

ĐẶT VẤN ĐỀ

1/Tính cấp thiết của đề tài

Hiện nay, trên thế giới và tại Việt Nam, bệnh viêm quanh răng là một bệnh phổ biến, để lại hậu quả mất răng hàng loạt, mất chức năng ăn nhai ảnh hưởng đến sức khỏe toàn thân và thẩm mỹ. Trong những năm gần đây, ngành Răng Hàm Mặt đã phát triển rất nhiều, có nhiều phương pháp chữa bệnh viêm quanh răng, hay thay thế lại những răng đã bị mất nhưng rất tốn kém cho người bệnh. Bệnh viêm quanh răng do rất nhiều vi khuẩn gây ra, nhưng hai vi khuẩn *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* hay gặp trong các thể viêm quanh răng, đồng thời có liên quan đến một số bệnh toàn thân khác như tim mạch, tiểu đường hay gây biến chứng sinh non trong sản khoa.

Đến nay ở nước ta, chưa có nghiên cứu nào ứng dụng kỹ thuật realtime PCR định lượng vi khuẩn *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* gây bệnh VQR, đồng thời kết hợp với lâm sàng theo dõi sự thay đổi số lượng và tỉ lệ của hai vi khuẩn này trước và sau khi điều trị VQR mạn tính dạng toàn thể bằng phương pháp không phẫu thuật.

Việc định lượng *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* trong bệnh viêm quanh răng cung cấp thông tin quan trọng cho bác sĩ lâm sàng để chỉ định dùng kháng sinh hợp lý cho bệnh nhân giúp giảm thời gian và chi phí điều trị, tránh tình trạng kháng thuốc kháng sinh hiện nay. Do đó, chúng tôi thực hiện đề tài “**Định lượng *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* trong viêm quanh răng bằng realtime**

PCR và đánh giá hiệu quả của phương pháp điều trị viêm quanh răng không phẫu thuật” với 2 mục tiêu:

1. Nhận xét đặc điểm và mối tương quan giữa lâm sàng, X-quang, số lượng vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* trong dịch lợi trên bệnh nhân viêm quanh răng mạn tính dạng toàn thể.
2. Đánh giá hiệu quả của phương pháp điều trị không phẫu thuật đối với viêm quanh răng mạn tính dạng toàn thể dựa trên lâm sàng, X-quang và số lượng, tỉ lệ vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*.

2/ Ý nghĩa thực tiễn và đóng góp mới của luận án

Đề tài đã ứng dụng kỹ thuật realtime PCR giải trình tự gen của *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* và định lượng hai vi khuẩn này trước trong và sau điều trị và theo dõi hiệu quả điều trị của phương pháp không phẫu thuật kết hợp với kháng sinh toàn thân. Hướng nghiên cứu của luận án hoàn toàn mới và không trùng lặp với các luận án đã bảo vệ trong và ngoài nước.

Kết quả của luận án bước đầu đã theo dõi chặt chẽ tỉ lệ vi khuẩn thay đổi trước, trong và sau điều trị tương ứng với các triệu chứng lâm sàng tại Việt Nam và đánh giá được hiệu quả điều trị của phương pháp không phẫu thuật, tránh biến chứng sau phẫu thuật, giảm thời gian lành thương và chi phí điều trị cũng như tránh sang chấn về tâm lý cho bệnh nhân.

Đề tài có ý nghĩa khoa học với chuyên ngành Răng Hàm Mặt, Sinh học phân tử mà còn có ứng dụng cao về xét nghiệm vi khuẩn trong nhiễm trùng vùng răng hàm mặt do răng và nguyên nhân khác.

Bố cục của luận án gồm:

Luận án gồm 108 trang không kể các trang tài liệu tham khảo và phụ lục. Ngoài phần đặt vấn đề 3 trang, kết luận 2 trang và khuyến nghị 1 trang, luận án chia thành 4 chương: chương 1- Tổng quan tài liệu 24 trang; chương 2 - Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 20 trang; chương 3 - Kết quả nghiên cứu 35 trang; chương 4 - Bàn luận 23 trang.

Chương 1**TỔNG QUAN TÀI LIỆU****1.1. Khái niệm, phân loại, vi khuẩn và bệnh sinh viêm quanh răng****1.1.1. Khái niệm:**

Viêm quanh răng (VQR) là viêm các mô nâng đỡ quanh răng do vi khuẩn hay nhóm vi khuẩn đặc hiệu, làm phá hủy dây chằng quanh răng và xương ổ răng tạo thành túi quanh răng hoặc gây tụt lợi hay cả hai triệu chứng trên.

1.1.2. Phân loại viêm quanh răng:

Theo phân loại của Hội nghị quốc tế về bệnh viêm quanh răng tại Mỹ năm 1999 có hai loại: các bệnh về lợi (do mảng bám răng, không do mảng bám răng); các bệnh quanh răng liên quan đến cấu trúc chống đỡ răng như viêm quanh răng thể mạn tính, viêm quanh răng thể tấn công,...

