

DOI:10.13350/j.cjpb.241016

• 临床研究 •

牙周源性牙周牙髓联合病变病原菌分布及临床特征分析

董楠¹, 刘霞^{1*}, 李强²

(1. 沧州医学高等专科学校基础护理教研室, 河北沧州 061001; 2. 沧州市中心医院口腔颌面外科)

【摘要】 目的 探析牙周源性牙周牙髓病变患者病原菌分布特点及不同病情程度患者龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平, 为临床研究提供参考依据。方法 选取 65 例牙周源性牙周牙髓联合病变患者为本次研究对象(病变组), 同期进行正畸的 65 例患者为对照组, 采集患者牙周袋及牙根管标本, 采用荧光定量 PCR 技术检测微生物种类, 分析患者病原菌分布情况。按照病情程度将患者分组后, 采集患者龈沟液, 对比不同分组患者龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平。结果 65 例病变组病原菌检出率为 58.26%(67/115), 对照组为 15.65%(18/115), 两组检出率差异有统计学意义($P < 0.05$)。病变组患牙周袋病原菌检出率 100%, 牙根管牙髓病原菌检出率 50.75%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。对照组牙周袋病原菌检出率 100%, 牙根管牙髓病原菌检出率 11.11%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。病变组患牙周弯曲菌属、放线菌属、梭杆菌属、肠杆菌科、嗜血杆菌属、奈瑟菌属、棒状杆菌属的分布率分别为 71.64%、52.24%、80.60%、34.33%、25.37%、1.49%、29.85%; 对照组患牙周弯曲菌属、放线菌属、奈瑟菌属的分布率分别为 27.78%、22.22%、72.22%, 两组患者各菌属分布率差异有统计学意义($P < 0.05$)。牙周源性牙周牙髓病变与感染弯曲杆菌属、放线菌属、梭杆菌属、肠杆菌科、嗜血杆菌属、棒状杆菌属呈正相关, 与奈瑟菌属呈负相关($P < 0.05$)。轻度患者组龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 分别为(6.40 \pm 1.45)ng/mL、(9.45 \pm 2.12)ng/mL、(5.28 \pm 1.77) $\times 10^7$ EU/L, 中度患者组分别为(8.25 \pm 1.90)ng/mL、(12.49 \pm 2.90)ng/mL、(7.60 \pm 2.22) $\times 10^7$ EU/L, 重度患者组分别为(10.27 \pm 2.42)ng/mL、(15.20 \pm 3.78)ng/mL、(11.24 \pm 2.29) $\times 10^7$ EU/L。随着患者病情的加重, 患者龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平呈上升趋势。结论 牙周源性牙周牙髓联合病变患者病原菌检出率显著升高, 发病情况与口腔病原菌感染密切相关。患者龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平与病情具有相关性, 随着病情发展加重而升高。

【关键词】 牙周源性牙周牙髓联合病变; 病原菌; 白细胞介素-1 β ; 超敏 C 反应蛋白; 内毒素

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)10-1198-04

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Oct.; 19(10):1198-1201.]

Distribution and clinical characteristics of pathogens in combined periodontal and pulp lesions caused by periodontitis

DONG Nan¹, LIU Xia¹, LI Qiang² (1. Basic Nursing Department, Cangzhou Medical College, Cangzhou 061001, Hebei, China; 2. Cangzhou Central Hospital)*

【Abstract】 **Objective** The distribution characteristics of pathogens in patients with periodontal and pulp disease and the levels of IL-1 β , hs CRP, and LPS in gingival crevicular fluid of patients with different degrees of disease were explored, for providing reference for clinical research. **Methods** 65 patients with combined periodontal and pulp lesions treated in our dental department were selected as the study subjects (lesion group), while 65 patients who underwent orthodontic treatment in our hospital during the same period were selected as the control group. The periodontal pocket and root canal specimens were collected from patients. The microbial species were detected by fluorescence quantitative PCR technology. The distribution of pathogenic bacteria in patients were analyzed. After grouping patients according to the severity of their condition, the their gingival crevicular fluid were collected to compare the levels of IL-1 β , hs CRP, and LPS in the gingival crevicular fluid of patients in different groups. **Results** The detection rate of pathogenic bacteria in the lesion group of 65 cases was 58.26% (67/115), and that in the control group was 15.65% (18/115). The difference in the detection rate between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). The detection rate of pathogenic bacteria in the periodontal pocket of the affected teeth in the lesion group was 100%, and the detection rate of pathogenic bacteria in the dental pulp of the root canal was 50.75%. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). The detection rate of pathogenic bacteria in the periodontal pocket of the control group was 100%, and the detection rate of pathogenic bacteria in the dental pulp of the root canal was 11.11%. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). The distribution rates of *Campylobacter*, *Actinobacteria*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*, *Haemophilus*,

