

[文章编号] 1000-1182(2006)05-0475-01

## 健康牙龈龈下菌斑胰蛋白酶样酶水平的测定

信玉华, 薛毅, 闫文娟, 唐涛

(白求恩国际和平医院 口腔科, 河北 石家庄 050082)

[中图分类号] R781.05 [文献标识码] A

胰蛋白酶样酶 (trypsin-like enzyme, TLE) 是造成牙周组织破坏的重要因素之一, Loesche等<sup>[1]</sup>认为牙周病变中TLE水平与牙周病的严重程度呈显著的正相关。本研究通过苯甲酰精氨酸萘酰胺 (benzoyl DL arginine naphthlamide, BANA) 水解试验对健康牙龈龈下菌斑内TLE水平进行测定, 以对今后的牙周病研究提供参考。

### 1 材料和方法

#### 1.1 研究对象

以2003年8月—10月在白求恩国际和平医院口腔科就诊的45名门诊志愿者为研究对象。45名志愿者中, 男23名, 女22名; 年龄35~55岁, 平均年龄42.65岁。志愿者纳入要求: 牙龈健康, 3个月内未使用抗生素类药物、避孕药物、未进行牙周治疗, 无全身系统性疾病, 无吸烟史, 女性非妊娠及哺乳期。

#### 1.2 菌斑标本的采集

选取受试者的待测牙 (A1、B1、C6) 常规消毒隔湿干燥, 去除龈上菌斑。用无菌标准小环<sup>[2]</sup>刮取唇/颊正中点龈袋内龈下菌斑溶于200  $\mu$ L生理盐水中, 置于振荡器振荡30 s, 待检。牙位缺失者不记, 共刮取100份菌斑样本。

#### 1.3 菌斑标本的BANA试验

取1 mmol/L苯甲酰精氨酸萘酰胺盐酸盐 (Sigma公司, 美国) 100  $\mu$ L加入酶联反应板孔内, 然后加入100  $\mu$ L待检菌斑标本, 37  $^{\circ}$ C孵育过夜。次日在酶联反应板孔内加入0.25% 坚牢黑K盐 (Fast Black K, Sigma公司, 美国) 50  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C孵育5 min后肉眼观察, 根据反应液颜色判定结果。橙红色为阴性, 蓝色为阳性。再用酶联免疫检测仪在600 nm波长下测定反应液光密度值 ( $OD_{600nm}$ )。

### 2 结果

100份健康牙龈龈下菌斑中, BANA试验阴性96份,  $OD_{600nm}$ 值均小于0.20, 阳性4份,  $OD_{600nm}$ 值为0.20~0.21。100份样本的 $OD_{600nm}$ 中位数为0.11, 四分位数间距为0.000~0.140, 95%可信区间为0.000 0~0.199 5。

### 3 讨论

临床牙周病诊断主要依据医生的视诊、牙周探诊和X线

片等, 这些方法属于静态性评价, 存在明显的时间滞后性, 对静止期及早期牙周炎的诊断准确性较差。

胰蛋白酶样酶是牙周组织的重要破坏因子之一<sup>[1,3]</sup>。龈下菌斑中的牙龈卟啉单胞菌、齿垢密螺旋体、福赛拟杆菌是牙周炎发生、发展的关键致病微生物<sup>[4]</sup>, 这些致病微生物均能产生胰蛋白酶样酶, 从而可使人工合成的酶底物——BANA水解产生  $\alpha$ -萘胺<sup>[1]</sup>, 在600 nm波长下测定  $\alpha$ -萘胺与重氮染料坚牢黑K盐反应产物的光密度值, 通过 $OD_{600nm}$ 值反映龈下菌斑中TLE的水平 and 活性, 从而反映取材部位牙周病关键致病菌的含量和活性。本研究正是利用这一原理来检测龈下菌斑内TLE水平, 从而评价牙周状况。

BANA试验结果能否为临床牙周状况的评估提供信息, 首先就要确定健康牙龈龈下菌斑BANA试验 $OD_{600nm}$ 值范围, 然后通过牙周病与健康牙龈 $OD_{600nm}$ 值的比较来评价牙周状况。而目前对于健康牙龈龈下菌斑BANA试验 $OD_{600nm}$ 值的报道还没有。本研究对45名牙龈健康者的100份龈下菌斑标本进行BANA试验, 结果95%的 $OD_{600nm}$ 值均在0.000 0~0.199 5范围内, 初步提示健康牙龈龈下菌斑BANA试验 $OD_{600nm}$ 值应在0.20以内,  $OD_{600nm}$ 值大于0.20时可能存在牙周组织早期病变或已发生了牙周组织病变。

### [参考文献]

- [1] Loesche WJ, Syed SA, Stoll J. Trypsin-like activity in gingival plaque[J]. J Periodontol, 1987, 58(4): 266-272.
- [2] 汪丽, 杨圣辉. 人牙周袋内黑色普氏菌的分离[J]. 中国微生物学杂志, 1999, 19(2): 72.  
(WANG Li, YANG Sheng-hui. Isolation of Prevotella nigrescens from human periodontal pockets[J]. Chinese J Microecology, 1999, 19(2): 72.)
- [3] Schmidt EF, Bretz WA, Hutchinson RA, et al. Correlation of the hydrolysis of benzoyl-arginine naphthylamide (BANA) by plaque with clinical parameters and subgingival levels of spirochetes in periodontal patients[J]. J Dent Res, 1988, 67(12): 1505-1509.
- [4] 郭永华, 吴亚菲, 刘天佳, 等. 不同fimA基因型牙龈卟啉单胞菌在慢性牙周炎患者中的分布[J]. 华西口腔医学杂志, 2005, 23(2): 99-102.  
(GUO Yong-hua, WU Ya-fei, LIU Tian-jia, et al. The distribution of fimA genotype of Prophyromonas gingivalis in chronic periodontitis patients[J]. West China J Stomatol, 2005, 23(2): 99-102.)

(本文编辑 李彩)

[收稿日期] 2005-12-09; [修回日期] 2006-02-28

[作者简介] 信玉华 (1972-), 女, 河北人, 主治医师, 硕士

[通讯作者] 薛毅, Tel: 0311-87978425