1.2. Vi khuẩn và bệnh sinh của viêm quanh răng:

Cho đến nay, các nhà nghiên cứu đã chứng minh bệnh viêm quanh răng là do vi khuẩn đặc hiệu nhưng mỗi loại vi khuẩn khác nhau gây ra các thể VQR khác nhau. Bệnh sinh của VQR liên quan đến sự tương tác giữa các yếu tố vi khuẩn và đáp ứng miễn dịch của cơ thể, đồng thời chịu sự tác động thêm bởi yếu tố di truyền và yếu tố nguy cơ môi trường. Vi khuẩn giữ vai trò quan trọng trong bệnh căn của VQR, hai vi khuẩn gây bệnh VQR hay gặp *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* hay gặp trong viêm quanh răng mạn tính dạng toàn thể. Đây là hai vi khuẩn Gram âm, kỵ khí, có rất nhiều gen gây độc như fimbriae (fimA), collagenase (prtC), hemagglutinins, haemolysin, LPS, proteases, kháng nguyên vỏ và leukotoxin (lktA).

1.3. Các phương pháp điều trị bệnh viêm quanh răng

Điều trị VQR thành công tùy thuộc việc chẩn đoán sớm, kiểm soát được vi khuẩn gây bệnh. Điều trị VQR cần thời gian dài và phải tái khám, theo dõi thường xuyên. Có hai phương pháp chính: điều trị không phẫu thuật và điều trị phẫu thuật kết hợp với kháng sinh tại chỗ hay toàn thân.

Điều trị không phẫu thuật: là một phức hợp điều trị bao gồm cạo vôi răng, xử lý mặt chân răng, loại bỏ các yếu tố thuận lợi. Chỉ định: túi quanh răng < 5mm, mất bám dính 3-4 mm (trung bình), răng lung lay độ I hoặc II..

1.4. Một số phương pháp phát hiện vi khuẩn trong viêm quanh răng

Có nhiều phương pháp được sử dụng để phát hiện vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans* và *P. gingivalis* trong bệnh VQR: nuôi cấy, miễn dịch, sinh học phân tử (phản ứng chuỗi PCR, real-time PCR). Kỹ thuật real-time PCR là kỹ thuật PCR mà sản phẩm khuếch đại DNA đích hiển thị cùng lúc mỗi chu kỳ nhiệt của phản ứng, nên được gọi là PCR thời gian thực. Realtime PCR định lượng được DNA đích nên còn gọi là PCR định lượng (qPCR). Verner và c.s. (2006) nhận định qPCR nhạy hơn kỹ thuật nuôi cấy. Tỷ lệ vi khuẩn phát hiện bằng realtime PCR cao hơn kỹ thuật nuôi cấy, mức độ chênh lệch trong định lượng DNA giữa kỹ thuật realtime PCR với kỹ thuật nuôi cấy lần lượt là 51,4% đối với *P. gingivalis*, 36,1% đối với *T. forsythensis*, 12,5% đối với *F. nucleatum*, 8,3% đối với *P. intermedia*, 3% đối với *A. actinomycetemcomitans*. Kỹ thuật Realtime PCR ngày càng được áp dụng nhiều trong chuẩn đoán vi khuẩn gây bệnh viêm quanh răng do độ nhạy cao, dễ thực hiện, cho kết quả nhanh giúp cho điều trị trúng đích đạt hiệu quả cao.

Chương 2

PHƯƠNG PHÁP VÀ ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

70 bệnh nhân đến khám, được chẩn đoán và điều trị VQR mạn tính tại Khoa Nha chu của Bệnh viện Răng Hàm Mặt tp. Hồ Chí Minh từ 01/10/2011 đến 30/10/2014.

2.1.1. Tiêu chuẩn chọn mẫu: tuổi ≥ 30 . Chẩn đoán xác định VQR mạn tính dạng toàn thể, có túi quanh răng $\geq 3\text{mm}$, đang trong thời kỳ hoạt động biểu hiện bằng viêm lợi, chảy máu túi khi thăm khám bằng cây đo túi Miller. Còn tối thiểu 20 răng. Không có tiền sử bệnh tim mạch, đái tháo đường, bệnh nội tiết, bệnh chuyển hóa. Không sử dụng thuốc kháng sinh, kháng viêm, thuốc tránh thai trước khi tham gia nghiên cứu 1 tháng. Không điều trị bệnh lý quanh răng trước khi tham gia nghiên cứu 3 tháng. Không có thói quen hút thuốc lá. Đồng ý tham gia nghiên cứu. Lấy được bệnh phẩm để làm xét nghiệm realtime PCR, xác định và định lượng được hai vi khuẩn *A.actinomycetemcomitans* và *P.gingivalis* trong mẫu bệnh phẩm.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ: đang có áp xe quanh răng hoặc áp xe quanh thân răng hàm lớn thứ ba. Bệnh nhân mắc các bệnh toàn thân. Đang có thai hoặc cho con bú. Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu hoặc không lấy được bệnh phẩm. Kết quả xét nghiệm realtime PCR chỉ có *A.actinomycetemcomitans* hoặc *P.gingivalis*.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu: Thử nghiệm lâm sàng, đánh giá kết quả trước - sau điều trị.

2.2.2. Cỡ mẫu nghiên cứu: cách tính cỡ mẫu theo công thức $N = Z^2_{1-\alpha/2} P(1-P)/d^2$ với độ chính xác $d=10\%$, độ tin cậy 95%, P là tỷ lệ điều trị đạt kết quả theo tiêu chuẩn hết VQR khoảng 80%, $\alpha=0,05$, $Z^2_{1-\alpha/2} = 1,96^2$, cỡ mẫu tối thiểu là 62 bệnh nhân. Để tăng độ chính xác và giảm sai lầm do kỹ thuật, mẫu chính thức là 70 bệnh nhân.

