

· 牙周病学研究 ·

北京石景山社区 2 型糖尿病患者唾液中
牙周致病菌的检测

廖雁婷 和璐 孟焕新 李蓬 沙月琴 王兴宇

【摘要】 目的 调查 2 型糖尿病患者群唾液中牙周致病菌的感染情况,初探血糖异常对口腔内牙周致病菌定植生长的影响。**方法** 筛选北京石景山社区的高血压人群,留取其中的 45 名非糖尿病患者(非 DM 组)、80 例血糖控制稳定(DM-好组)和 100 例血糖控制差的 2 型糖尿病患者(DM-差组)的静息全唾液,提取唾液中细菌基因组 DNA,应用以 16SrRNA 为基础的 PCR 技术检测牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, Pg)、福赛坦菌(*Tannerella forsythia*, Tf)和齿垢密螺旋体(*Treponema denticola*, Td)3 种牙周致病菌。应用 SPSS15.0 统计软件对不同血糖状况下唾液中 3 种牙周致病菌的检出差异进行比较,并在 Logistic 回归模型基础上分析与各种菌检出相关的变量因素。**结果** DM-好组和 DM-差组的 Tf 检出率[分别为 81% (65/80) 和 80% (80/100)]均显著低于非 DM 组[91% (41/45)],差异均有统计学意义($P < 0.05$),DM-好组和 DM-差组的 Tf 相对含量[分别为 1.9(2.6)、2.1(5.3)]均显著低于非 DM 组[3.4(6.4)]($P < 0.05$),且血糖控制越差,Tf 的相对含量越低。Pg、Td 在 3 组受检者中的检出率和相对含量差异均无统计学意义($P > 0.05$)。调整了年龄、性别、缺牙数和其他牙周临床指标,DM-好组和 DM-差组唾液中 Tf 定植的风险均较非 DM 组低,OR 值分别为 0.58 和 0.53。**结论** Pg、Td 在口腔内的定植可能未受血糖影响,血糖异常可能会影响口腔内 Tf 的定植。

【关键词】 糖尿病,2 型; 牙周炎; 唾液; 牙周致病菌

Detection of periodontal pathogens from saliva of type 2 diabetic patients in urban area of Beijing
LIAO Yan-ting*, HE Lu, MENG Huan-xin, LI Peng, SHA Yue-qin, WANG Xing-yu * Department of General Dentistry 2, Peking University School and Hospital of Stomatology, Beijing 100081, China
Corresponding author: HE Lu, Department of Periodontology, Peking University School and Hospital of Stomatology, Beijing 100081, China, Email: helubj@tom.com, Tel: 0086-10-82195372

【Abstract】 Objective To investigate the prevalence of periodontal pathogens from saliva of patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), and to characterize the association between the glucose status and periodontal pathogens in oral cavity. **Methods** All the subjects were hypertension patients under regular care at Beijing hypertension prevention and management institute. Whole unstimulated saliva samples were collected from 45 non-diabetic subjects (non-DM group), 80 well-controlled diabetic patients (DM-well group) and 100 poor-controlled diabetic patients (DM-poor group). DNA was extracted from the salivary deposition, *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf) and *Treponema denticola* (Td) were detected by polymerase chain reaction (PCR) method based on 16SrRNA. Prevalence and quantity of the pathogens under different glucose states were compared and logistic regression model was set to analyze the factors related to each bacterium. **Results** The prevalence of Tf in DM-well group and DM-poor group was significantly lower than that of non-DM group [81% (65/80), 80% (80/100) vs 91% (41/45), $P = 0.048$], meanwhile the quantity of Tf was also lower than that of non-DM group [1.9(2.6), 2.1(5.3) vs 3.4(6.4)] ($P > 0.05$). With the worsening of glucose control, the quantity of Tf was declining ($P = 0.032$). However, the prevalence and the quantity of Pg, Td in 3 groups had no statistical differences ($P > 0.05$). After adjusting age, gender, number of missing teeth and other periodontal parameters, OR of having Tf in saliva from DM-well group and DM-poor group was 0.58 and 0.53, respectively. **Conclusions** Abnormal

DOI:10.3760/cma.j.issn.1002-0098.2013.03.006

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划(2007BAI18B02);卫生部部属(管)医院 2010—2012 年度临床学科重点项目