* **【通讯作者】** 刘霞, E-mail: 627986383@qq.com

【作者简介】 董楠(1982-), 女, 河北河间人, 硕士, 讲师, 研究方向: 护理教育。E-mail: wdjlrnn@163.com

Neisseria, and *Corynebacterium* in the lesion group were 71.64%, 52.24%, 80.60%, 34.33%, 25.37%, 1.49%, and 29.85%, respectively. The distribution rate of *Campylobacter*, *Actinobacteria*, and *Neisseria* in the control group was 27.78%, 22.22%, and 72.22%, respectively. The differences in the distribution rates of each genus between the two groups were statistically significant ($P < 0.05$). Periodontal periodontal and pulp lesions were positively correlated with infections of the genera *Campylobacter*, *Actinobacteria*, *Clostridium*, *Enterobacteriaceae*, *Haemophilus*, and *Corynebacterium*, while negatively correlated with *Neisseria* ($P < 0.05$). The levels of IL-1 β , hs-CRP and LPS in the gingival crevicular fluid of the mild patient group were (6.40 \pm 1.45) ng/mL, (9.45 \pm 2.12) ng/mL, and (5.28 \pm 1.77) \times 10⁷ EU/L. Those of the moderate patient group were (8.25 \pm 1.90) ng/mL, was (12.49 \pm 2.90) ng/mL, and (7.60 \pm 2.22) \times 10⁷ EU/L. And those of the lesion patient group were (10.27 \pm 2.42) ng/mL, hs CRP was (15.20 \pm 3.78) ng/mL, and LPS was (11.24 \pm 2.29) \times 10⁷ EU/L. As the patient's condition worsens, the levels of IL-1 β , hs CRP, and LPS in the gingival crevicular fluid show an upward trend. **Conclusion** The detection rate of pathogens in patients with combined periodontal and pulp lesions was significantly increased, and the incidence was closely related to oral pathogen infection. The levels of IL-1 β , hs CRP, and LPS in the gingival crevicular fluid of patients were correlated with their condition and increase as the condition worsens.

【Keywords】 periodontal associated periodontal and pulp lesions; pathogenic bacteria; interleukin-1 β ; hypersensitivity C-reactive protein; endotoxin

牙周牙髓联合病变是指同一个牙齿上同时发生牙周病变与牙髓病变,多发生于牙周病或根尖周病晚期,导致多处牙周组织破坏及牙髓病变的综合征,是造成牙齿缺失的重要原因之一^[1]。牙周源性牙周牙髓联合病变主要是牙周袋内的微生物通过根尖孔、根管侧支侵入牙髓后引发感染,造成牙髓的慢性炎症甚至坏死,很多患者早期诊断不及时或治疗不规范导致病情未得到及时控制,影响患者生活质量^[2-3]。牙周源性牙周牙髓联合病变患者发病人群主要为40岁以上中老年人,随着我国人口老龄化加速、老年人口规模扩大,牙周源性牙周牙髓联合病变发病率呈明显上升趋势,临床治疗效果不佳,对患者身心健康造成较大影响^[4]。牙周源性牙周牙髓联合病变患者牙周、牙髓组织感染病变主要为厌氧菌为主的混合性感染,患牙牙周袋内细菌分布情况与根管内细菌存在相似之处,但是具有一定差异性^[5]。

本次研究以口腔科牙周源性牙周牙髓联合病变患者为研究对象,同时选取正畸的患者为对照组,探析牙周源性牙周牙髓病变患者病原菌分布特点及不同病情程度患者龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平,以期为临床研究提供参考依据,结果报道如下。

材料与方 法

1 研究对象

选取沧州市中心医院口腔科接诊的65例牙周源性牙周牙髓联合病变患者,共115颗患牙为研究对象(病变组),其中男性37例,女性28例,年龄18~79(35.73 \pm 12.65)岁。符合《牙周病学》相关诊断标准^[6]:①综合患者疾病史、口腔专科检查及影像学检查综合诊断;②牙周袋探诊深度 \geq 6 mm;③冠根完好,无