2.2.3. Các bước tiến hành nghiên cứu

❖ Ngày đầu tiên (Thời điểm T_0):

(1) Khám, đánh giá các chỉ số lâm sàng: + Chỉ số mảng bám (PLI) và viêm lợi (GI) theo Silness và Løe (1964) có 4 mức độ. + Độ sâu túi quanh răng (PPD) và mất bám dính lâm sàng (CAL) tính bằng mm. + Răng lung lay theo Miller từ độ I tới III. + Đánh giá mức độ và dạng tiêu xương ổ răng: chụp phim toàn cảnh kỹ thuật số (Panorex).

(2) Lấy mẫu bệnh phẩm làm xét nghiệm realtime PCR định lượng vi khuẩn *A.actinomycetemcomitans* và *P.gingivalis* lần 1.

(3) Hướng dẫn bệnh nhân cách vệ sinh răng miệng: chải răng theo kỹ thuật Bass cải tiến, sử dụng chải mềm và kem đánh Colgate Total. Đưa cho bệnh nhân tờ rơi nhắc nhở về cách chải răng (Phụ lục).

❖ **Sau 1 tuần:** khi có kết quả realtime PCR. Điều trị theo phác đồ cho bệnh nhân. Hẹn bệnh nhân tái khám sau 1 tuần.

❖ **Sau 2 tuần (Thời điểm T_1):** Bệnh nhân tái khám, đánh giá các chỉ số lâm sàng, duy trì các phương pháp hỗ trợ cơ học. Lấy

mẫu bệnh phẩm làm xét nghiệm realtime PCR định lượng vi khuẩn *A.actinomycetemcomitans* và *P.gingivalis* lần 2. Hẹn bệnh nhân tái khám sau 04 tuần, 08 tuần, 12 tuần (mốc hẹn bệnh nhân là thời điểm T_0).

❖ **Sau 12 tuần (Thời điểm T_2):** Bệnh nhân tái khám, đo các chỉ số trên lâm sàng, chụp phim toàn cảnh.

- Lấy mẫu bệnh phẩm làm xét nghiệm realtime PCR định lượng vi khuẩn *A.actinomycetemcomitans* và *P.gingivalis* lần 3.

2.2.3.1. Tiêu chuẩn chẩn đoán VQR mạn tính dạng toàn thể

- Túi quanh răng ≥ 3 mm, đang hoạt động (chảy máu khi thăm dò). Răng lung lay độ I – III. Giảm chiều cao của mào xương ổ răng: $3 \text{ mm} < \text{mào xương ổ răng}$ (trên phim Panorex kỹ thuật số). Khi tổn thương hiện diện $> 30\%$ các răng trên cung hàm.

2.2.3.2. Tiêu chuẩn xác định hết VQR mạn tính dạng toàn thể

❖ Để đánh giá kết quả sau điều trị, chúng tôi dựa vào các tiêu chí sau: Tình trạng lợi viêm: chỉ số GI và chỉ số PLI. Độ sâu túi lợi (PPD). Tình trạng xương ổ răng sau điều trị. Kết quả xét nghiệm realtime PCR định lượng vi khuẩn *A.actinomycetemcomitans* và *P.gingivalis* âm tính hoặc có số lượng rất ít (chuẩn định lượng âm tính hoặc < 100 copy/mẫu). Đánh giá kết quả sau điều trị được chia làm 3 mức độ: tốt, khá, trung bình.

2.2.4. Kỹ thuật lấy bệnh phẩm

- Các vật liệu (gòn cuộn, côn giấy số 30) và dụng cụ đều được khử khuẩn.

- Lấy bệnh phẩm dịch lợi ở túi quanh răng có chảy máu khi thăm khám và sâu nhất trong các túi khi thăm dò vào ngày đầu tiên trong nghiên cứu.

- Cách lấy bệnh phẩm dịch lợi: cách ly nước bọt với vùng răng lấy mẫu bằng gòn cuộn. Sau khi lau sạch mảng bám trên lợi và thổi nhẹ cho khô, đưa 5 cây côn giấy số 30 và dài 21 mm vô trùng vào đến đáy túi (thao tác nhẹ, tránh chảy máu), để trong 10 giây, lấy côn giấy ra và cho vào lọ effendorf có nắp đậy. Mẫu vi khuẩn *A.actinomycetemcomitans* và *P.gingivalis* được lấy trên bệnh nhân VQR tại khoa Nha chu của Bệnh viện Răng Hàm Mặt tp. Hồ Chí Minh, sau đó được tách chiết DNA và bảo quản ở tủ lạnh sâu (nhiệt độ -80°C - tủ chuyên biệt SANYO) tại khoa xét nghiệm của bệnh viện cho đến khi thực hiện phân tích tại Trung tâm nghiên cứu Gen-Protein của trường Đại học Y Hà Nội (khi gửi mẫu ra Hà Nội theo đường hàng không chỉ cần để trong thùng đá, một tuần gửi mẫu/lần).

