ZASTUPLJENOST MIKROORGANIZAMA SUBGINGIVALNOG PLAKA KOD RAZLIČITIH STEPENA INFLAMACIJE I DESTRUKCIJE TKIVA PARODONCIJUMA

AUTORI

Staletović D., Šehalić M., Marjanović D.

Klinika za stomatologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Prištini, Kosovska Mitrovica

KORESPONDENT

DANIJELA STALETović

Medicinski fakultet, Univerzitet u Prištini, Kosovska Mitrovica, Srbija

✉ danielastaletovic@yahoo.com

SAŽETAK

Parodontopatija predstavlja inflamatornu reakciju na gram-negativne anaerobne bakterijske infektivne agense koja pogađa potporni aparat zuba, uključujući gingivu, parodontalni ligament, cement i alveolarnu kost. Cilj istraživanja bio je da se utvrdi kvantitativno-kvalitativni sastav mikroorganizama subgingivalnog plaka kod pacijenata obolelih od hronične i agresivne parodontopatije PCR metodom (eng. Polimerase Chain Reaction), a zatim proceni povezanost različitih stepena inflamacije i destrukcije tkiva parodontocijuma sa prisustvom i koncentracijom ovih mikroorganizama. Ispitivanjem je obuhvaćeno 70 pacijenata starosti od 16 do 65 godina. Utvrđivanje mikroorganizama u subgingivalnom plaku, određen je PCR metodom. U cilju postavljanja dijagnoze i određivanja stepena destrukcije parodontalnog tkiva, bili su korišćeni standardni epidemiološki kriterijumi: plak indeks (Silness-Löe), gingivalni indeks (Löe-Silness), SBI indeks (Mühlemann-Son) i PDDZ. Prisustvo parodontopatogena u subgingivalnom plaku pokazalo je statističku vezu sa kliničkim parametrima težine parodontopatije i inflamacije gingive. Nalaz *Porphyromonas gingivalis* i *Actinobacillus actinomycetemcomitans* je bio statistički značajno češći kod pacijenata sa srednje teškom i teškom formom parodontopatije u odnosu na prosečnu dubinu parodontalnih džepova. Detekcija P.g. i A.a. je bila statistički značajno češća kod osoba sa umerenom i intenzivnom inflamacijom gingive. Kvantitativno-kvalitativni sastav mikroorganizama subgingivalnog plaka ima direktan uticaj na inflamatorno-destruktivne procese u parodontalnim tkivima.

Ključne reči: parodontopatija, subgingivalni plak, PCR.

UVOD

Parodontopatija, oboljenje potpornog aparata zuba, jedno je od najraširenijih oboljenja današnjice koje zahvata čitavu ljudsku populaciju bez obzira na sistemski zdravstveni status pacijenata, rasu, socijalnu, geografsku, versku, polnu i svaku drugu pripadnost. Klinička prezentacija bolesti varira od perzistentnog gingivitisa do pojedinih formi destruktivnog parodontitisa. Patološke promene koje se odvijaju u toku parodontopatije su destruktivne prirode i vode ka postepenom ili progresivnom obolevanju parodontocijuma i njegovoj anatomske i funkcionalnoj dezintegraciji, što rezultira postepenim rasklacenjem, a kasnije i gubitkom jednog ili više zuba [1]. Epidemiološki podaci iz čitavog sveta ukazuju na izuzetnu rasprostranjenost gingivitisa i parodontopatije. Smatra se da su ovo, pored karijesa, najrasprostranjenija oboljenja ljudskog roda. Prema "Beogradskoj studiji", učestalost oboljenja parodontocijuma u domaćoj populaciji među osobama starijim od 18 godina je 84,6% i kreće se do 86,6% kod osoba starijih od 65 godina. Od ovog broja, blagi stepen destrukcije parodontocijuma ima 14,1% osoba, srednji 20,3%, dok su najteža oštećenja kod 10,4% ispitanika. Prema tome, ukupno 44,8% pregledanih osoba ima oštećenje dubljih tkiva parodontocijuma i formirane parodontalne džepove [2]. Parodontopatija je infektivno

