

MỐI LIÊN QUAN GIỮA CÁC VI KHUẨN ĐẶC HIỆU VỚI BỆNH VIÊM QUANH RĂNG Ở MỘT NHÓM NGƯỜI VIỆT NAM

NGUYỄN THỊ HỒNG MINH,
Viện Răng Hàm Mặt Quốc Gia

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định sự có mặt của 4 loại vi khuẩn đặc hiệu gây bệnh viêm quanh răng (VQR) là *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythensis* và mối liên quan của chúng với bệnh VQR.

64 mẫu mảng bám được lấy từ 34 bệnh nhân VQR mạn tính và 30 người có vùng quanh răng khỏe mạnh, độ tuổi từ 30 đến 70, không được điều trị bệnh vùng quanh răng hoặc dùng kháng sinh toàn thân và tại chỗ trong vòng 6 tuần. Các mẫu mảng bám được lấy từ các túi quanh răng có độ sâu trên 5 mm ở BN VQR và từ các khe lợi mặt ngoài của răng hàm lớn thứ nhất hàm trên bên phải ở người khỏe mạnh bằng côn giấy vô trùng. Lượng DNA trung bình thu được từ các mẫu mảng bám đủ để thực hiện PCR.

Kết quả cho thấy có mối liên quan có ý nghĩa giữa sự có mặt của Pg và Tf với VQR. Tuy nhiên chưa thấy mối quan hệ giữa Pi và Fn với bệnh VQR ở người Việt Nam. Phương pháp PCR hoàn toàn phù hợp để phát hiện các tác nhân gây bệnh vùng quanh răng và đặc biệt có giá trị trong việc lập kế hoạch điều trị và theo dõi bệnh nhân VQR.

Từ khóa: vi khuẩn, bệnh viêm quanh răng (VQR)

SUMMARY

The aims of this study were to detect the presence of four periodontal putative pathogens *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythensis* in subgingival plaque sample and their relation with periodontal status (probing pocket depth, attachment loss, assessment of bleeding, periodontal abscess).

64 plaque samples were collected from 34 patients with chronic periodontitis and 30 healthy periodontal individuals, ranging in age from 30 to 65 years old without periodontal treatment or systemic and local antibiotics therapy in 6 weeks. Plaque samples were collected from the pocket with the depth ≥ 5 mm in periodontitis patients and buccal sulcus in right upper first molar in healthy adults by sterile paper point. The mean amount of DNA recovered from the samples was sufficient for performing a PCR-based survey.

The result showed that there was statistically significant relation between the presence of *P.gingivalis*, *T.forsythensis*, *F.nucleatum* and periodontal status, but not for *P.intermedia*. PCR was suitable for detection of

periodontal pathogens in sub-gingival plaque samples and helpful in making treatment plan and maintenance for periodontitis patients.

Keywords: *periodontal putative pathogens, periodontal status*

MỞ ĐẦU

Viêm quanh răng (VQR) là một quá trình viêm gây phá hủy tổ chức quanh răng do hai nguyên nhân chủ yếu là vi khuẩn trong mảng bám răng và đáp ứng miễn dịch của cơ thể. Người ta đã tìm thấy hơn 400 loài vi khuẩn trong các mẫu mảng bám dưới lợi nhưng chỉ có một số ít các vi khuẩn đặc hiệu được coi là tác nhân gây bệnh VQR. Hội thảo về Nha chu học lâm sàng thế giới tổ chức năm 1996 đã mô tả *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Porphyromonas intermedia* và *Fusobacterium nucleatum* là những vi khuẩn có liên quan chặt chẽ với tình trạng phá hủy vùng quanh răng.

Mối liên quan giữa các vi khuẩn gây bệnh và bệnh VQR đã được báo cáo trong nhiều nghiên cứu trên thế giới và trong khu vực. Tuy nhiên, ở Việt Nam hiện có rất ít nghiên cứu về vấn đề này.

Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm mục tiêu xác định sự có mặt của một số loại vi khuẩn gây bệnh trong mảng bám dưới lợi và mối liên quan của chúng với bệnh VQR mạn tính trên một nhóm người Việt Nam.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu.