2.2.5. Xác định và định lượng vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans* và *P. gingivalis* bằng kỹ thuật realtime PCR

- ❖ *Tách chiết DNA*: Mẫu bệnh phẩm (dịch lợi) được rửa trong 1ml dịch PBS, ly tâm lấy cạn và tiến hành tách chiết DNA từ dịch cạn bằng bộ Kit QIAamp DNA Mini (QIAGEN-USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- ❖ Nghiên cứu này định lượng tương đối tỷ lệ *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* trong tổng số hệ vi khuẩn. Cách tính lượng vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* theo phương pháp so sánh chu kỳ ngưỡng (Ct):

$$\text{Tỉ lệ } Aa \text{ (hoặc } Pg) = \frac{\text{Ct của các vi khuẩn } 16S \text{ rDNA}}{\text{Ct của } Aa \text{ (hoặc } Pg)}$$

Theo công thức trên, khi chu kỳ ngưỡng (Ct) phát hiện *P. gingivalis* càng thấp, tỷ lệ *P. gingivalis* càng tăng cho biết số lượng *P. gingivalis* trong bệnh phẩm càng nhiều. Điều này phù hợp số lượng *P. gingivalis* nhiều hơn thì cần ít chu kỳ nhiệt khuếch đại hơn. *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* âm tính khi đường biểu diễn realtime PCR thấp hơn đường nền; dương tính khi khi đường biểu diễn realtime PCR vượt cao hơn đường nền.

2.2.6. Phác đồ điều trị không phẫu thuật áp dụng đối với đối tượng nghiên cứu

Lấy vôi răng trên và dưới lợi bằng máy siêu âm cho bệnh nhân. Xử lý mặt chân răng, bơm rửa túi quanh răng bằng dung dịch Chlorhexidine 0,12%. Mài chỉnh khớp cắn, cố định các răng lung lay, nhổ răng, làm phục hình tùy theo trường hợp trên lâm sàng. Kháng sinh Metronidazole 1,5g/ngày chia 3 lần, kết hợp với Doxycycline 100mg/ngày chia 3 lần, dùng trong 7 ngày. Súc miệng bằng dung dịch Chlorhexidine 0,12% ở dạng biệt dược là Kin Gingival Mouthwash. Chải răng bằng kem chải răng Colgate Total, ngày 3 lần, sau khi ăn theo phương pháp Bass cải tiến (Phụ lục).

2.2.7. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

1) Các đối tượng nghiên cứu được cung cấp thông tin đầy đủ về việc tham gia nghiên cứu và hoàn toàn tự nguyện tham gia vào nghiên cứu. 2) Các đối tượng nghiên cứu được miễn phí hoàn toàn các chi phí điều trị và xét nghiệm. Mọi dữ liệu cá nhân thu thập trong

ngiên cứu được mã hóa và giữ bí mật, không phục vụ mục đích nào khác ngoài cam kết đối với đề tài nghiên cứu đang thực hiện.

2.3. Xử lý và phân tích số liệu: nhập số liệu bằng Excel và xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS. Áp dụng kiểm định T bất cặp để so sánh các chỉ số lâm sàng và xét nghiệm ở các thời điểm trước và sau điều trị. Sử dụng tương quan Spearman's vì các biến số như độ sâu túi quanh răng, mất bám dính lâm sàng, răng lung lay, số lượng vi khuẩn là các biến số độc lập, mối quan hệ giữa các biến là quan hệ tuyến tính và không theo phân bố chuẩn.

Chương 3

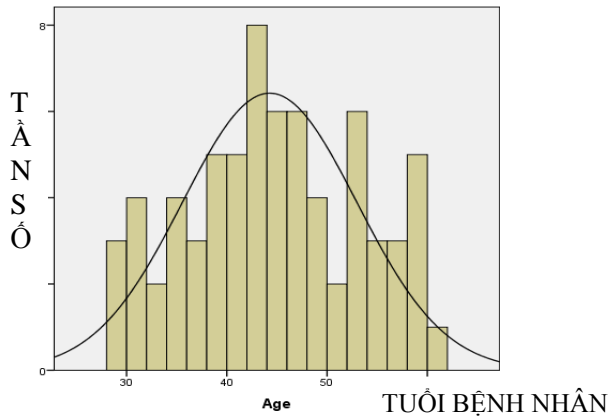
KẾT QUẢ

3.1. Đặc điểm tuổi và giới tính của nhóm nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm tuổi và giới tính của đối tượng nghiên cứu

Giới tính	Số lượng		Tuổi
	n	%	
<i>Nam</i>	44	62,9%	45,14 ± 8,78
<i>Nữ</i>	26	37,1%	42,81 ± 8,51
<i>Tổng số</i>	70	100%	44,27 ± 8,69

Nhận xét: Tổng số 70 bệnh nhân tham gia nghiên cứu với độ tuổi trung bình là $44,27 \pm 8,69$ tuổi, tuổi lớn nhất là 60 và tuổi nhỏ nhất là 29; bệnh nhân nam = 44 người, chiếm tỷ lệ 62,9%, tuổi trung bình $45,14 \pm 8,78$; bệnh nhân nữ = 26 người, chiếm tỷ lệ 37,1%, tuổi trung bình $42,81 \pm 8,51$.



Biểu đồ 3.1. Phân bố về độ tuổi của đối tượng nghiên cứu

Nhận xét: Biểu đồ 3.1 cho thấy độ tuổi mắc bệnh VQR trong nhóm nghiên cứu có sự phân bố chuẩn tạo thành đường cong hình chuông, số bệnh nhân bị bệnh ở tuổi 44 nhiều nhất ($n = 6$).