oboljenje uzrokovano malom grupom uglavnom gram-negativnih bakterija. Ovo oboljenje dovodi do inflamatorne destrukcije svih tkiva parodontocijuma (gingive, periodontocijuma, alveolarne kosti i cementa korena zuba). Bakterije su esencijalne, ali ne i dovoljne da dovedu do razvoja bolesti. Prijemčivost domaćina je podjednako važna, pa će tako faktori domaćina determinisati tok i oblik bolesti. Različiti tipovi parodontopatija se međusobno razlikuju po etiologiji, toku, progresiji bolesti i odgovoru na terapiju, ali dele slične puteve tkivne destrukcije [3,4]. Osnovni patogenetski mehanizam koji je odgovoran za destrukciju vezivnog tkiva i kosti u svim formama parodontopatije je isti. Proinflamatorni citokini IL-1 α , TNF- α i TNF- γ indukuju i ubrzavaju sintezu prostaglandina E₂ (PGE₂) i matriks metaloproteinaze (MMP), molekula koji su medijatori destrukcije ekstracelularnog matriksa gingive i periodontalnog ligamenta i resorpcije alveolarne kosti [5]. Faktori rizika tzv. modifikatori bolesti, nasledni ili stečeni, odgovorni su za različite kliničke tokove i forme parodontopatije [6]. Imaju uticaj na trenutak početka bolesti, model tkivne i koštane destrukcije, odgovor na različite oblike terapije, težinu i učestalost recidiva. Neki od ovih faktora su prisutni celog života, kao što su nasledni faktori, dok neki, kao pušenje ili stres variraju tokom života [5].

Normalna flora usne duplje je izuzetno bogata. Nju čini oko 400 različitih vrsta, serotipova i ribotipova bakterija, a oko 10 do 20 je na različite načine dovedeno u vezu sa nastankom parodontopatije kod ljudi [7]. U sastav oralne flore ulazi oko 20% aerobnih mikroorganizama. Preostalu populaciju čine fakultativno anaerobni i striktno anaerobni mikroorganizmi, a mogu se naći i sojevi Mycoplazme, gljivice, protozoae i virusi. Ipak, zaključak je da četiri vrste, sve gram-negativne, anaerobne i fakultativno anaerobne, lokalizovane u subgingivalnim zonama, uzrokuju najveći broj parodontopatija. To su: Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia i Actinobacillus actinomycetemcomitans. Patološke promene koje se odvijaju u toku parodontopatije su destruktivne prirode i vode ka postepenom i progresivnom obolevanju parodontcijuma i njegovoj anatomskoj i funkcionalnoj dezintegraciji, što rezultira postepenim rasklacenjem, a kasnije gubitkom jednog ili više zuba. Zubni plak, a pre svega onaj subgingivalne lokalizacije, predstavlja glavni etiološki faktor nastanka oboljenja potpornog aparata zuba. Danas se pouzdano zna da su upravo mikroorganizmi subgingivalnog biofilma i njihovi metaboliti jedan od najvažnijih etioloških faktora parodontopatije. Istraživanja pokazuju da nijedan drugi agens, lokalne ili opšte prirode, ne može da izazove stvaranje parodontalnih džepova i promene karakteristične za parodontopatiju [8-10].

CILJ RADA

Cilj istraživanja bio je da se utvrdi kvantitativno-kvalitativni sastav mikroorganizama subgingivalnog plaka kod pacijenata obolelih od hronične i agresivne parodontopatije PCR metodom, a zatim proceni povezanost različitih stepena inflamacije i destrukcije tkiva parodontcijuma sa prisustvom i koncentracijom ovih mikroorganizama.

MATERIJAL I METODE

U istraživanje je uključeno ukupno 85 pacijenata sa parodontopatijom klinički dijagnostikovano na Klinici za parodontologiju i oralnu medicinu Medicinskog fakulteta - Odsek stomatologija u Prištini sa sedištem u Kosovskoj Mitrovici i Klinici za stomatologiju odeljenja za bolesti usta i zuba Vojno-medicinske akademije Beograd. Pacijenti su bili oba pola, starosti od 16 do 65 godina. Uzorci subgingivalnog plaka uzimani su sterilnom kiretom i papirnim apoenima (Perioparar, Pro Flpw, Amityville, NY, USA) iz 1 do 4 parodontalnih džepova. Pre uzimanja uzoraka, supragingivalni plak je bio uklonjen papirnom vaterolnom. Papirni apoen je bio postavljen u parodontalni džep i ostavljen da stoji 60 sekundi. Uzorci su zatim preneti u plastične epuvete (Eppendorf) i zamrznuti na -70°C do momenta analize. Utvrđivanje prisustva parodontogena u subgingivalnom plaku, određen je PCR metodom (engl. Polimeraze Chain Reaction-lančana reakcija polimeaze) radi amplifikacije bakterijske 16 s ribosomalne DNK. U paru oligonukleotidnih prajmera koji su korišćeni u PCR reakciji, prvi je univerzalni bakterijski prajmer, dok je drugi specifičan za dati bakterijski soj. Mesta vezivanja prajmera izabrana su iz regoina 16s rDNK koja su prisutna među eubakterijama, a nema ih u eukariotima, arheobakterijama i mitohondrijama. PCR metoda koja koristi ovakve prajmere je, stoga, specifična za