作者单位:100081 北京大学口腔医学院·口腔医院综合治疗二科(廖雁婷),牙周科(和璐、孟焕新、李蓬、沙月琴);北京高血压联盟研究所(王兴宇)

通信作者:和璐,Email:helubj@tom.com,电话:010-82195372

blood glucose state may affect the colonization of Tf in oral cavity.
【Key words】 Diabetes mellitus, type 2; Periodontitis; Sliva; Periodontal pathogen

牙周炎是以厌氧菌感染为主的慢性感染性疾病,与糖尿病存在着密切的双向关系^[1]。因两者有相似的病理基础和共同的危险因素,大多数研究主要集中于炎症反应机制在两者之间的关联作用。有关糖尿病患者口腔内牙周致病菌的研究相对较少,结果缺乏一致性^[2-4]。其中,同时兼顾血糖状况和牙周状况的分析研究更少。本研究通过对北京某社区不同血糖状态人群唾液牙周致病菌的检测,分析 2 型糖尿病患者口腔内牙周致病菌的感染情况,并结合牙周状况、血糖状态初步探讨血糖异常的全身背景对口腔内牙周致病菌定植生长的影响,以期为临床提供参考。

资料与方法

1. 研究对象:本研究经过了北京大学生物医学伦理委员会的批准(IRB0000105205106)。样本来源于 2005 年 5 至 8 月北京高血压联盟研究所对北京市石景山区社区进行体检的高血压人群,采用时点横断面研究方法进行牙周状况调查。

纳入标准:①自愿参加并签署知情同意书;②无传染性疾病如活动性结核病等或无全身系统感染性疾病者;③年龄≥40 岁。

排除标准:①无牙颌者或拒绝牙科检查或不能配合完成数据采集者;②口内有明显不良修复体影响检查者;③心绞痛、心肌梗死或脑血管病者,或伴有肾炎、外周血管血栓等其他系统病者;④血糖正常但为代谢综合征者^[5];⑤半年内做过牙周系统治疗者;⑥3 个月内连续服用抗生素 1 周者。

根据体检结果、1999 年 WHO 糖尿病诊断标准和亚太地区糖尿病政策组第 3 版 2 型糖尿病治疗目标筛选出非糖尿病患者 45 人(非 DM 组)、血糖控制稳定的糖尿病患者 80 例(DM-好组)和血糖控制差的糖尿病患者 100 例(DM-差组)^[6-7],共 225 人作为研究对象,各组血糖情况见表 1。

2. 牙周临床检查:全部检查均由 1 名经过校准培训的牙周专业博士生完成,采用盲法检查,即检查者不知道患者分组情况,所有数据均由助手记录。检查内容包括:使用 Williams 刻度牙周探针检查每颗牙的颊侧近中和舌(腭)侧远中两个位点的菌斑指数(plaque index, PLI, Silness and Loe, 1963)、探诊深度(probing depth, PD)、出血指数(bleeding

表 1 3 组受检者的空腹血糖和餐后血糖的
分组标准 (mmol/L)

组别	例数	空腹血糖	餐后血糖
非 DM 组	45	<6.1	<11.1
DM-好组	80	≤7.0	≤10.0
DM-差组	100	>7.0	>10.0

注:非 DM 组:非糖尿病患者;DM-好组:血糖控制稳定的 2 型糖尿病患者;DM-差组:血糖控制差的 2 型糖尿病患者

index, BI, Mazza, 1981)、附着丧失(attachment loss, AL),记录缺失牙数。牙周炎分类采用 Arbes 等^[8] 1999 年提出的标准,以 AL≥3 mm 位点占全口所有受检位点的百分比进行分类:0 为无牙周炎;≤32% 为轻度牙周炎;33% ~ 66% 为中度牙周炎;67% ~ 100% 为重度牙周炎。

