沟液IL-10水平为(555.86±17.34)μg/L，差异有统计学意义($P < 0.05$)。健康对照组龈沟液IL-23水平为(6.25±0.27)μg/L，轻中度牙周炎组龈沟液IL-23水平为(8.05±0.33)μg/L，重度牙周炎组龈沟液IL-23水平为(12.35±0.23)μg/L，差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

(0.27) μg/L，轻中度牙周炎组龈沟液IL-23水平为(8.05±0.33) μg/L，重度牙周炎组龈沟液IL-23水平为(12.35±0.23) μg/L，差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

表1 普雷沃菌属厌氧菌耐药性分析
Table 1 Analysis of antibiotic resistance of anaerobic bacteria in Prevotella genus

抗菌药物 Antibiotics	MIC 折点(μg/mL) MIC folding point		MIC ₅₀	MIC ₉₀	耐药率(%) Drug resistance rate
	S	R			
阿莫西林	≤1	≥4	0.5	8	29.73
阿莫西林/克拉维酸	≤2	≥8	0.5	8	27.03
头孢曲松	≤16	≥64	2	8	5.41
头孢哌酮	≤16	≥64	2	8	2.70
头孢吡肟	≤32	≥128	4	16	0.00
亚胺培南	≤4	≥16	0.125	2	0.00
克林霉素	≤2	≥8	0.25	16	21.62
甲硝唑	≤8	≥32	8	64	8.11

表2 不同病情程度牙周炎患者龈沟液IL-10、IL-23水平对比($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of IL-10 and IL-23 levels in gingival crevicular fluid of patients with different degrees of periodontitis

组别 Group	例数 No.	IL-10(μg/L)	IL-23(μg/L)
健康对照组	30	729.45±26.30	6.25±0.27
轻中度牙周炎组	44	650.56±15.71 ^a	8.05±0.33 ^a
重度牙周炎组	32	555.86±17.34 ^{ab}	12.35±0.23 ^{ab}
<i>F</i>		604.724	3799.802
<i>P</i>		0.000	0.000

注：与对照组对比，^a $P < 0.05$ ，与轻中度牙周炎组对比，^b $P < 0.05$ 。

4 口腔卫生护理效果比较

护理组患者与对照组患者治疗前BOPR分别为(60.44±3.81)%、(59.87±2.28)%，治疗前PLI分别为(2.87±0.84)分、(2.82±0.15)分，两组患者治疗前BOPR、PLI差异均无统计学意义($P > 0.05$)。护理组患者与对照组患者治疗3个月后BOPR分别为(7.76±1.13)%、(17.98±1.54)%，治疗3个月后PLI分别为(1.12±0.14)分、(1.94±0.10)分，两组患者治疗3个月后BOPR、PLI差异均有统计学意义($P < 0.05$)。护理组患者与对照组患者治疗6个月后BOPR分别为(7.80±1.12)%、(27.90±1.53)%，治疗3个月后PLI分别为(1.22±0.13)分、(2.22±0.19)分，两组患者治疗6个月后BOPR、PLI差异均有统计学意义($P < 0.05$)(表3)。

讨 论

口腔内微生物以结构组织生物膜的形式附着于黏膜及牙齿表面，一旦菌群失衡会导致多种口腔疾病，如牙周炎、龋齿^[9]。牙周炎主要由牙菌斑作用于牙面上，对牙周进行持续性刺激，引发牙龈炎症、牙周袋形成、

牙槽骨松动等^[10]。

表3 口腔卫生护理效果对比(±s)

Table 3 Comparison of Oral Health Care Effectiveness

组别 Group	例数 No.	治疗前 Before		治疗3个月 Treatment for 3 months		治疗6个月 Treatment for 6 months	
		BOPR(%)	PLI	BOPR(%)	PLI	BOPR(%)	PLI
护理组	38	60.44±3.81	2.87±0.84	7.76±1.13	1.12±0.14	7.80±1.12	1.12±0.13
对照组	38	59.87±2.28	2.82±0.15	17.98±1.54	1.94±0.10	27.90±1.53	2.22±0.19
t		0.785	0.407	-33.024	-29.602	-65.332	-28.893
P		0.435	0.685	0.000	0.000	0.000	0.000

本次研究中 76 例厌氧菌感染牙周炎患者龈沟液共分离出 76 株厌氧菌, 主要为中间普雷沃菌(30.26%)、变黑普雷沃菌(18.42%)、牙龈卟啉单胞菌(13.16%)。李静文等^[11]关于成人牙周炎患者龈沟液分离厌氧菌分布及其对药物敏感性研究发现, 牙周炎患者龈沟液分离厌氧菌主要为中间普氏菌、变黑普氏菌等, 与本次研究结果一致。

本次研究采用琼脂稀释法检测临床常用 8 种抗菌药物对 37 株普雷沃菌属厌氧菌的最低抑菌浓度(包括阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、头孢曲松、头孢哌酮、头孢吡肟、亚胺培南、克林霉素、甲硝唑), 普雷沃菌属厌氧菌对阿莫西林、阿莫西林/克拉维酸、克林霉素的耐药率高于 20%, 对头孢曲松、头孢哌酮、甲硝唑的耐药率低于 10%, 对头孢吡肟、亚胺培南全部敏感。李静文等^[11]研究发现, 普氏菌属对阿莫西林的敏感率为 61.3%, 对甲硝唑全部敏感, 对多西环素、莫西沙星、阿奇霉素极为敏感。临床针对牙周炎患者的治疗方法主要为机械治疗与口服抗菌药物或涂抹抗菌药物为主的辅助治疗, 目前, 多西环素、米诺环素凝胶在口腔科应用日益广泛^[12]。硝基咪唑类甲硝唑对厌氧菌具有较好的抗菌效果, 甲硝唑分子中的硝基在无氧条件下还原为氨基, 可抑制 DNA 合成, 从而干扰厌氧菌繁殖。