bakterijsku DNK i u prisustvu nukleinskih kiselina iz drugih izvora. U uzorcima subgingivalnog plaka PCR metodom je detektovano prisustvo 16 s rDNK anaerobne bakterije Porphyromonas gingivalis i kapnofilne bakterije Actinobacillus actinomycetemcomitans. Kao pozitivna kontrola PCR reakcije korišćeni su bakterijski sojevi Actinobacillus actinomycetemcomitans (ATCC 33384) i Porphyromonas gingivalis (ATCC 33277), a kao negativna kontrola služili su svi PCR reagensi i voda umesto bakterijske DNK. Pacijenti su prema vrednostima gingivalnog indeksa (Löe-Silness), dubini parodontalnog džepa i prema vrednostima Mühlemann-ovog indeksa podeljeni u tri grupe. Statističkom analizom bili su obuhvaćeni svi parametri uključeni u klinička, laboratorijska i molekularno-bioloska ispitivanja. Baza podataka bila je formirana u programu Microsoft Excel 2007, a analiza obavljena u programskom paketu S+. Prilikom obrade podataka korišćeni su sledeći parametri deskriptivne statistike: srednja vrednost ($\bar{x}$) i medijana, kao mere centralne tendencije, standardna devijacija (SD) i raspon uzoraka kao mere disperzije. Evaluacija unutargrupnih i međugrupnih razlika izračunata je Kruskal-Wallis χ^2 testom, Fisher testom, Pearson χ^2 testom i Mann-Whitney U testom. Statistička signifikantnost je prihvaćena ako je $p < 0,05$.

REZULTATI

Kod ukupno 85 pacijenata uključenih u studiju pregledano je 1425 zuba (prosečno 17 zuba po pacijentu) Prosečna vrednost sondiranja parodontalnog džepa bila je 4,81mm, sa rasponom od 2,40mm do 8,20mm (Tabela 1.).

Tabela 1. Prosečne vrednosti parodontalnih indeksa

	Mean	Med	SD	Min	Maks
PI	2.32	2.43	0.54	1.00	3.00
GI	2.04	2.00	0.63	0.50	3.00
SBI	2.85	3.00	1.10	0.30	4.90
DPDŽ	4.81	4.90	1.42	2.40	8.20

PI- parodontalni indeks; GI- gingivalni indeks; SBI- indeks krvarenja gingive; DPDŽ- dubina parodontalnog džepa

Prosečna vrednost gingivalnog indeksa (GI) iznosila je 2,04, sa rasponom od 0,50 do 3,00, i u odnosu na njega pacijenti su kategorizovani u tri grupe, pa je dobijeno da je 12 (14,12%) pacijenata imalo blagu inflamaciju, 36 (42,3%) srednju, a 37 (43,35%) tešku inflamaciju gingive (Tabela 2.).

Tabela 2. Kategorizacija pacijenata prema stepenu inflamacije gingive (GI)

Inflamacija	Broj	%
Blaga	12	14.12
Srednja	36	42.35
Teška	37	43.35

Prosečna vrednost Mühlemann-ovog indeksa krvarenja iz gingivalnog sulkusa bila je 2,85 i kretala se od 0,30 do 4,90, a kada su pacijenti podeljeni prema stepenu krvarenja, kod 29 (34,12%) bilo je prisutno intenzivno krvarenje, srednje kod 44 (51,76%), dok je samo 12 (14,12%) imalo blago krvarenje gingive. Kada su pacijenti podeljeni u tri grupe prema težini parodontopatije (prosečna dubina parodontalnih džepova do 3 mm uka-

zuje na blagu formu bolesti, dubina od 4 do 6 mm na srednju i više od 6 mm na težu formu), dobijeno je da 55 (64,70%) pacijenata ima parodontopatiju srednjeg intenziteta, 23 (27,05%) izraženu, a samo 7 (8,23%). Analiza prisustva *P. gingivalis* i *A. actinomycetemcomitans* u uzorcima plaka urađena je kod svih pacijenata, te je od 85 uzoraka pozitivan nalaz *P. gingivalis* bio kod 29 (34,11%) pacijenata. Pozitivan nalaz *A. actinomycetemcomitans* je bio kod 24 (28,24%) pacijenta, a prisustvo obe bakterije imalo je 17 (20%) pacijenata. Kod 15 (17,65%) pacijenata nalaz je bio negativan (Tabela 3).