3. 唾液样本采集处理及细菌基因组 DNA 的提取:受试者在临床检查前用清水漱口,在非刺激情况下留取静息全唾液 10 min。高速冷冻离心机(Sorvall fresc, 美国科峻仪器公司)13 000 r/min (r=5.5 cm, 4℃)离心 15 min,分装沉淀物和上清液, -70℃ 保存。检测前取待测样本沉淀物,室温解冻后用 1 ml TE 缓冲液(10 mmol/L Tris HCl, pH=7.6, 1 mmol/L 乙二胺四乙酸)反复荡洗至少 5 次,留取沉淀, -20℃ 冻存,用于 DNA 的提取。应用上海华舜生物工程有限公司提供的小量细菌基因组 DNA 快速抽提纯化试剂盒,按照提供的实验流程操作进行 DNA 提取。

4. 牙周致病菌的检测:

(1) 引物的合成:根据 Ashimoto 等^[9] 和 Baumgartner 等^[10] 的方法,微生物的引物均来自编码 16SrRNA 的基因,由恒博和泰生物科技(北京)有限公司合成。具体引物序列见表 2。

表 2 3 种牙周致病菌的引物序列及扩增片段长度

菌种	引物序列(5'-3')	扩增片段长度(bp)
Pg	上游:AGGCAGCTTGCCATACTGCG 下游:ACTGTTAGCAACTACCGATGT	404
Tf	上游:GCCTATGTAACCTGCCCCGA 下游:TGCTTCAGTGTCAATTACCT	641
Td	上游:TAATACCGAATGTGCTCATTTACAT 下游:TCAAGAAGCAATTCCTCTTCTCTTA	316

注:Pg:牙龈卟啉单胞菌;Tf:福赛坦菌;Td:齿垢密螺旋体

(2) PCR 扩增反应及扩增产物检测:应用 GeneAmp PCR System 2700(ABI, 美国)进行 PCR 扩

增。采用 25 μ l PCR 反应体系:样本 2 μ l,10 倍 PCR 缓冲液 2.5 μ l,三磷酸脱氧核糖核苷 (deoxy-ribonucleoside triphosphate,dNTP)终浓度 0.2 mmol/L、上下游引物终浓度 0.4 μ mol/L、MgCl₂ 的终浓度为 1.5 mmol/L,TaqDNA 聚合酶 1 U[宝生物工程(大连)有限公司],去离子水补足 25 μ l。反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min 后进入主循环(包括 36 个循环):95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,60 $^{\circ}$ C 退火 1 min,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min。

取扩增产物 5 μ l,1.5% 琼脂糖凝胶电泳,DNA 染料为 GoldViewTM(北京赛百盛基因技术有限公司)(50 μ L/L),在凝胶电泳成像系统(Bio-Rad,美国)下观察结果。根据特异扩增产物的有无判断待测样本有无相应的微生物感染,对检出阳性样本的目的扩增条带进行半定量分析(凝胶成像系统自带的 Quantity One 分析软件),通过扩增目的条带与 DNA 相对分子质量标准[取 5 μ l 的 DL2000 电泳时,750 bp 的 DNA 片段量为 150 ng,其余条带 DNA 量为 50 ng,宝生物工程(大连)有限公司]条带的单位面积内灰度比值计算目的基因的相对含量。

(3)质量控制:每批 PCR 扩增均设置阳性对照和阴性对照,阳性对照为牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*,Pg)、福赛坦菌(*Tannerella forsythia*,Tf)、齿垢密螺旋体(*Treponema denticola*,Td)标准菌株的 DNA 提取物(标准菌株由东京医科齿科大学以及首都医科大学口腔医学研究所提供),分别为 PgATCC33277、TfATCC43037、TdATCC33520,阴性对照采用灭菌去离子水。

5. 统计学分析:采用 SPSS15.0 统计软件对结果数据进行分析。计量资料,对于方差齐、正态分布资料用(均值 $\pm$ 标准差)表示,方差齐的正态分布资料采用方差分析,两两比较采用 LSD 法;方差不齐或偏态分布的资料采用 k 个样本的非参数检验

