

论著

文章编号:1000-5404(2014)16-1750-04

西吡氯铵含片对口臭致臭菌和致臭底物作用的实验研究

张波¹, 李丽¹, 张迪², 刘长虹², 段培佳², 钟惠兰² (445000 湖北恩施, 湖北民族学院附属民大医院口腔科¹; 510280 广州, 南方医科大学附属口腔医院·广东省口腔医院²)

[摘要] **目的** 通过西吡氯铵含片对口源性口臭致臭菌和致臭底物的实验研究,探讨西吡氯铵含片对口源性口臭治疗的效果。**方法** 通过连续稀释法检测西吡氯铵对致臭菌牙龈卟啉单胞菌(*P. gingivalis*, *Pg*)、中间普雷沃菌(*P. intermedia*, *Pi*)、具核梭杆菌(*F. subsp nucleatum*, *Fn*)和口腔正常有益菌唾液链球菌(*Streptococcus salivarius*, *Ss*)的最低抑菌浓度(minimal Inhibitory Concentration, MIC);并检测西吡氯铵对3种致臭菌分别培养4h和8h后的挥发性硫化物(volatile sulfur compounds, VSCs)水平的影响;进一步通过半胱氨酸激发模拟口臭实验,检测西吡氯铵含片对激发的VSCs的抑制率和持续时间。**结果** 西吡氯铵对所有实验菌具有抑菌能力,但对唾液链球菌MIC值均高于其对致臭菌的MIC值;1%西吡氯铵与1%氯己定在作用*Pg*、*Pi*和*Fn*4h时,抑制作用相当($P > 0.05$),但在作用8h时,抑制作用西吡氯铵低于氯己定($P < 0.05$);半胱氨酸激发模拟口臭实验结果显示,西吡氯铵含片在30~120min内对VSCs水平的抑制率与1%聚维酮碘漱口液相当($P > 0.05$),在60~120min内高于西吡氯铵漱口液($P < 0.05$)。且西吡氯铵含片下调半胱氨酸激发的VSCs水平的持续时间为235min,长于西吡氯铵漱口液,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 西吡氯铵含片能有效抑制口腔致臭菌,对治疗口源性口臭有良好的效果。

[关键词] 西吡氯铵;口臭;挥发性硫化物

[中图分类号] R781.9;R965;R978.2

[文献标志码] A

Effects of cetylpyridinium chloride buccal tablets on halitosis-correlated bacteria and substrate

Zhang Bo¹, Li Li¹, Zhang Di², Liu Changhong², Duan Peijia², Zhong Huilan² (¹Department of stomatology, Affiliated Hospital of Hubei Institute for Nationalities, Enshi, Hubei Province 445000; ²Southern Medical University & Guangdong Provincial Stomatological Hospital, Guangzhou, Guangdong Province, 510280, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the effects of cetylpyridinium chloride buccal tablets on halitosis-correlated bacteria and substrate. **Methods** Three halitosis-correlated bacteria *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Prevotella intermedia* (*Pi*), and *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*) and a normal bacterium *Streptococcus salivarius* (*Ss*) were chosen as the experimental bacteria. The minimal inhibitory concentration (MIC) was tested with serial dilution test. The volatile sulfur compounds (VSCs) were detected with Halimeter in 4 and 8 h after cetylpyridinium chloride buccal tablet treatment of the 3 anaerobic bacteria. The effects of cetylpyridinium chloride on the odor production of mouth-borne halitosis-correlated bacteria *in vivo* were assessed with cysteine challenge test, and the effectiveness was determined by the percentage of the VSCs response and effect duration. **Results** The data of the serial dilution test showed that cetylpyridinium chloride had antimicrobial activity, and the MIC against *Ss* was higher than those against the three halitosis-correlated bacteria. Cetylpyridinium chloride (1%) significantly inhibited the production of VSCs in *Pg*, *Pi* and *Fn* and its efficacy was equivalent with 1% after 4 h treatment ($P > 0.05$). However, its inhibitory efficacy was lower than after 8 h treatment ($P < 0.05$). The cysteine challenge test data showed that the cetylpyridinium chloride buccal tablets significantly lowered the levels of VSCs. And their inhibitory efficacy was equivalent with that of 1% povidone iodine mouthwash within 30 to 120 min ($P > 0.05$) and superior to cetylpyridinium chloride mouthwash within 60 to 120 min ($P < 0.05$). Moreover, the cetylpyridinium chloride buccal tablets had duration of action of 235 min, also superior to cetylpyridinium chloride mouthwash ($P < 0.05$). **Conclusion** Cetylpyridinium chloride tablets resists halitosis by killing mouth-borne halitosis-correlated bacteria and reducing the levels of VSCs.