3.2. Đặc điểm lâm sàng và vi khuẩn của bệnh nhân viêm quanh răng tại ngày khám đầu tiên (T_0)

3.2.1. Đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân VQR tại ngày khám đầu tiên (T_0)

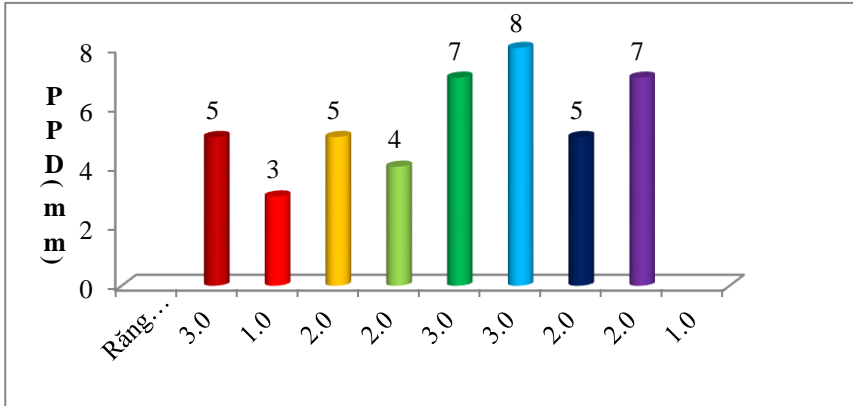
Bảng 3.2. Đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân VQR tại ngày khám đầu tiên (T_0)

Đặc điểm lâm sàng	Bệnh nhân VQR mạn tính $n=70$ ($\bar{X} \pm SD$)
PLI	$2,67 \pm 0,56$
GI	$2,37 \pm 0,93$
PPD (mm)	$5,78 \pm 1,35$
CAL (mm)	$5,73 \pm 3,15$
Răng lung lay	$1,96 \pm 0,95$
Dạng tiêu xương (Phim Panorex kỹ thuật số)	78,6 %
+ Tiêu xương ngang (%)	12,9 %
+ Tiêu xương chéo (%)	8,6 %
+ Tiêu xương ngang và chéo(%)	

Nhận xét: Trong ngày khám đầu tiên, nhìn chung tất cả bệnh nhân có tình trạng bệnh lý nặng: các chỉ số mảng bám răng và chỉ số lợi đều rất cao với điểm số trung bình trong khoảng $2 \div 3$; răng lung

lay nhiều, mm $5 < \text{túi quanh răng (trung bình)} < 7 \text{ mm}$, mất bám dính nặng $> 5\text{mm}$.

3.2.1.5. Tương quan giữa độ sâu túi, mất bám dính lâm sàng và răng lung lay trên bệnh nhân VQR tại ngày khám đầu tiên



Biểu đồ 3.5. Độ sâu túi, mất bám dính và răng lung lay trên bệnh nhân VQR (ghi chú: trục tung là độ sâu túi, trục ngang là răng lung lay, mỗi bệnh nhân là 1 cột màu khác nhau, số ghi trên cột là mất bám dính).

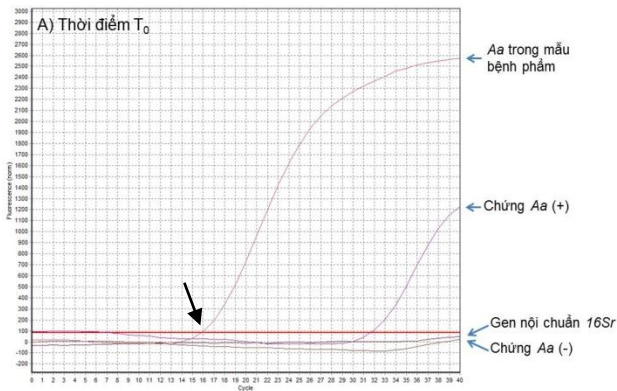
Nhận xét: độ sâu túi và răng lung lay tương quan thuận và chặt với $R = 0,28$ nhỏ hơn +1 (tương quan Spearman's, $p < 0,05$). Độ sâu túi 3mm thì răng lung lay ở mức 1, độ sâu túi trên 3 mm thì răng lung lay ở mức 2 và 3. Mất bám dính và răng lung lay tương quan thuận và chặt với $R = 0,63$ nhỏ hơn +1 (tương quan Spearman's, $p < 0,05$). Có tương quan mật thiết giữa độ sâu túi quanh răng với sự lung lay của răng và mất bám dính lâm sàng. Túi càng sâu thì mất bám dính và răng lung lay càng nhiều với $R < +1$ ($p < 0,05$, tương quan Spearman's).

3.2.2. Đặc điểm vi khuẩn của bệnh nhân VQR tại ngày khám đầu tiên (T_0)

Bảng 3.4. Đặc điểm vi khuẩn của bệnh nhân VQR tại ngày khám đầu tiên (T_0)

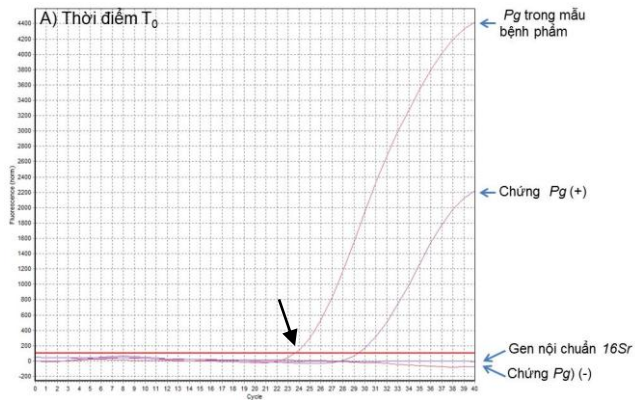
Vi khuẩn <i>A.actinomycetemcomitans</i> và <i>P.gingivalis</i>	Bệnh nhân VQR mạn tính n=70 ($\bar{X} \pm SD$)
Số lượng Aa ở dịch lợi (Ct)	20,29 ± 3,31
Tỷ lệ Aa ở dịch lợi	0,67 ± 0,13
Số lượng Pg ở dịch lợi (Ct)	20,35 ± 3,94
Tỷ lệ Pg ở dịch lợi	0,68 ± 0,18

Nhận xét: số lượng vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* phát hiện được ở chu kỳ ngưỡng (Ct) thấp có nghĩa lượng vi khuẩn tồn tại với số lượng rất nhiều ở những bệnh nhân VQR. Tỷ lệ vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* so với tổng số vi khuẩn trong miệng chiếm tỷ lệ cao 0,67% và 0,68%.