(Kruskal Wallis 检验)比较,两两比较采用 Nemenyi 法。计数资料采用行 $\times$ 列表卡方检验比较,率的两两比较用卡方分割法。

多因素分析采用二分类 Logistic 回归分析。分别以是否检出 Pg、Tf、Td 作为因变量,以年龄、性别、牙周炎程度、血糖水平、PD $\geq$ 5 mm 位点百分比及探诊出血阳性位点百分比和缺失牙数为自变量,建立 Binary Logistic 回归模型(Backward:Wald 法)。亚变量设置方法:因变量分别以 Pg、Tf、Td 检出阴性为参照;自变量中年龄按每 10 岁为 1 组分为 4 组,以年龄最小组为参照,其他 3 组均与其进行比较;性别以男性为参照,女性与其进行比较;PD $\geq$ 5 mm 位点百分比和缺牙数按四分位数分为 4 组,探诊出血阳性位点百分比平均分为 4 组,以最小范围组为参照,其他组与之进行比较;牙周炎严重程度以无或轻度牙周炎组为参照;血糖分组以非 DM 组为参照,其他组与参照组进行比较。

以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1.3 组受检者人口学及血液生化资料的比较:结果见表 3。3 组受检者的年龄、性别组成、体质量指数和腰臀比差异均无统计学意义。DM-差组的空腹血糖、餐后血糖、C 反应蛋白值和三酰甘油均显著高于非 DM 组和 DM-好组,高密度脂蛋白水平则显著低于其他两组($P < 0.05$)。DM-好组仅三酰甘油和高密度脂蛋白水平与非 DM 组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 组受检者间的牙周状况比较:结果见表 4。DM-好组和 DM-差组的 PLI 及 AL 值均显著高于非 DM 组,重度牙周炎的比例均显著高于非 DM 组($P < 0.05$),DM-好组与 DM-差组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 3 组受检者人口学资料及血生化指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄 (岁)	性别(例)		BMI (kg/m ²)	腰臀比	FBG (mmol/L)	PBG (mmol/L)	CRP (mg/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)
			男	女									
非 DM 组	45	62.6 $\pm$ 7.4	24	21	25.0 $\pm$ 3.5	0.91 $\pm$ 0.06	5.1 $\pm$ 0.5	6.3 $\pm$ 1.4	1.6 $\pm$ 1.5	5.2 $\pm$ 1.0	1.3 $\pm$ 0.5	1.6 $\pm$ 0.3	3.1 $\pm$ 0.8
DM-好组	80	63.2 $\pm$ 6.8	43	37	25.0 $\pm$ 2.9	0.93 $\pm$ 0.05	5.9 $\pm$ 0.6	7.1 $\pm$ 2.2	2.4 $\pm$ 2.2	5.3 $\pm$ 1.1	2.4 $\pm$ 2.1 ^a	1.4 $\pm$ 0.3 ^a	2.9 $\pm$ 1.0
DM-差组	100	63.7 $\pm$ 7.7	40	60	25.4 $\pm$ 3.3	0.93 $\pm$ 0.06	10.0 $\pm$ 2.1 ^{ab}	13.1 $\pm$ 2.2 ^{ab}	3.2 $\pm$ 3.1 ^{ab}	5.5 $\pm$ 1.1	3.3 $\pm$ 3.0 ^{ab}	1.3 $\pm$ 0.3 ^{ab}	2.7 $\pm$ 1.2
F 值		2.42	-	-	0.47	2.47	102.81	59.89	3.32	0.75	8.08	14.27	1.79
χ^2 值		-	4.12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P 值		0.39	0.13	0.63	0.09	0.00	0.00	0.04	0.47	0.00	0.00	0.00	0.17

注:非 DM 组:非糖尿病患者;DM-好组:血糖控制稳定的 2 型糖尿病患者;DM-差组:血糖控制差的 2 型糖尿病患者;-:未做;BMI:体质量指数;FBG:空腹血糖;PBG:餐后血糖;CRP:C 反应蛋白;TC:总胆固醇;TG:三酰甘油;HDL:高密度脂蛋白;LDL:低密度脂蛋白;^a:与非 DM 组相比 $P < 0.05$;^b:与 DM-好组相比 $P < 0.05$