[Key words] cetylpyridinium chloride; halitosis; volatile sulfur compounds

Corresponding author: Zhang Di, E-mail: Zhangdiqqzd@126.com.

口臭的成因分为外因和内因,外因有吸烟、饮酒或是进食大蒜、洋葱等具刺激性气味食物或其他刺激性调料,从口腔及消化道直接发出臭味;内因则是由于口腔或肠胃系统性疾病引起。其中口腔因素引起的口臭称为口源性口臭。并且据统计高达80%~90%口臭的发生是口腔内微生物代谢产生^[1]。大量研究证明口臭与口腔内微生物和口气中的挥发性硫化物(volatile sulfur compounds, VSCs)存在密切关系,并且发现舌苔和牙周袋是VSCs产生的主要部位^[1-2]。而致臭微生物主要是牙龈卟啉单胞菌(*P. gingivalis*, Pg)、中间普雷沃菌(*P. intermedius*, Pi)和核梭杆菌(*F. subsp nucleatum*, Fn)^[3-4]。因此,本研究重点观察西吡氯铵含片对致臭微生物激发的口臭的抑制作用,检验该药物对口臭的疗效,为该药物治疗口源性口臭的应用提供数据支持。

1 资料与方法

1.1 菌种与试剂

Pg、Pi、Fn和唾液链球菌(*Streptococcus salivarius*, Ss)均由广东省口腔医院提供。上述冻干菌株经复苏,经形态生化鉴定后,培养于BHI-S琼脂和BHI-S液体培养基。PBS缓冲液制备细菌混悬液(0.5×10^8 CFU/mL),备用。

西吡氯铵含片购于台湾黄氏制药股份有限公司;西吡氯铵含漱液购于杭州民生药业集团有限公司;氯己定含漱液购于重庆天圣制药有限公司;聚维酮碘含漱液购于西安康华药业有限公司。

1.2 药物对实验菌株最低抑菌浓度的测定^[5]

将西吡氯铵含片研磨成粉,加入TPY液体培养基中,稀释成西吡氯铵药物终浓度为1、0.500、0.250、0.125、0.062、0.032、0.016、0.0078 mg/mL然后加入等量细菌混悬液。另设对照组为不含药物的培养液,空白对照为不含药物和细菌的培养液,摇匀,在37℃厌氧(80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂混合气体)条件下培养48 h。通过标尺测定菌落直径来确定最低药物浓度为其MIC值。以上实验重复测定3次。

1.3 挥发性硫化物的测定^[5-6]

该实验分为1%西吡氯铵组、阴性对照组和1%氯己定组。1%西吡氯铵组:取备用细菌混悬液,加入西吡氯铵的TPY溶液,使西吡氯铵的终浓度为1%;阴性对照组:备用细菌混悬液;1%氯己定组:取备用细菌混悬液,加入氯己定的TPY溶液,使氯己定终浓度为1%。3组实验菌在37℃厌氧(80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂混合气体)条件下分别培养4 h和8 h后,硫化物检测仪Halimeter检测VSCs,记录下Halimeter的测量峰值。

1.4 半胱氨酸激发试验^[7]