Hình 3.5. Kết quả realtime PCR bệnh nhân mã số 01

(Chu kỳ ngưỡng Aa tại $T_0 = 16$ Ct)



Hình 3.6. Kết quả realtime PCR bệnh nhân mã số 01

(Chu kỳ ngưỡng Pg tại $T_0 = 22,35$ Ct)

3.2.2.1. Tương quan giữa độ sâu túi quanh răng và số lượng vi khuẩn trên bệnh nhân VQR tại ngày khám đầu tiên

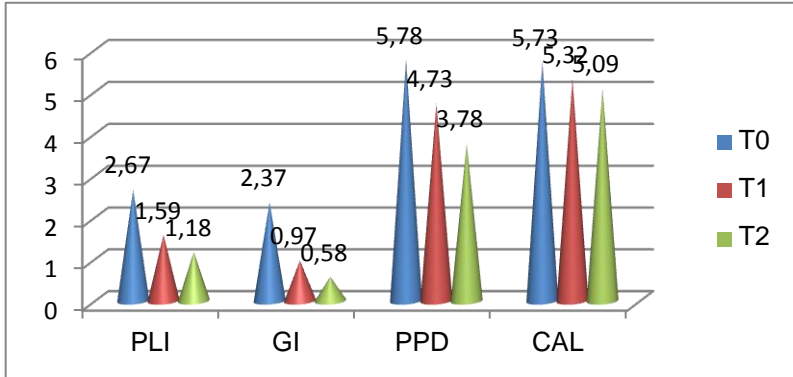
Bảng 3.5. Tương quan giữa độ sâu túi quanh răng và số lượng vi khuẩn trên bệnh nhân VQR tại ngày khám đầu tiên

		Vi khuẩn <i>Aa</i>	Vi khuẩn <i>Pg</i>
Độ sâu túi (PPD)	R* Tương quan Spearman's	-0,07	-0,18
	p	0,56	0,10
	n	70	70

Nhận xét: tương quan giữa độ sâu túi quanh răng và số lượng vi khuẩn *A. Actinomycetemcomitans*, *P.gingivalis* là tương quan nghịch với $R > -1$ (bảng 3.5), có nghĩa độ sâu túi càng sâu thì lượng vi khuẩn càng nhiều.

3.6. So sánh đặc điểm lâm sàng và vi khuẩn tại các thời điểm T_0 , T_1 và T_2

3.6.1. So sánh đặc điểm lâm sàng tại các thời điểm T_0 , T_1 và T_2



Biểu đồ 3.10. So sánh các đặc điểm lâm sàng tại các thời điểm T_0 , T_1 và T_2 (ghi chú: p_1 : so sánh T_0 với T_1 , p_2 so sánh T_0 và T_2 . * $p \leq 0,001$: rất có ý nghĩa thống kê. Phép kiểm Wilcoxon)

Nhận xét: sau 3 tháng điều trị VQR bằng phương pháp không phẫu thuật kết hợp với kháng sinh toàn thân, các triệu chứng lâm sàng về chỉ số mảng bám răng (PLI), chỉ số lợi (GI), độ sâu túi quanh răng (PPD), mất bám dính lâm sàng (CAL) giảm khác biệt có ý nghĩa thống kê: + Chỉ số PLI: từ mức độ kém về trung bình. + Chỉ số GI: nặng về mức độ trung bình. Độ sâu túi quanh răng (PPD): từ 5,78 mm giảm còn 3,78 mm (T_2 giảm 2/3 so với T_0).

3.6.2. So sánh số lượng vi khuẩn tại các thời điểm T_0 , T_1 và T_2

Bảng 3.10. So sánh số lượng vi khuẩn tại các thời điểm T_0 , T_1 và T_2

Đặc điểm lâm sàng	$\bar{X} \pm SD$			P_1	P_2
	T_0	T_1	T_2		
Số lượng <i>Aa</i> ở dịch lợi (Ct)	20,29 ± 3,31	26,65 ± 4,04	26,45 ± 3,26	0,000*	0,000*
Tỷ lệ <i>Aa</i> ở dịch lợi	0,67 ± 0,13	0,62 ± 0,21	0,49 ± 0,31	0,432	0,000*
Số lượng <i>Pg</i> ở dịch lợi (Ct)	20,35 ± 3,94	25,78 ± 4,08	24,80 ± 4,67	0,000*	0,000*
Tỷ lệ <i>Pg</i> ở dịch lợi	0,68 ± 0,18	0,67 ± 0,19	0,61 ± 0,15	0,83	0,000*

p_1 : so sánh T_0 với T_1 , p_2 so sánh T_0 và T_2 . * $p \leq 0,001$: rất có ý nghĩa thống kê. Phép kiểm Wilcoxon