表 4 3 组受检者各项牙周临床指标的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	PLI	PD(mm)	BI	AL(mm)	缺牙数 [<i>M(Q)</i>]	BOP(+)位点数	牙周炎严重程度[例(%)]		
								无或轻度	中度	重度
非 DM 组	45	1.6±0.5	2.7±0.9	2.0±0.6	2.4±1.9	3.0(10.0)	22±13	19(42.2)	15(33.3)	11(24.5)
DM-好组	80	1.8±0.5 ^a	2.9±0.9	2.1±0.6	3.3±2.0 ^a	5.0(9.0)	24±13	21(26.3) ^a	25(31.3)	34(42.5) ^a
DM-差组	100	1.9±0.5 ^a	2.8±0.8	2.1±0.6	3.0±1.6 ^a	4.0(10.0)	24±12	23(23.0) ^a	41(41.0)	36(36.0) ^a
<i>F</i> 值		4.46	4.46	1.04	3.12	-	0.33			
χ^2 值		-	-	-	-	1.14	-		8.12	
<i>P</i> 值		0.01	0.52	0.35	0.04	0.56	0.72		0.04	

注:非 DM 组:非糖尿病患者;DM-好组:血糖控制稳定的 2 型糖尿病患者;DM-差组:血糖控制差的 2 型糖尿病患者;PLI:菌斑指数;-:未做;PD:探诊深度;BI:出血指数;AL:附着丧失;BOP:探诊出血;^a:与非 DM 组相比 $P<0.05$

3.3 组受检者牙周致病菌的检出情况比较:结果见表 5。DM-好组和 DM-差组的 Tf 检出率分别为 81% 和 80%,均显著低于非 DM 组的 91% ($P<0.05$)。3 组受检者的 Pg 和 Td 检出率差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 5 3 组受检者牙周致病菌检出率的比较[例(%)]

组别	例数	Pg	Tf	Td
非 DM 组	45	31(69)	41(91)	35(78)
DM-好组	80	51(64)	65(81) ^a	48(60)
DM-差组	100	53(53)	80(80) ^a	68(68)
χ^2 值		4.59	1.70	4.19
<i>P</i> 值		0.07	0.04	0.12

注:非 DM 组:非糖尿病患者;DM-好组:血糖控制稳定的 2 型糖尿病患者;DM-差组:血糖控制差的 2 型糖尿病患者;Pg:牙龈卟啉单胞菌;Tf:福赛坦菌;Td:齿垢密螺旋体;^a:与非 DM 组相比 $P<0.05$

人群中各种牙周致病菌的相对含量呈非正态分布,采用中位数(四分位数间距)[*M(Q)*]表示,结果见表 6。3 组牙周致病菌检测结果显示,血糖水平控制越差,Tf 相对含量越低,DM-好组和 DM-差组 Tf 相对含量[2.1(5.3)和 1.9(2.6)]均显著低于非 DM 组[3.4(6.4)],差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 6 3 组受检者牙周致病菌相对含量比较

组别	例数	Pg		Tf		Td	
		<i>M(Q)</i> 平均秩次		<i>M(Q)</i> 平均秩次		<i>M(Q)</i> 平均秩次	
非 DM 组	45	0.8(3.3)	119	3.4(6.4)	124	0.5(0.9)	116
DM-好组	80	0.7(3.1)	113	2.1(5.3)	106 ^a	0.5(1.4)	113
DM-差组	100	0.5(2.5)	107	1.9(2.6)	96 ^{ab}	0.6(1.2)	112
χ^2 值		3.40		5.25		0.16	
<i>P</i> 值		0.18		0.03		0.92	

注:非 DM 组:非糖尿病患者;DM-好组:血糖控制稳定的 2 型糖尿病患者;DM-差组:血糖控制差的 2 型糖尿病患者;Pg:牙龈卟啉单胞菌;Tf:福赛坦菌;Td:齿垢密螺旋体;^a:与非 DM 组相比 $P<0.05$;
^b:与 DM-好组相比 $P<0.05$

4. 多因素分析结果:Logistic 回归分析结果见表 7~9。表中仅列出最终进入方程、有统计学意义

表 7 Logistic 回归模型中各变量对 Pg 检出的影响

自变量	调整后 <i>OR</i> 值	调整后 95%可信区间		<i>P</i> 值
		下限	上限	
BOP(+)位点百分比				
0 ~ 25%	1.00	1.00	1.00	0.01
26% ~ 50%	1.33	9.54	3.32	0.13
51% ~ 75%	2.85	1.20	6.80	0.04
76% ~	2.59	1.02	6.69	0.04