为考察西吡氯铵含片在体内对口臭致臭菌和底物的影响,我们采用半胱氨酸模拟口臭激发试验。

纳入标准:无消化系统、呼吸系统疾病者;无严重牙周疾病、无广泛龋牙或口腔黏膜病者。排除标准:有消化系统、呼吸

系统疾病者;试验期间因其他原因使用抗生素或非激素类抗炎药者和不能严格执行所有试验要求者。根据以上标准共纳入志愿者共40名,男、女各20名,年龄22~28岁。每位受试对象分别随机接受4种不同的干预措施(西吡氯铵含片、西吡氯铵含漱液、聚维酮碘含漱液和蒸馏水),在每次干预措施之间均有1周的洗脱期。每个受试者用5 mL 10 mmol/L的半胱氨酸水溶液漱口1 min后,每5分钟测量1次受试者呼出气体的VSCs水平,连续测量30 min,并记录最高的VSCs值和VSCs基础值。随后受试者分别含服1片西吡氯铵(规格:西吡氯铵2 mg/片)、2 mL西吡氯铵含漱液(规格:西吡氯铵1 mg/mL)、2 mL聚维酮碘含漱液(规格:聚维酮碘1 mg/mL)漱口和2 mL蒸馏水漱口,各1 min,并测量VSCs值。接着在30、60、120 min时,让受试者用10 mmol/L的半胱氨酸水溶液5 mL漱口1 min观察测量VSCs水平的变化并记录每30分钟内测得的最高VSCs值。一旦受试者呼出气体的VSCs值下降到VSCs基础值后,结束测量。并记录药物作用持续时间和计算VSCs水平抑制率。VSCs水平抑制率=[VSCs(最高值)-VSCs(基础值)]/VSCs(最高值)。

1.5 统计学分析

实验VSCs数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用SPSS 13.0软件进行单因素方差分析。

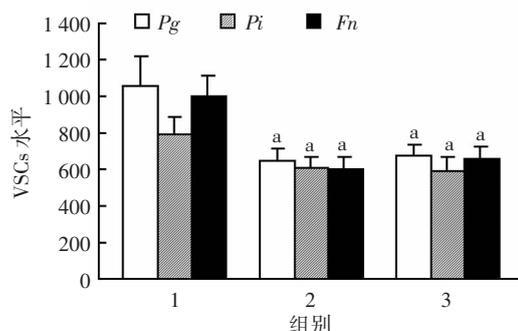
2 结果

2.1 西吡氯铵抑制口腔致臭菌生长

西吡氯铵含片浓度依赖性抑制所有试验菌生长,西吡氯铵含片对Pg、Pi、Fn、Ss的MIC分别为0.032、0.032、0.032、0.052 mg/mL。

2.2 1%西吡氯铵和1%氯己定作用4 h后对各组产生VSCs比较

1%西吡氯铵和1%氯己定分别与Pg、Pi和Fn培养4 h后,产生的VSCs较阴性对照低,差异有统计学意义($P < 0.01$),两组药物对3种菌作用4 h时,抑制效力相当($P > 0.05$)。见图1。



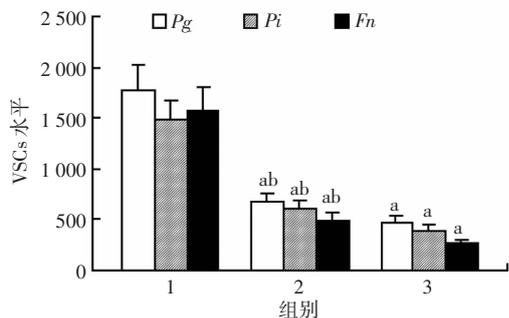
1: 阴性对照组;2:1%西吡氯铵组;3:1%氯己定组;a: $P < 0.05$,与阴性对照组比较

图1 1%西吡氯铵和1%氯己定作用4 h后对各组产生VSCs比较

2.3 1%西吡氯铵和1%氯己定作用8 h后对各组产生VSCs比较

1%西吡氯铵和1%氯己定组分别与Pg、Pi和Fn培养8 h

后,产生 VSCs 数值较阴性对照低,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);两组药物在对 3 种菌作用 8 h 时,1% 氯己定抑制效力强于 1% 西吡氯铵 ($P < 0.05$)。见图 2。

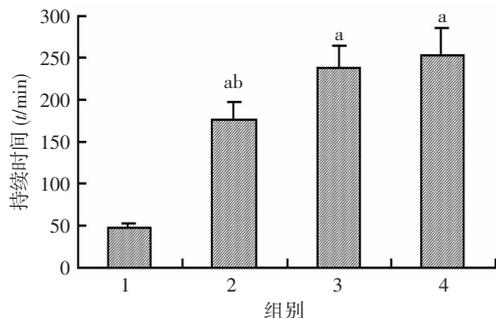


1: 阴性对照组;2: 1% 西吡氯铵组;3: 1% 氯己定组; a: $P < 0.05$, 与阴性对照组比较; b: $P < 0.05$, 与 1% 氯己定组比较