Nhận xét: so sánh số lượng vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans* các thời điểm T_0 , T_1 và T_2 khác biệt có ý nghĩa thống kê $p = 0,000$; nhưng tỷ lệ vi khuẩn này so với hệ vi khuẩn trong miệng tại thời điểm T_0 và T_1 có khác biệt $0,04 \pm 0,08$ với $p = 0,432$ không có ý nghĩa thống kê; tại T_0 và T_2 khác biệt $0,18 \pm 0,18$ với $p = 0,000$ rất có ý nghĩa thống kê. So sánh số lượng vi khuẩn *P. gingivalis* tại thời điểm $T_0 - T_1$ và $T_0 - T_2$ khác biệt có ý nghĩa thống kê $p = 0,000$. Tỷ lệ vi khuẩn *P. gingivalis* so với hệ vi khuẩn trong miệng tại thời điểm T_0 và T_1 có khác biệt $0,01 \pm 0,01$ với $p = 0,83$ không có ý nghĩa thống kê; so sánh T_0 và T_2 khác biệt $0,07 \pm 0,03$ với $p = 0,000$ rất có ý nghĩa thống kê.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm về tuổi và giới tính của đối tượng nghiên cứu

70 bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi có độ tuổi $29 \div 60$, bao gồm nam giới = 44 người (62,9%) với tuổi trung bình $45,14 \pm 8,78$, nữ giới = 26 người (37,1%) có tuổi trung bình $42,81 \pm 8,51$, phù hợp với lứa tuổi bị bệnh VQR mạn tính theo phân loại của Hiệp hội Nha chu thế giới (AAP), với nghiên cứu của Marta Gajardo (2005) và các nghiên cứu về bệnh này trong nước của Nguyễn Cẩn (1994), Trần Văn Trường (2000). Như vậy, bệnh VQR là một bệnh lý phổ biến tại Việt Nam, tỷ lệ mắc bệnh trong nghiên cứu này cao hơn so với điều tra của Trần Văn Trường hay Nguyễn Cẩn vì bệnh nhân tham gia nghiên cứu được lựa chọn tại khoa Nha chu của Bv. Răng Hàm Mặt TP.Hồ Chí Minh, do đó số bệnh nhân tập trung điều trị nhiều hơn.

4.2. Biến số nghiên cứu và kỹ thuật xác định các biến số nghiên cứu

Các chỉ số lâm sàng áp dụng trong nghiên cứu này để chẩn đoán xác định, đánh giá mức độ viêm quanh răng như: chỉ số lợi (GI), chỉ số mảng bám (PLI), độ sâu túi (PPD), độ mất bám dính lâm sàng (CAL) và răng lung lay là những chỉ số thông dụng được áp dụng trong các nghiên cứu về bệnh VQR cũng như trong thực hành lâm sàng trên thế giới và ở Việt Nam. Trong các phương pháp phát

hiện vi khuẩn, kỹ thuật realtime PCR có độ nhạy và đặc hiệu cao, nhanh nhất được sử dụng rất nhiều trong các nghiên cứu về vi khuẩn gây bệnh VQR trên thế giới. Nghiên cứu này bước đầu áp dụng realtime PCR định lượng vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* trước và sau điều trị VQR, là nghiên cứu tiền đề về triển khai các ứng dụng của kỹ thuật realtime PCR định lượng vi khuẩn gây bệnh VQR ở nước ta.

4.3. Phương pháp điều trị: Trong điều trị bệnh VQR, nhiều nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh phương pháp điều trị không phẫu thuật kết hợp với kháng sinh toàn thân đạt kết quả tốt cho dù bệnh nhân bị VQR nặng, túi lợi sâu, mất bám dính nhiều hay có bệnh lý toàn thân như: bệnh tim, tiểu đường cũng như bệnh nhân đang mang thai.

4.4. Đặc điểm lâm sàng và vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* tại ngày khám đầu tiên (T₀)

Theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi, trong ngày khám đầu tiên (T₀) các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng cho thấy các bệnh nhân bị viêm quanh răng thể trung bình và nặng.

Tương tự như nghiên cứu của Phùng Tiến Hải (2008), Nguyễn Thị Hồng Minh (2010), Joshi (2007), M.R. Vivekananda (2010).

Số lượng vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* định lượng bằng kỹ thuật realtime PCR lần lượt là $20,29 \pm 3,31$ Ct và $20,35 \pm 3,94$ Ct với tỷ lệ phát hiện là 100%. Tỷ lệ này cao hơn so với

nghiên cứu của Joshi (2007): *A. actinomycetemcomitans* 35%, *P. gingivalis* 75%; Nezar N Al-hebshi (2014) tại Yemen (67,5% *A. actinomycetemcomitans*; 97,5% *P. gingivalis*).

Tỷ lệ phát hiện 2 vi khuẩn này bằng phương pháp nuôi cấy trong nghiên cứu của Nguyễn Vũ Trung (1996) thấp hơn nghiên cứu này: tỷ lệ phát hiện *A. actinomycetemcomitans* 4% và *C. gingivalis* 9%. Nguyễn Thị Hồng Minh (2010) sử dụng kỹ thuật PCR không phát hiện được 2 vi khuẩn này.