引发牙髓炎的破损、牙隐裂、深龋的牙体硬组织疾病;④松动度达II度以上;⑤X线影像学检查显示病变位点牙槽骨吸收 \geq 根长2/3。排除标准:①合并糖尿病患者;②合并全身系统疾病者;③患牙因外伤造成者;④治疗前近3个月内采用抗生素治疗者;⑤合并牙髓治疗史者;⑥口腔检查显示未牙根纵裂者。同时选取同期医院进行正畸的65例115颗同牙位患者为对照组,其中男性39例,女性26例,年龄17~75(37.25 \pm 11.73)岁。两组患者性别、年龄差异无统计学意义($P > 0.05$)。

本研究获本院伦理委员会审核批准,所有患者同意参与本次研究,均已签署知情同意书。

2 标本采集

2.1 牙周袋标本采集 进行采集前,清理患者口腔内食物残渣、软垢,同时清除牙龈上菌斑,然后使用生理盐水进行漱口。准备无菌棉卷对采样牙齿进行隔离隔湿,牙周探诊探查患牙牙周袋至根尖的最深位点,使用一次性镊子夹用吸潮纸纸尖,轻轻放置于牙周袋深处,停留15 s,吸取龈沟液。将吸潮纸纸尖剪下后置入含有PBS液的离心管内,于-20 $^{\circ}$ C中保存。同时采用一次性无菌刮治器刮取患者牙根菌斑,置于灭菌的PBS液中,于-20 $^{\circ}$ C中保存。

2.2 牙根管标本采集 对患者患牙及周围牙齿使用3%过氧化氢溶液进行清洁后,进行标本采集。患者患牙拔出后,于根尖1/3处进行截断。未形成牙髓者,先用生理盐水蘸湿无菌锉,然后采用无菌锉对牙根尖1/3处根管后壁进行反复锉。采用无菌吸潮纸纸尖放入根管内,停留30s后取出。将吸潮纸纸尖剪下,作为根管标本,置入灭菌的EP管内,于-20 $^{\circ}$ C中保存。

3 标本检测

将采集的标本解冻后,8 000r/min(离心半径 8.7cm)离心 5 min,去上清液,采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒(购自天根生化科技有限公司),提取牙周袋标本与牙根管标本 DNA。参考人类口腔微生物数据库,使用 Primer Quest 对口腔常见微生物进行引物设计^[7]。将 DNA 模板与不同引物进行扩增后,采用琼脂糖凝胶对 PCR 产物进行电泳,电泳结果采用 ImageLab 成像系统分析拍照。使用 GenBank 对扩增产物进行分析对比,扩增产物与目的细菌具有 100% 同源,说明标本中含有该目的细菌。

4 龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平测定

根据患者临床附着水平(CAL),将 65 例病变组分为轻度、中度、重度患者^[8]。嘱患者进行清水漱口后,采用无菌棉卷隔湿,轻吹牙龈后,将无菌滤纸条插入牙体不同龈沟位置,停留 30 s 后取出。将同一患者多处龈沟液滤纸置入微离心管内,采集龈沟液。5 000 r/min(离心半径 8.7 cm)离心 3 min,取上清液。采用酶联免疫吸附法检测龈沟液白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)水平,采用化学发光免疫法检测龈沟液超敏 C 反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP)水平,采用鲎试剂法检测龈沟液内毒素(Lipolysaccharide, LPS)水平。操作步骤严格按照仪器、试剂盒说明书执行,由同一检查人员进行测定。

5 统计分析

采用 SPSS 26.0 对本次研究数据进行分析处理,组间对比采用 χ^2 或 t 检验,采用斯皮尔曼相关性分析法分析的不同病原菌与牙周源性牙周牙髓病变相关性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 病原菌检出情况

65 例牙周源性牙周牙髓联合病变患者 115 颗患牙中,67 颗检出病原菌,检出率 58.26%(67/115);65 例对照组患者 115 颗牙齿中,18 颗检出病原菌,检出率 15.65%(18/115),病变组检出率显著高于对照组($\chi^2 = 44.806, P < 0.05$)。病变组患者中,67 颗检出病原菌的患牙中,67 颗患牙牙周袋检出病原菌,检出率 100%(67/67),34 颗患牙牙根管牙髓检出病原菌,检出率为 50.75%(34/67),差异有统计学意义($\chi^2 = 43.782, P < 0.05$)。对照组患者中,18 颗检出病原菌的患牙中,18 颗患牙牙周袋检出病原菌,检出率为 100%(18/18),2 颗患牙牙根管牙髓检出病原菌,检出率为 11.11%(2/18),差异有统计学意义($\chi^2 = 28.800, P < 0.05$)。