图 2 1% 西吡氯铵和 1% 氯己定作用 8 h 后对各组产生 VSCs 比较

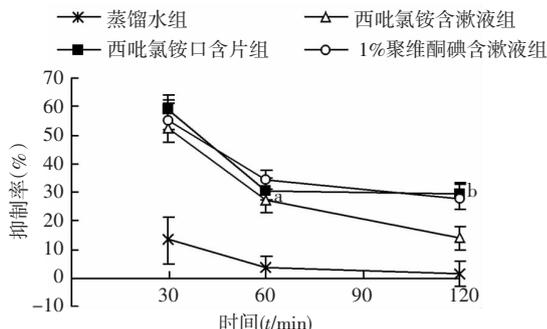
2.4 西吡氯铵口含片对半胱氨酸激发的 VSCs 水平和持续时间的影响

蒸馏水漱口少量降低 VSCs 水平,且持续时间短;使用西吡氯铵含片和 1% 聚维酮碘漱口后均明显下调半胱氨酸激发的 VSCs 水平,且作用持续时间较长;并且西吡氯铵含片与西吡氯铵漱口液对下调半胱氨酸激发的 VSCs 水平的持续时间相比有显著差异 ($P < 0.05$);西吡氯铵含片与 1% 聚维酮碘漱口液对下调半胱氨酸激发的 VSCs 水平的持续时间无统计学差异 (图 3)。西吡氯铵漱口液与西吡氯铵含片相比半胱氨酸激发的 VSCs 水平抑制率在 60 min 时有统计学差异 ($P < 0.05$);西吡氯铵含片与 1% 聚维酮碘漱口液相比,对半胱氨酸激发的 VSCs 水平抑制率无统计学差异 ($P > 0.05$, 图 4)。



1: 蒸馏水组;2: 西吡氯铵含漱液组;3: 西吡氯铵口含片组;4: 聚维酮碘含漱液组; a: $P < 0.01$, 与 1 组比较; b: $P < 0.05$, 与 3 组比较

图 3 各组下调半胱氨酸激发的 VSCs 水平的持续时间



a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与西吡氯铵含漱液比较

图 4 各组在不同时间的 VSCs 水平抑制率比较

3 讨论

口源性口臭,由多种原因引起的口腔微生物环境失调,如:牙龈炎、牙周炎、不良的口腔卫生等,促使菌斑量增加和滞留,厌氧菌、产臭的菌种及牙周致病菌数量、比例增加^[8-9],造成的口腔异味。其中牙龈卟啉单胞菌、中间普雷沃菌、具核梭杆菌,被公认为是口源性口臭的主要菌^[3-4]。本次研究选用此 3 种口腔致臭菌和一种口腔益生菌考察西吡氯铵含片对口源性口臭的影响,结果表明,西吡氯铵含片对上述 4 种菌均有抑杀效力,但对致臭菌的杀灭能力更强。Sreenivasan 等^[10]在体外模拟口臭实验中也发现 0.05% 西吡氯铵对口腔致臭菌的抗菌活性 $>90\%$ 杀伤率。

口臭常用的治疗药物主要是氯己定漱口水和聚维酮碘含漱液^[11]。我们在体外抑菌实验中发现,1% 的西吡氯铵与 1% 的氯己定在 4 h 时对口腔致臭菌抑菌效力相似,在作用 8 h 时抑菌效力 1% 的西吡氯铵略低于 1% 的氯己定。但氯己定长期使用有一定的副作用,如舌痛、口干、味觉改变^[12]。众多研究表明,西吡氯铵拥有口感好、不产生口苦、味觉改变的副作用^[13-14]不影响口腔正常菌落组成^[14-15]。我们在半胱氨酸激发模拟体内 VSCs 试验中发现,西吡氯铵含片和 1% 聚维酮碘含漱液疗效无明显差异,均比治疗前有明显的改善。但 Guzel^[16]研究发现,聚维酮碘在杀伤口腔有害菌时对黏膜有刺激作用,易造成局部红肿、瘙痒,会引起唇齿着色,而西吡氯铵没有上述弊端。更令人振奋的是西吡氯铵含片在抗 VSCs 的生成和抵抗 VSCs 水平的持续时间都优于西吡氯铵含漱液 ($P < 0.05$)。

另有报道,西吡氯铵是一种阳离子型表面活性剂,吸附于细菌表面,降低表面张力,提高细胞壁的通透性,并且在降低菌斑的形成能力^[13]时不会改变口腔正常菌落组成^[10],并且最近研究发现,西吡氯铵能够抑制牙龈卟啉单胞菌和具核梭杆菌 *mgI* 和 *cdI* 的基因表达,而这两个基因是生成甲基硫醇 (CH_3SH) 和硫化氢 (H_2S) 必需基因^[17]。这些可能与西吡氯铵抵抗口臭相关,但具体机制,还需进一步探讨。