Liên quan giữa độ sâu túi và răng lung lay, mất bám dính lâm sàng: VQR là một bệnh nhiễm khuẩn, phá hủy mô mềm cũng như mô cứng quanh răng gây tiêu xương ổ răng tạo thành túi quanh răng và làm cho răng lung lay. Nghiên cứu dọc của Loe (1998), Xiyang Pei (2014), Socransky (1992), Goodson JM (1982) theo dõi sự tiêu xương ổ răng trên bệnh nhân VQR cho thấy tỷ lệ tiêu xương và mất bám dính là 0,8%/năm, nếu không điều trị thì lượng xương bị tiêu trung bình 0,1-1mm/năm.

Tương quan giữa độ sâu túi quanh răng và số lượng vi khuẩn A. actinomycetemcomitans, P. gingivalis: trong nghiên cứu này phát hiện *A. actinomycetemcomitans* với tỷ lệ 0,67%, *P. gingivalis* là 0,68 % trên tổng số vi khuẩn trong miệng. Số lượng các vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans, P. gingivalis* tương quan rất chặt với độ sâu túi quanh răng $R > -1$. Chúng tôi xét mối quan hệ này bằng tương quan Spearman's vì độ sâu túi quanh răng và số lượng vi khuẩn không tuân theo phân bố chuẩn. Số lượng vi

khuẩn *A. actinomycetemcomitans* và *P. gingivalis* có rất nhiều ở độ sâu túi 4-8 mm, ít hơn khi độ sâu túi > 8mm. Tương đồng với các nghiên cứu của Haffajee AD (2000), Marta Gajardo, Socransky (1992), Goodson (1982).

4.6. Đặc điểm lâm sàng và vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans*, *P.gingivalis* sau điều trị 12 tuần (T_2) so với ngày khám đầu tiên (T_0)

Khi bệnh nhân tái khám sau 12 tuần (T_2), chúng tôi thấy các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng và ý thức của bệnh nhân cũng thay đổi rất nhiều so với ngày khám đầu tiên (T_0).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi hay của những nhà nghiên cứu khác trong và ngoài nước như Phùng Tiến Hải, Nguyễn Thị Hồng Minh, Sarah Moideen, Vergani cho thấy phương pháp điều trị không phẫu thuật kết hợp với kháng sinh toàn thân cùng với các phương pháp hỗ trợ cơ học như mài chỉnh khớp cắn, nẹp các răng lung lay, chải răng...có hiệu quả tốt ở bệnh nhân VQR mạn tính dạng toàn thể mặc dù bệnh nhân có túi quanh răng sâu. Phương pháp này cũng đang là xu hướng hiện nay, giảm phẫu thuật, giảm chi phí và thời gian lành thương nhanh.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu 70 bệnh nhân viêm quanh răng mãn tính dạng toàn thể trước và sau điều trị 12 tuần bằng phương pháp không phẫu thuật, chúng tôi đưa ra một số kết luận sau:

1. Đặc điểm, mối tương quan giữa lâm sàng, X-quang, số lượng vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans* và *P. gingivalis* trong dịch lợi trên bệnh nhân viêm quanh răng mãn tính dạng toàn thể:

- Bệnh viêm quanh răng (VQR) mãn tính cũng là một bệnh phổ biến tại Việt Nam cũng như trên thế giới hay gặp ở tuổi trên 30 nhưng cũng có trường hợp trẻ tuổi hơn. Nguyên nhân gây bệnh chính là hai vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans* và *P. gingivalis*, có số lượng nhiều trong VQR thể trung bình và nặng phù hợp các nghiên cứu khác về định lượng hai vi khuẩn này bằng kỹ thuật realtime PCR.

- Các chỉ số lâm sàng: viêm lợi, độ sâu túi quanh răng, mất bám dính lâm sàng có tương quan thuận và chặt với số lượng vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans* và *P. gingivalis*.

- Tương quan giữa tuổi và các dạng tiêu xương thuận và chặt.

2. Hiệu quả phương pháp điều trị không phẫu thuật kết hợp với kháng sinh toàn thân đối với VQR mãn tính: có hiệu quả tốt, phù hợp với khuyến hướng điều trị ngày nay, giảm phẫu thuật, giúp lành thương nhanh, tránh sang chấn về tâm lý cho bệnh nhân.

KHUYẾN NGHỊ

Trong những thập niên qua, sinh học phân tử đã góp phần trong việc khảo sát dịch tễ, chẩn đoán và điều trị bệnh quanh răng. Ở Việt Nam, các nghiên cứu về sinh học phân tử và ứng dụng trong ngành Răng Hàm Mặt chỉ mới bắt đầu. Trong nghiên cứu này, lần đầu tiên chúng tôi sử dụng kỹ thuật realtime PCR để theo dõi sự thay đổi về số lượng vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* trước và sau điều trị bệnh VQR mạn tính dạng toàn thể. Dựa vào các kết quả của nghiên cứu, chúng tôi xin có một số khuyến nghị sau:

- Đưa kỹ thuật realtime PCR vào xét nghiệm thường qui để định lượng vi khuẩn *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* hay các vi khuẩn khác trong bệnh VQR, hoặc những bệnh nhiễm trùng khác ở vùng hàm mặt để cung cấp những thông tin, định hướng điều trị như chọn kháng sinh điều trị, đánh giá kết quả điều trị, theo dõi diễn tiến bệnh.

- Điều trị bệnh VQR mạn tính dạng toàn thể theo phương pháp không phẫu thuật kết hợp với kháng sinh toàn thân mang lại kết quả tốt, tuy nhiên để kết quả bền vững cần sự hợp tác giữa bệnh nhân và bác sĩ, nhất là việc áp dụng đúng phương pháp vệ sinh răng miệng.