Là 64 người từ 30 đến 70 tuổi đến khám và điều trị tại Khoa Nha chu Viện Răng hàm mặt Quốc gia trong 3 tháng 6,7,8/2009.

64 đối tượng này được chia làm 2 nhóm:

- Nhóm 1: gồm 34 bệnh nhân VQR mạn tính.
- Nhóm 2: gồm 30 người có vùng quanh răng khỏe mạnh.

2. Tiêu chuẩn nghiên cứu.

Các bệnh nhân VQR mạn tính phải có các tiêu chuẩn sau:

Có ít nhất 20 răng trên cung hàm với ít nhất 2 túi quanh răng sâu trên 5 mm trong hai vùng lục phân.

Có hình ảnh tiêu xương ổ răng trên phim Xquang.

Không được điều trị bệnh vùng quanh răng hoặc điều trị bằng kháng sinh trong vòng 6 tuần trước khi lấy mẫu.

Không mắc bệnh toàn thân

Không có thai hoặc cho con bú.

3. Thu thập các số liệu lâm sàng.

Dựa trên cơ sở khám vùng quanh răng toàn bộ hai hàm, các số liệu sau được ghi nhận tại vị trí lấy mẫu:

Độ sâu túi quanh răng sâu nhất (mm) (PD)

Mức mất bám dính trên lâm sàng cao nhất (mm) (CAL)

Tập trung mảng bám răng (PI0, PI1)

Chảy máu khi thăm khám (BI1, BI0)

Áp xe quanh răng (SI0, SI1)

Các đối tượng nghiên cứu cũng được ghi nhận về tuổi, giới, tình trạng hút thuốc lá.

4. Phương pháp lấy mẫu.

Các mẫu mảng bám dưới lợi được lấy từ túi quanh răng sâu nhất trên bệnh nhân VQR mạn tính và từ rãnh lợi mặt ngoài răng số 6 hàm trên bên phải. Các mẫu mảng bám được lấy bằng hai côn giấy vô trùng đặt song song vào túi lợi trong 20 giây và chuyển ngay vào môi trường vận chuyển yếm khí và giữ ở nhiệt độ âm 20° C cho đến khi xét nghiệm.

5. Phương pháp chuẩn bị mẫu và xác định vi khuẩn.

Các mẫu mảng bám được xử lý và chạy PCR tại Bộ môn Vi sinh trường Đại học Y Hà Nội với 4 mẫu ADN chuẩn của 4 chủng chuẩn (*Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Prevotella intermedia* ATCC 25611, *Tannerella forsythensis* ATCC 43037, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953) cho các vi khuẩn cần tìm do GS. Andrej Weintraub, Khoa LabMed, Viện Karolinska, Thụy Điển cung cấp và PCR được thực hiện trên máy GienAmp PCR System 9700 AB (Applied biosystems, USA).

6. Xử lý số liệu.

Số liệu nghiên cứu được xử lý trên phần mềm SPSS 6.0 với t test và test chi bình phương. Giá trị $P < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

Phân tích hồi qui logistic được dùng để đánh giá mối liên quan giữa các yếu tố (sự có mặt của các vi khuẩn gây bệnh, tuổi, giới, tình trạng hút thuốc, chảy máu khi thăm khám...) và tình trạng VQR.

KẾT QUẢ

Bảng 1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu.

Đặc điểm	Nhóm 1 (N=34)	Nhóm 2 (N=30)	Giá trị P
Tuổi	48,5±10,9	34,6±11,1	<0,001
Giới(n/%)			
Nữ	8 (23,5)	18 (60,0)	
Nam	26 (76,5)	12 (40,0)	0,006
Tình trạng hút thuốc (n/%)			
Không hút	14(41,2)	20 (66,7)	
Đã từng hút	4 (11,8)	2 (6,7)	
Đang hút	16 (66,7)	8 (26,7)	

Nói chung, các bệnh nhân VQR mạn tính có xu hướng già hơn, là nam và hút thuốc lá.