76 例牙周炎患者按照不同病情程度, 可分为轻中度牙周炎 44 例, 重度牙周炎 32 例, 同时选取同期口腔健康者 30 例。随着牙周炎病情加重, 患者龈沟液 IL-10 呈低水平表达, IL-23 呈高水平表达。三组患者龈沟液 IL-10、IL-23 水平差异明显。颜孟雄等^[13]研究发现, 牙龈炎组、慢性牙周炎组 IL-10 水平低于对照组, IL-23 水平高于对照组。有关研究发现^[14], IL-10 与高加索人和亚洲人的牙周炎易感性有关, IL-23 可发挥促炎作用而影响机体免疫反应。

将 76 例牙周炎患者随机分为两组, 每组患者 38 例, 一组为对照组, 另一组为口腔卫生护理组。对照组患者进行牙周系统治疗, 口腔卫生护理组在进行牙周系统治疗的基础上, 同时进行口腔护理。两组患者治疗前 BOPR、PLI 无差异, 治疗 3 个月和 6 个月后, 两组 BOPR、PLI 差异明显, 与缪亚琴等^[15]研究结果一

致。本次研究中, 护理组患者在治疗 3 个月后, BOPR 水平显著降低, 6 个月后治疗效果保持较好。对照组患者在治疗 3 个月后, BOPR 水平降低, 6 个月后 BOPR 水平升高, 治疗效果逐渐减弱。在牙周系统治疗基础上进行口腔护理, 可以有效提升牙周炎患者的治疗效果。对牙周炎患者进行口腔卫生护理健康宣讲, 可以帮助患者了解牙周炎病因、自身病情程度, 培养良好的牙齿清洁习惯, 对患者探针出血率及菌斑水平控制具有重要意义。

【参考文献】

- [1] Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions[J]. Ann Periodontol, 2019, 4(2): 3-8.
- [2] Kinane DF, Stathopoulou PG, Paoaoanou PN. Periodontal diseases[J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3(1):17038.
- [3] Cardoso EM, Reis C, Manzanares Cespedes MC. Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases[J]. Postgrad Med, 2018, 130(1):98-104.
- [4] Heidari Z, Moudi B, Mahmoudzadeh SH. Immunomodulatory factors gene polymorphisms in chronic periodontitis: An overview [J]. BMC Oral Health, 2019, 19(1):29.
- [5] 马丽辉, 吴勇, 朱丽红, 等. 椅旁健康教育对慢性牙周炎患者维护期口腔卫生状况的影响[J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2014(6):46-48.
- [6] 孟焕新. 2018 年牙周病和种植周病国际新分类简介[J]. 中华口腔医学杂志, 2019, 54(2):73-78.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [S]. M100-S31. Wayne, PA: CLSI, 2021.
- [8] Holtfreter B, Albandar JM, Dietrich T, et al. Standards for reporting chronic periodontitis prevalence and severity in epi? demiologic studies: Proposed standards from the Joint EU/USA Periodontal Epidemiology Working Group [J]. J Clin Periodontol, 2015, 42(5):407-412.
- [9] Marsh PD, Head DA, Devine DA. Dental plaque as a biofilm and a microbial community: implications for treatment[J]. BMC Oral Health, 2015, 57(4):185-191.
- [10] Bazyar H, Gholinezhad H, Moradi L, et al. The effects of melatonin supplementation in adjunct with non-surgical periodontal therapy on periodontal status, serum melatonin and inflammatory markers in type 2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis: a double-blind, placebo-controlled trial[J]. Inflammopharmacology, 2019, 27(1):67-76.
- [11] 李静文, 徐蒙, 汪安, 等. 40 例成人牙周炎患者龈沟液分离厌氧菌分布及其对药物敏感性[J]. 中国感染与化疗杂志, 2023, 23(2):211-216.
- [12] Cosgarea R, Eick S, Batori-andronescu I, et al. Clinical and microbiological evaluation of local doxycycline and antimicrobial photodynamic therapy during supportive periodontal therapy: a randomized clinical trial[J]. Antibiotics (Basel, Switzerland), 2021, 10(3):277-282.
- [13] 颜孟雄, 黄婧, 杨再波. 慢性牙周炎龈沟液 IL-10、IL-23、MCP-1 与牙周指数的相关性分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(2):255-258.
- [14] Wang Z, Li Y, Zhou Y, et al. Association between the IL-10 rs1800872 polymorphisms and periodontitis susceptibility: A meta-analysis[J]. Medicine(Baltimore), 2019, 98(40):e17113.
- [15] 缪亚琴, 许妍, 虞凤, 等. 牙周护理干预对慢性牙周炎维护期的效果评价[J]. 实用临床护理学电子杂志, 2019, 4(19):71-73.

【收稿日期】 2023-02-14 【修回日期】 2023-05-01