注:Pg:牙龈卟啉单胞菌;BOP:探诊出血

表 8 Logistic 回归模型中各变量对 Tf 检出的影响

自变量	调整后 OR 值	调整后 95% 可信区间		P 值
		下限	上限	
PD≥5 mm 位点百分比				
≥0 且 <1.4%	1.00	1.00	1.00	0.03
≥1.4% 且 <4.0%	1.17	0.43	3.15	0.25
≥4.0% 且 <10.0%	3.78	1.07	13.27	0.03
≥10.0%	5.31	1.17	15.23	0.04
牙周炎程度				
无或轻度	1.00	1.00	1.00	0.01
中度	1.12	0.37	3.83	0.16
重度	1.25	1.10	1.70	0.03
血糖分组				
非 DM 组	1.00	1.00	1.00	0.03
DM-好组	0.58	0.36	0.82	0.02
DM-差组	0.53	0.29	0.74	0.03

注:Tf:福赛坦菌;PD:探诊深度;非 DM 组:非糖尿病患者;DM-好组:血糖控制稳定的 2 型糖尿病患者;DM-差组:血糖控制差的 2 型糖尿病患者

表 9 Logistic 回归模型中各变量对 Td 检出的影响

自变量	调整后 OR 值	调整后 95% 可信区间		P 值
		下限	上限	
年龄(岁)				
41 ~ 49	1.00	1.00	1.00	0.01
50 ~ 59	0.45	0.17	1.17	0.41
60 ~ 69	0.66	0.26	1.72	0.32
70 ~	0.38	0.15	0.98	0.02
BOP(+)位点百分比				
0 ~ 25%	1.00	1.00	1.00	0.01
26% ~ 50%	2.02	0.75	5.45	0.12
51% ~ 75%	2.51	1.03	6.38	0.02
76% ~	2.76	1.07	7.82	0.01

注:Td:齿垢密螺旋体;BOP:探诊出血

的自变量项。

结果显示,在 3 种细菌感染中,性别和缺失牙数均未进入最后方程。唾液中检出 Pg 与探诊出血阳性位点百分比范围有关。探诊出血阳性位点百分比 $\geq 50\%$ 是 Pg 感染的危险指征, $\geq 51\%$ 和 $\geq 76\%$ 的人群感染 Pg 的风险分别是 $\leq 25\%$ 人群的 2.85 (95% 可信区间为 1.20 ~ 6.80) 和 2.59 (95% 可信区间为 1.02 ~ 6.69) 倍。唾液中出现 Tf 与 PD ≥ 5 mm 位点百分比、牙周炎程度和血糖情况有关,PD ≥ 5 mm 位点数增多及重度牙周炎是感染 Tf 的危险指征。DM-好组和 DM-差组均较非 DM 组感染 Tf 的风险有所降低,OR 值分别为 0.58 和 0.53。唾液中存在 Td 与年龄和探诊出血阳性位点百分比有关,70 岁以上组的 OR 值为 0.38,探诊出血阳性位点百分比 $\geq 51\%$ 和 $\geq 76\%$ 时感染 Td 的风险增高,OR 值分别为 2.51 和 2.76。

讨 论

越来越多的研究表明,糖尿病是牙周炎的独立危险因素,糖尿病患者的牙周状况较非糖尿病患者差,血糖控制越差者发生牙周炎的风险越高^[11]。牙菌斑是牙周炎的始动因子,Nonnenmacher 等^[12]提出牙周炎症部位的致病菌数量可能是牙周炎发生、发展过程的关键,菌斑中的红色复合体微生物(包括 Pg、Tf、Td)又与牙周炎关系最为紧密,特别是与牙周袋的深度、探诊出血等牙周临床指标密切相关^[12-13]。国内关于糖尿病患者牙周致病菌方面的研究还较少,且结论不一致,故本研究主要以红色复合体中的 3 种细菌 Pg、Tf、Td 作为检测对象。目前临床上多采用数个位点的集合龈下菌斑反映个体口腔牙周致病菌的感染状况^[2]。然而,口腔内其他部位同样可以检测到牙周致病菌,包括龈上菌斑、唾液和口腔黏膜(舌背、扁桃体、颊黏膜等)^[3,14]。因此,用集合龈下菌斑反映个体的口腔感染可能存在一定的局限性。全唾液包含了整个口腔微生物的信息,其来源更广泛,更能体现个体水平上的口腔微生物感染情况。冯向辉等^[15]证实无系统性疾病者无论有无牙周炎,其唾液样本与龈下菌斑集合样本中的牙周致病菌检出率均高度一致。但也有研究表明,同一批患者唾液致病菌的检出率会略高于龈下菌斑,但两者仍具有较高的正相关性^[16]。基于本研究试图从个体水平了解口腔牙周致病菌的感染情况,唾液样本成为首选。迄今,仅 Hintao 等^[3]报道了糖尿病组与非糖尿病组唾液中 Pg、Tf、Td 的检出无差别,其