Bảng 2. Đặc điểm lâm sàng các đối tượng nghiên cứu:

Đặc điểm	Nhóm 1 (N=34)	Nhóm 2 (N=30)	Giá trị P
Tập trung mảng bám			
% vị trí PI 0	11,8	53,3	
% vị trí PI 1	88,2	46,7	<0,001
Độ sâu túi quanh răng trung bình (mm)	5,6 ± 0,7	2,2 ± 0,4	< 0,001
Số trung bình mất bám dính quanh răng (mm)	8,44 ± 1,3	2,5 ± 0,5	<0,001
Chảy máu khi thăm khám			
% vị trí BI 0	5,9	76,7	
% vị trí BI 1	94,1	23,3	< 0,001
Áp xe quanh răng			
% vị trí SP 1	20,6	0	

Độ sâu túi quanh răng trung bình của nhóm VQR và nhóm người bình thường là 5,6 mm và 2,2 mm, trong khi số trung bình mất bám dính quanh răng của 2 nhóm lần lượt là 8,44 mm và 2,5 mm.. Sự khác biệt này của hai nhóm là có ý nghĩa thống kê với mức $p < 0,001$.

Tỷ lệ vị trí nghiên cứu có chảy máu khi thăm khám của nhóm VQR cao hơn nhóm người bình thường rõ rệt ($p < 0,001$). Tỷ lệ này ở nhóm VQR và nhóm bình thường lần lượt là 94,1% và 23,3%.

Có 20,6 % vị trí nghiên cứu trong nhóm VQR có áp xe quanh răng trong khi không có trường hợp nào trong nhóm bình thường.

Bảng 3. Tỷ lệ đối tượng có VQR hoặc không VQR theo sự có mặt hoặc không có mặt các loại vi khuẩn đặc hiệu

Loại vi khuẩn	Nhóm 1(N=34) N (%)	Nhóm 2(N=30) N (%)	Giá trị P
<i>P.gingivalis</i>			
Âm tính	28 (82,4)	30 (100,0)	
Dương tính	6 (17,6)	0 (0,0)	0,06
<i>T.forsythensis</i>			
Âm tính	6 (17,6)	28 (93,3)	
Dương tính	28 (82,4)	2 (6,7)	<0,001
<i>P. intermedia</i>			
Âm tính	30 (88,2)	30 (100,0)	
Dương tính	4 (11,8)	0 (0,0)	
<i>F.nucleatum</i>			
Âm tính	25 (73,5)	29 (96,7)	
Dương tính	9 (26,6)	1 (3,3)	

Tỷ lệ dương tính với *P.gingivalis*, *T.forsythensis*, *F.nucleatum* và *P.intermedia* ở nhóm VQR lần lượt là 17,6%, 82,4%, 11,8% và 26,6%. 100% trường hợp dương tính với *P.gingivalis* đều có VQR. 93% trường hợp dương tính với *T.forsythensis* là VQR so với 0,7% là người bình thường, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

Bảng 4. Kết quả phân tích hồi quy logistic giữa các thông số lâm sàng và bệnh VQR

Variable	OR (95%CI)	P value
<i>P. gingivalis</i>	4,1 (0,4 - 44,1)	
<i>T. forsythensis</i>	9,5 (2,5 - 35,3)	96,15%
<i>F.nucleatum</i>	1,1 (1,5 - 4,2)	
<i>P. Intermedia</i>	-	-
BI 1	44 (7,34 - 343,1)	
Không hút thuốc lá	2,86 (0,92 - 9,08)	
Đang hút thuốc lá	2,44 (0,76 - 8,05)	
Tuổi trên 35	11,25 (2,73 - 50,66)	

Phân tích hồi quy logistic được áp dụng để xác định mức độ liên quan giữa các yếu tố và bệnh VQR. Kết quả từ bảng 4 cho thấy sự có mặt của *P.gingivalis*, *T.forsythensis* và *F.nucleatum* có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với VQR mạn tính với OR theo thứ tự là 4,1; 9,5 và 1,1. Ngoài ra, triệu chứng chảy máu khi thăm khám, hút thuốc lá và tuổi trên 35 cũng có mối liên quan với VQR mạn tính.

Kết quả phân tích cũng cho thấy nếu có sự có mặt của 3 loại vi khuẩn trên thì xác suất xuất hiện bệnh VQR là 96,15%.