参考文献:

- [1] Evirgen S, Kamburoglu K. Effects of tongue coating and oral health on halitosis among dental students[J]. Oral Health Prev Dent, 2013, 11 (2): 169-173.
- [2] Van-Tornout M, Dadamio J, Coucke W, et al. Tongue coating: related factors[J]. J Clin Periodontol, 2013, 40(2): 180-185.
- [3] Kistler J O, Booth V, Bradshaw D J, et al. Bacterial community development in experimental gingivitis[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e71227.
- [4] Shang J J, Yang Q B, Zhao H Y, et al. Preliminary molecular analysis of bacterial composition in periapical lesions with primary endodontic

infections of deciduous teeth [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126 (16): 3112-3117.

[5] 张微云, 叶玮. 茶多酚与维生素 C 联合应用抑制口腔产臭细菌产生挥发性硫化物的体外研究 [J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2011, 5(18): 5462-5464.

[6] 韩静, 杨圣辉, 王左敏. 口源性口臭的检测方法 [J]. *北京口腔医学*, 2009, 17(5): 292-293, 298.

[7] Soares L G, Guaitolini R L, Weyne-Sde C, et al. The effect of a mouthrinse containing chlorine dioxide in the clinical reduction of volatile sulfur compounds [J]. *Gen Dent*, 2013, 61(4): 46-49.

[8] Pham T A, Ueno M, Shinada K, et al. Factors affecting oral malodor in periodontitis and gingivitis patients [J]. *J Invest Clin Dent*, 2012, 3(4): 284-290.

[9] Porter S R. Diet and halitosis [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2011, 14(5): 463-468.

[10] Sreenivasan P K, Haraszthy V I, Zambon J J. Antimicrobial efficacy of 0.05% cetylpyridinium chloride mouthrinses [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2013, 56(1): 14-20.

[11] Pham T A, Ueno M, Zaitus T, et al. Clinical trial of oral malodor treatment in patients with periodontal diseases [J]. *J Periodontal Res*, 2011, 46(6): 722-729.

[12] Schaefer I, Braumann B. Halitosis, oral health and quality of life during treatment with Invisalign (?) and the effect of a low-dose chlorhexidine solution [J]. *J Orofac Orthop*, 2010, 71(6): 430-441.

[13] Yaegaki K, Sanada K. Effects of a two-phase oil-water mouthwash on halitosis [J]. *Clin Prev Dent*, 1992, 14(1): 5-9.

[14] Nascimento A P, Tanomaru J M, Matoba-Junior F, et al. Maximum inhibitory dilution of mouthwashes containing chlorhexidine and polyhexamethylene biguanide against salivary *Staphylococcus aureus* [J]. *J Appl Oral Sci*, 2008, 16(5): 336-339.

[15] Wigger-Alberti W, Gysen K, Axmann E M, et al. Efficacy of a new mouthrinse formulation on the reduction of oral malodour *in vivo*. A randomized, double-blind, placebo-controlled, 3 week clinical study [J]. *J Breath Res*, 2010, 4(1): 017102.

[16] Guzel A, Ozekinci T, Ozkan U, et al. Evaluation of the skin flora after chlorhexidine and povidone-iodine preparation in neurosurgical practice [J]. *Surg Neurol*, 2009, 71(2): 207-210.

[17] Liu J, Ling J Q, Wu C D. Cetylpyridinium chloride suppresses gene expression associated with halitosis [J]. *Arch Oral Biol*, 2013, 58 (11): 1686-1691.

(收稿:2014-01-22;修回:2014-04-17)

(编辑 邓强庭)

(上接 1745 页)

用普通喉镜定级,下同),视频喉镜插管时间为(31.4 ± 13.8)s,普通喉镜插管时间为(53.2 ± 18.6)s, $P=0.000$;声门显露Ⅳ级患者,视频喉镜插管时间为(36.1 ± 17.9)s,普通喉镜插管时间为(112.6 ± 39.5)s, $P=0.001$ 。