他研究多是对龈下菌斑的定性分析^[2,4,17]。

既往研究表明,伴慢性牙周炎的糖尿病患者口腔牙周致病菌的组成与全身健康的慢性牙周炎患者相似^[13,17],但在检出率和数量表达上是否相似以及是否受血糖状态影响,文献报道的结果并不一致^[24,17],这除了与研究人群的全身特点、牙周炎症和破坏程度、样本来源、实验室技术等有关外,也是否与同时兼顾血糖和牙周状况综合分析有关。本研究人群来源于高血压联盟长期纵向监控下的一个队列高血压人群,研究对象除血糖外的全身状况基本稳定一致。非糖尿病组即使排除了代谢综合征者,仍不可避免地会伴有肥胖或血脂异常现象,3 组受检人群的体质量指数和腰臀比差异均无统计学意义也证实了此点。血生化指标间的差别也与 3 组受检人群的血糖状态及不同状态对机体影响的不同相符。

本项研究结果显示,DM-好组和 DM-差组整体牙周状况差于非 DM 组,但唾液中 Pg、Td 的检出率在 3 组间差异却无统计学意义,与 Hintao 等^[3]的结果相似。究其原因,3 组人群仅在 PLI、AL 两个指标上差异有统计学意义,AL 反映的是既往牙周破坏状况;在 PD、BI 及探诊出血阳性位点百分比等指标上,3 组间差异并无统计学意义,与以往报道的糖尿病组 PD、BI 显著高于健康组的结果有所不同^[2]。红色复合体致病菌往往与 PD 和探诊出血最密切相关。这可能是 3 组受检者 Pg、Td 的检出率差异无统计学意义的原因。本项研究中 Logistic 回归分析结果显示,唾液中 Pg、Tf、Td 的检出与 PD ≥ 5 mm 的位点数及探诊出血阳性位点百分比紧密相关,亦可证实红色复合体致病菌与深牙周袋和探诊出血密切相关。

然而,Tf 在 DM-好组和 DM-差组的检出率均显著低于非 DM 组,该结果与 Campus 等^[4]的研究结果一致。Campus 等^[4]检测了糖尿病组和非糖尿病组的牙周袋最深位点的龈下菌斑,结果显示糖尿病组的牙周状况更差,糖尿病组的缺牙数显著高于非糖尿病组,Tf 检出率(19.7%)显著低于非糖尿病组(32.6%)。此结果提示,DM-好组和 DM-差组即使在 Tf 感染并不严重的情况下,牙周状况也可以达到与非 DM 组相似甚至更重的破坏程度。本研究在控制年龄、性别、缺失牙数及其他牙周指标等影响因素后,DM-好组和 DM-差组唾液中存在 Tf 的风险分别为非 DM 组的 0.58 和 0.53 倍。本项研究中糖尿病患者群的 Tf 感染风险虽较非糖尿病患者低,但其最

终的牙周破坏程度却比非糖尿病者严重,提示糖尿病除了通过影响牙周致病菌定植生长影响牙周炎的发生、发展外,还有其他非细菌途径影响着牙周炎的进展;抑或是牙周致病菌在高血糖背景的影响下,对牙周破坏进展的作用更甚于对不伴糖尿病的单纯牙周炎的作用。由于兼顾了牙周状况的影响,3 组的比较更容易揭示血糖状态对牙周致病菌检出的影响。本项研究初步证明 Tf 在口腔中的定植和数量在一定程度上受高血糖背景的影响。然而,高血糖环境如何影响 Tf 的定植、生长,Tf 的改变是否会对其他细菌的定植、生长产生影响,还有待进一步研究。