BÀN LUẬN

Bảng 5. Kết quả của một số nghiên cứu trên thế giới về sự có mặt của các vi khuẩn gây bệnh VQR.

	Pg	Tf	Pi	Fn	Phương pháp
Torrunguang (Thailand, 2009)	71%	78%	-	-	PCR
Timmerman (Netherlands, 2001)	67%	16%	66%	79%	Nuôi cấy
Feng XH (China, 2006)	81.8%	83.6%	11.8%	-	DNA
R.W Ali (USA, 1997)	85.7%	81.4%	85.7%	85.7	Checker-board
NC của chúng tôi	17.6%	82.4%	11.8%	26.5%	PCR

Bảng 5 cho thấy kết quả nghiên cứu của một số tác giả trên thế giới về sự có mặt của các vi khuẩn đặc hiệu trong VQR mạn tính. Sự khác nhau trong các kết quả này có thể là do khác nhau trong kỹ thuật xác định vi khuẩn, khác nhau về chủng tộc, về vị trí địa lý và khác nhau về tình trạng bệnh của các đối tượng nghiên cứu..

Bảng 6. Mối liên quan giữa các vi khuẩn gây bệnh với VQR qua các nghiên cứu trên thế giới

Vi khuẩn	Pg OR (95% CI)	Tf OR (95% CI)	Fn OR (95% CI)
NC			
Timmerman (Netherlands 2001)	13.9 (1.79 - 107.95)	4.5 (1.68 - 11.99)	-
Van Winkelhoff (Netherlands 2002)	12.3 (5.8 - 26.2)	10.4 (5.0 - 21.8)	3.9 (1.35 - 11.2)
Torrunguang (Thailand, 2009)	3.4 (2.0 - 5.8)	-	-
Nghiên cứu của chúng tôi	4.1 (0.4 - 44.1)	9.5 (2.5 - 35.3)	1.1 (1.5 - 4.2)

Bảng 6 cho thấy mối liên quan giữa các vi khuẩn gây bệnh và VQR qua nhiều nghiên cứu của các tác giả trên thế giới. Sự khác biệt trong các kết quả có thể là do khác nhau về tiêu chí lựa chọn đối tượng nghiên cứu, các type vi khuẩn khác nhau cũng như các phương pháp phát hiện vi khuẩn khác nhau. Các nghiên cứu sâu hơn về các type vi khuẩn có thể sẽ giải thích được tại sao sự có mặt của một số vi khuẩn có liên quan với bệnh VQR một cộng đồng này lại không liên quan ở một cộng đồng khác.

Sự có mặt hay không của các vi khuẩn có thể là chưa đủ để nói lên sự khác biệt giữa người có bệnh và người khỏe mạnh. Nhiều nghiên cứu cho thấy, số lượng các vi khuẩn khi vượt quá một mức nào đó có thể có liên quan với bệnh. Chính vì vậy, các phương pháp nghiên cứu về số lượng vi khuẩn như real-time

RCR có thể cung cấp thêm thông tin về mối liên quan giữa số lượng vi khuẩn và tình trạng bệnh quanh răng.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng thuật toán phân tích hồi quy logich để xác định mối liên quan giữa sự có mặt của các vi khuẩn đặc hiệu với bệnh VQR mạn tính. Kết quả phân tích cũng cho thấy nếu có sự có mặt của 3 loại vi khuẩn *P.gingivalis*, *T.forsythensis* và *F.nucleatum* thì xác suất xuất hiện bệnh VQR rất cao (96,15%).

KẾT LUẬN

Sự có mặt của 3 loại vi khuẩn *P.gingivalis*, *T.forsythensis* và *F.nucleatum* có mối liên quan có ý nghĩa thống kê và độc lập với bệnh VQR mạn tính ở nhóm người Việt Nam được nghiên cứu. Tuy còn nhiều hạn chế về thiết kế nghiên cứu, cỡ mẫu còn nhỏ và số lượng vi khuẩn nghiên cứu còn hạn chế, kết quả nghiên cứu đã góp phần cung cấp thông tin về các vi khuẩn đặc hiệu gây bệnh VQR trên một nhóm người Việt Nam.