2 病原菌分布特点

病变组患牙中,弯曲菌属的分布率为 71.64%

(48/67),放线菌属的分布率为 52.24%(35/67),梭杆菌属的分布率为 80.60%(54/67),肠杆菌科的分布率为 34.33%(23/67),嗜血杆菌属的分布率为 25.37%(17/67),奈瑟菌属的分布率为 1.49%(1/67),棒状杆菌属的分布率为 29.85%(20/67)。对照组患牙中,弯曲菌属的分布率为 27.78%(5/18),放线菌属的分布率为 22.22%(4/18),奈瑟菌属的分布率为 72.22%(13/18),未检出梭杆菌属、肠杆菌科、嗜血杆菌属、棒状杆菌属。两组患者,弯曲菌属、放线菌属、梭杆菌属、肠杆菌科、嗜血杆菌属、奈瑟菌属、棒状杆菌属的分布率差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

3 不同病原菌与牙周源性牙周牙髓病变相关性分析

将病变组与对照组患者的患牙进行编号,以牙周源性牙周牙髓病变(1=是,0=否)为因变量 X,对弯曲杆菌属、放线菌属、梭杆菌属、肠杆菌科、嗜血杆菌属、奈瑟菌属、棒状杆菌属进行赋值(1=阳性,0=阴性)为自变量 Y,进行斯皮尔曼相关性分析。结果显示,牙周源性牙周牙髓病变与感染弯曲杆菌属、放线菌属、梭杆菌属、肠杆菌科、嗜血杆菌属、棒状杆菌属呈正相关($R = 0.399, 0.318, 0.500, 0.317, 0.283, 0.300$, 均 $P < 0.05$),与奈瑟菌属呈负相关($R = -0.218, P < 0.05$)。

4 不同病情程度患者龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平对比

65 例牙周源性牙周牙髓病变患者按照病情程度,12 例为轻度患者,37 例为中度患者,16 例为重度患者。轻度患者组龈沟液 IL-1 β 为(6.40 \pm 1.45) ng/mL,hs-CRP 为(9.45 \pm 2.12) ng/mL,LPS 为(5.28 \pm 1.77) $\times 10^7$ EU/L,中度患者组龈沟液 IL-1 β 为(8.25 \pm 1.90) ng/mL,hs-CRP 为(12.49 \pm 2.90) ng/mL,LPS 为(7.60 \pm 2.22) $\times 10^7$ EU/L,重度患者组龈沟液 IL-1 β 为(10.27 \pm 2.42) ng/mL,hs-CRP 为(15.20 \pm 3.78) ng/mL,LPS 为(11.24 \pm 2.29) $\times 10^7$ EU/L。随着患者病情的加重,患者龈沟液 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平呈上升趋势,不同病情程度患者差异有统计学意义($F = 13.520, 12.456, 28.010$, 均 $P < 0.05$)。

讨 论

牙周源性牙周牙髓病变患者的主要病因为多种微生物感染,临床症状主要包括牙周脓肿、钝痛等,深牙周袋是常见的导致发生联合病变的牙周病损^[9]。本次研究中,牙周源性牙周牙髓联合病变患者病原菌检出率为 58.26%,对照组患者病原菌检出率为 15.65%,病变组患者病原菌检出率显著高于对照组患者。病变组患者患牙牙周袋病原菌检出率为 100%,牙根管牙髓病原菌检出率为 50.75%,对照组患者牙周袋病原菌检出率为 100%,牙根管牙髓病原菌检出率为

11.11%。两组患者牙周袋病原菌检出率均显著高于根管牙髓检出率,与应于康等^[10]研究结果一致。

牙周源性牙周牙髓病变患者牙周袋与牙根管牙髓病原菌构成具有一定差异性,牙周致病菌主要为福赛类杆菌,牙根管牙髓优势菌主要为牙髓卟啉单胞菌^[11]。本次研究中,病变组患者弯曲菌属、放线菌属、梭杆菌属、肠杆菌科、嗜血杆菌属、奈瑟菌属、棒状杆菌属的分布率分别为71.64%、52.24%、80.60%、34.33%、25.37%、1.49%、29.85%。对照组患牙弯曲菌属、放线菌属、奈瑟菌属的分布率分别为27.78%、22.22%、72.22%。病变组患者弯曲菌属、放线菌属、梭杆菌属、肠杆菌科、嗜血杆菌属、棒状杆菌属的分布率显著高于对照组,奈瑟菌属分布率显著低于对照组。与王岩莉等^[12]研究结果相近。本次研究,斯皮尔曼相关性分析显示,牙周源性牙周牙髓病变与感染弯曲杆菌属、放线菌属、梭杆菌属、肠杆菌科、嗜血杆菌属、棒状杆菌属呈正相关,与奈瑟菌属呈负相关。与邓卓峰等^[13]研究结果相近,临床上可针对患者病原菌分布特点进行针对性抗菌药物进行治疗,对改善患者预后具有重要意义。