2 型糖尿病与牙周炎的发病机制均较复杂,目前公认炎症和氧化应激反应在上述两种疾病间起着重要的关联作用,那么作为牙周炎症性疾病的始动因子,牙周致病菌对同时伴有两种疾病患者的作用是否类似于牙周致病菌对不伴糖尿病的单纯牙周炎的作用?糖尿病患者的龈沟液和唾液被证实为高血糖状态^[18],此状态是否改变了口腔的生态系统,从而进一步影响某些特定致病菌的定植和生长,影响菌斑生物膜的细菌构成和结构,以及糖尿病患者口腔内牙周致病菌的检测是否具有潜在的临床诊断和疗效评估的意义,均有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol*, 1998, 3(1): 51-61.
- [2] 马丽, 潘亚萍, 张健全, 等. 伴 2 型糖尿病的慢性牙周炎牙周可疑致病菌的检测. *中华口腔医学杂志*, 2010, 45(6): 337-341.
- [3] Hintao J, Teanpaisan R, Chongsuvivatwong V, et al. The microbiological profiles of saliva, supragingival and subgingival plaque and dental caries in adults with and without type 2 diabetes mellitus. *Oral Microbiol Immunol*, 2007, 22(3): 175-181.
- [4] Campus G, Salem A, Uzzau S, et al. Diabetes and periodontal disease: a case-control study. *J Periodontol*, 2005, 76(3): 418-425.
- [5] 金文胜, 潘长玉. 国际糖尿病联盟关于代谢综合征定义的全球共识. *中华内分泌代谢杂志*, 2005, 21(4): 4b1-4b2.
- [6] World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization, 1999: 2-18.
- [7] 王海燕. 内科学. 北京: 北京大学医学出版社, 2005: 1074-1095.
- [8] Arbes SJ Jr, Slade GD, Beck JD. Association between extent of periodontal attachment loss and self-reported history of heart attack: an analysis of NHANES III data. *J Dent Res*, 1999, 78(12): 1777-1782.
- [9] Ashimoto A, Chen C, Bakker I, et al. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol*, 1996, 11(4): 266-273.
- [10] Baumgartner JC, Siqueira JF Jr, Xia T, et al. Geographical differences in bacteria detected in endodontic infections using polymerase chain reaction. *J Endod*, 2004, 30(3): 141-144.
- [11] 廖雁婷, 和璐, 李蓬, 等. 北京城区 2 型糖尿病患者牙周状况研究. *中华糖尿病杂志*, 2010, 2(4): 248-252.
- [12] Nonnenmacher C, Dalpke A, Rochon J, et al. Real-time polymerase chain reaction for detection and quantification of bacteria in periodontal patients. *J Periodontol*, 2005, 76(9): 1542-1549.
- [13] Torrungruang K, Bandhaya P, Likittanasombat K, et al. Relationship between the presence of certain bacterial pathogens and periodontal status of urban Thai adults. *J Periodontol*, 2009, 80(1): 122-129.
- [14] Eger T, Zöller L, Müller HP, et al. Potential diagnostic value of sampling oral mucosal surfaces for *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in young adults. *Eur J Oral Sci*, 1996, 104(2 Pt 1): 112-117.
- [15] 冯向辉, 张立, 孟焕新, 等. 牙周炎患者唾液和龈下菌斑 3 种厌氧微生物的检测. *北京大学学报: 医学版*, 2009, 41(1): 44-48.
- [16] Darout IA, Albandar JM, Skaug N. Correlations between bacterial levels in autologous subgingival plaque and saliva of adult Sudanese. *Clin Oral Investig*, 2002, 6(4): 210-216.
- [17] 曾红燕, 杨圣辉, 刘颖. 2 型糖尿病患者慢性牙周炎龈下菌群分析. *临床口腔医学杂志*, 2004, 20(8): 453-455.
- [18] Ardakani MR, Moeintaghavi A, Haerian A, et al. Correlation between levels of sulcular and capillary blood glucose. *J Contemp Dent Pract*, 2009, 10(2): 10-17.

(收稿日期: 2012-10-28)

(本文编辑: 孔繁军)