2.3 2组插管一次成功率比较

声门显露Ⅰ、Ⅱ级患者中一次插管成功率,视频喉镜组分别为96.00%、93.33%,普通喉镜组为95.24%、85.29%,无统计学差异($P=1.000, P=0.426$),声门显露Ⅲ、Ⅳ级患者中一次插管成功率,视频喉镜组分别为90.48%、85.71%,普通喉镜组分别为55.56%、12.50%,有统计学差异($P=0.034, P=0.021$)。

3 讨论

气管插管中,目前最大的问题是发生率为1%~4%的困难气道,其与插管的并发症和病死率密切相关。传统喉镜观察视野小,尤其是肥胖、颈部粗短、下颌小、张口受限的患者成功率低,随着插管次数增多,患者缺氧损伤及并发症也增加。GlideScope 视频喉镜有独特的角度设计和可视系统的应用,可使视角向前转60度,无需口、咽、喉三轴一线,即可显露声门,其防雾系统使视野更清晰,能减少气管插管的损伤,提高气管插管的成功率。

一项院前气管插管急救的研究表明视频喉镜与普通喉镜插管成功率无明显差别^[4]。而 Kilicaslan^[5]利用视频喉镜可使普通喉镜下声门显露Ⅲ级以上42例中的41例成为有效显露,并且86%一次插管成功。日本一项 Mata 分析,搜集860例视频喉镜插管和860例普通喉镜插管比较,两者在插管时间上无差别,而在困难气道插管成功率上,视频喉镜优于普通喉镜^[6]。

本研究结果显示视频喉镜可使声门有效显露增加27.55%,能使声门显露提升1~2级,更有利于插管,与 Kilicaslan 等^[5]报道相同。声门显露Ⅰ级和Ⅱ级患者,2种喉镜插管所用时间相当,而声门显露Ⅲ级和Ⅳ级患者,视频喉镜大大地增加声门的视野范围,明显缩短插管时间。声门显露Ⅲ级者视频喉镜较普通喉镜插管时间减少22s,Ⅳ级减少2/3时间。在一次

插管成功率方面,声门显露Ⅰ级和Ⅱ级患者,2种喉镜插管成功率相当,声门显露Ⅲ级和Ⅳ级患者,VL组28例(用普通喉镜定级)中27例降至Ⅱ级(用视频喉镜定级)以下,24例一次插管成功,仅有1例属于声门显露Ⅲ级(用视频喉镜定级),视野受限3次插管才成功,所用时间为88s,另外2例初次插管不成功主要是患者意识存在,导管接触声门时,引起声门痉挛所致。OL组声门显露Ⅲ级和Ⅳ级患者分别有6例和5例2次插管不成功,改为视频喉镜1~3次尝试成功插管,最长1例反复5次插管共用了160s,包括中间2次暂时性使用球囊面罩通气。

总之,对困难气道来说,视频喉镜有其独到的优越性,视野清晰,声门暴露佳;临床上,单凭体征判断是否困难气道仍不准确,若在使用普通喉镜后再改用视频喉镜,会耽搁更多的时间,部分医院因经验问题插管时不敢使用镇静剂或肌松剂,困难气道发生率更高。所以,对所有气管插管的患者,应该作为首选,值得在急诊科作为一线抢救器具推广使用。

参考文献:

[1] 王虹虹, 曾红, 张林, 等. 可视喉镜在急诊紧急气管插管中的应用 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2012, 21(8): 883-886.

[2] 吉晓丽, 孙灿林, 李小静, 等. GlideScope 视频喉镜与 Macintosh 直接喉镜用于急诊气管插管效果的比较 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2012, 32(2): 254-255.

[3] 赵志丹. 探讨 GlideScope 视频喉镜在临床麻醉中行气管插管的可行性 [J]. *首都医科大学学报*, 2011, 32(2): 287-289.

[4] Burnett A M, Frascione R J, Wewerka S S, et al. Comparison of success rates between two video laryngoscope systems used in a prehospital clinical trial [J]. *Prehosp Emerg Care*, 2014, 18(2): 231-238.

[5] Kilicaslan A, Topal A, Tavlan A, et al. Effectiveness of the C-MAC video laryngoscope in the management of unexpected failed intubations [J]. *Braz J Anesthesiol*, 2014, 64(1): 62-65.

[6] Hirabayashi Y, Hoshijima H, Kuratani N. Efficacy of Glidescope video laryngoscope in difficult airways: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Masui*, 2013, 62(8): 996-1002.

(收稿:2014-04-27;修回:2014-06-02)

(编辑 张维)