本次研究中,65例牙周源性牙周牙髓病变患者按照病情程度分为轻度患者组、中度患者组、重度感染组。随着患者病情的加重,患者龈沟液IL-1 β 、hs-CRP、LPS水平呈上升趋势,不同病情程度患者差异有统计学意义($P < 0.05$)。与张雪楠等^[14]研究结果相近。Raheja J等研究显示,LPS含量在牙周、牙髓病变患者牙髓组织中呈现高水平表达状态,LPS不仅可直接作用于牙髓组织,抑制细胞增殖,影响牙髓细胞损伤修复,参与牙周牙髓联合病变的发展变化^[15]。

综上所述,牙周源性牙周牙髓联合病变患者病原菌检出率显著升高,发病情况与口腔病原菌感染密切相关。患者龈沟液IL-1 β 、hs-CRP、LPS水平与病情具有相关性,随着病情发展加重而升高。

【参考文献】

[1] Victor DJ, Subramanian S, Prakash P, et al. Putative periodontal pathogens in persisting periodontal pockets of endodontic origin [J]. J Indian Soc Periodontol, 2021, 25(1): 17-21.
[2] Gomes BP, Berber VB, Kokaras AS, et al. Microbiomes of end

odontic periodontal lesions before and after chemomechanical preparation [J]. J Endod, 2015, 41(12): 1975-1984.

[3] Hwasman PA. An endodontic conundrum: the association between pulpal infection and periodontal disease [J]. Br Dent J, 2020, 216(6): 275-279.
[4] Cintra LT, da Silva Facundo AC, Azuma MM, et al. Pulpal and periodontal diseases increase triglyceride levels in diabetic rats [J]. Clin Oral Investig, 2021, 18(9): 1595-1599.
[5] Aminu N, Baboota S, Pramod K, et al. Development and evaluation of triclosan loaded poly caprolactone nanoparticulate system for the treatment of periodontal infections [J]. J Nanopart Res, 2019, 16(12): 1-15.
[6] 孟焕新. 牙周病学 [M]. 5版. 北京: 人民卫生出版社, 2020: 165-169.
[7] Kabbach W, Zezell DM, Pereira TM, et al. A thermal investigation of dental bleaching in vitro [J]. Photomed Laser Surg, 2008, 26(5): 489-493.
[8] Rodriguez Franco NI, Moral de la Rubia J, Alcazar Pizana AG. Predictive model of clinical attachment loss and oral health ? related quality of life through depressive symptomatology, oral hygiene habits, and proinflammatory biomarkers: A pilot study [J]. Dent J (Basel), 2020, 8(1): 20.
[9] Tiwari S, Saxena S, Kumari A, et al. Detection of red complex bacteria, *P. gingivalis*, *T. denticola* and *T. forsythia* in infected root canals and their association with clinical signs and symptoms [J]. J Family Med Prim Care, 2020, 9(4): 1915-1920.
[10] 应于康, 罗军, 陶丹, 等. 牙周源性牙周牙髓联合病变感染患者病原体特点及相关因素分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(24): 5650-5652, 5672.
[11] 周学东. 牙体牙髓病学 [M]. 第五版. 北京: 人民卫生出版社, 2020: 154-155.
[12] 王岩莉, 杨名辉, 赵静, 等. 牙周源性牙周牙髓联合病变病原菌感染与相关性研究 [J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(12): 2819-2821.
[13] 邓卓峰, 周峥. 牙周源性牙周牙髓联合病变微生物感染临床分析 [J]. 解放军医药杂志, 2015, 27(2): 85-88.
[14] 张雪楠, 曲妍, 王立新. 龈沟液中 IL-1 β 、hs-CRP、LPS 水平与牙周牙髓联合病变病情程度及治疗效果的关系 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(4): 688-692.
[15] Raheja J, Tewari S, Tewari S, et al. Evaluation of efficacy of chlorhexidine intracanal medicament on the periodontal healing of concomitant endodontic? periodontal lesions without communication: An interventional study [J]. J Periodontol, 2021, 85(8): 1019-1026.

【收稿日期】 2024-06-20 【修回日期】 2024-09-02