Tabela 3. Distribucija mikroorganizama u ukupnom uzorku subgingivalnog plaka

Mo	P (n=85)	%
Nema	15	17.65%
Pg	29	34.11%
Aa	24	28.24%
Pg+Aa	17	20.00%

Prisustvo *P. gingivalis* i *A. actinomycetemcomitans* pokazalo je razliku u distribuciji kod pacijenata sa adultnom i kod pacijenata sa juvenilnom parodontopatijom. U našem uzorku pozitivan nalaz *P. g.* bio je kod 28 (52,83%) uzoraka samostalno i kod 15 (28,38%) udruženo sa *A.* a kod pacijenata sa adultnom parodontopatijom. Posle upoređivanja Fisher-ovim testom dobijena je statistički visoko značajna razlika ($p < 0,05$) prisustva *P. gingivalis* u subgingivalnom plaku u grupi pacijenata sa adultnom parodontopatijom. *A. a* je detektovan u visokom procentu kod pacijenata mlađeg životnog doba sa dijagnozom juvenilne parodontopatije. Kod 14 (41,18%) izolovan je samostalno, a kod 1 (2,94%) zajedno sa *P.g.* (Tabela 4). Fisher-ovim testom dobijena je izuzetno visoka statistička značajnost prisustva *A. actinomycetemcomitans* u subgingivalnom plaku pacijenata sa juvenilnom parodontopatijom.

Tabela 4. Prisustvo *P.g* i *A.a* u subgingivalnom plaku kod adultne i juvenilne parodontopatije

Tip	P (n=70)	MO		
		Pg	Aa	Pg+Aa
Adultna parodontopatija	53	28	10	15
	100.00%	52.83%	18.87%	28.30%
Juvenilna parodontopatija	17	2	14	1
	50.00%	5.88%	41.18%	2.94%

Grafikon 1. Prisustvo *P.g* i *A.a* u subgingivalnom plaku kod adultne i juvenilne parodontopatije

U grupi sa blagom inflamacijom gingive, u subgingivalnom plaku *P. gingivalis* je nađen kod 3,4% pacijenata. Pacijenti sa umerenom inflamacijom imali su *P. gingivalis* u plaku u 44,8% slučajeva, a u grupi sa teškom inflamacijom gingive *P. g* detektovan je kod 51,7% slučajeva (Grafikon 1.). Statistički visoko značajna razlika prisustva ovog mikroorganizma u subgingivalnom plaku posle testiranja Fisher-ovim testom bila je u grupi sa teškom, i značajna razlika ($p < 0,05$) u grupi sa umerenom inflamacijom gingive. *A. actinomycetemcomitans* je bio prisutan u uzorku subgingivalnog plaka kod 20,8% pacijenata sa blagom inflamacijom gingive. U grupi sa umerenom inflamacijom nalaz *A.a* je bio pozitivan kod 54,2% pacijenata, a u grupi sa teškom inflamacijom gingive detektovan je u 25% slučajeva. Fisher-ovim testom dobijena je statistička značajnost ($p < 0,05$) u grupi pacijenata sa izraženom, a naročito sa umerenom inflamacijom gingive. Zajedničko prisustvo *P.g* i *A.a* pronađeno je kod 17,6% pacijenata sa umerenom inflamacijom i kod 82,4% pacijenata sa teškom inflamacijom gingive. Posle upoređivanja Fisher-ovim testom dobijena je statistički visoko značajna razlika ($p < 0,05$) prisustva ovih mikroorganizama u subgingivalnom plaku u grupi pacijenata sa teškom inflamacijom gingive. U odnosu na stepen krvarenja gingive koji je izražen indeksom krvarenja iz gingivalnog sulkusa (SBI), pacijenti su podeljeni u tri grupe. U grupi sa blagim krvarenjem bilo je 12 (14,12%), sa umerenim 44 (51,76 %), a sa intenzivnim 29 (34,12 %) pacijenata.

P. gingivalis je u grupi sa blagim krvarenjem gingive u nalazu subgingivalnog plaka bio prisutan u 3,4% slučajeva. Pacijenti sa umerenim krvarenjem imali su pozitivan nalaz *P.g* u 58,6% slučajeva, a u grupi sa teškim krvarenjem gingive bio je prisutan u 37,9% slučajeva. Statistički značajna razlika ($p < 0,05$) bila je u grupi pacijenata sa umerenim i intenzivnim krvarenjem gingive. *A. actinomycetemcomitans* je u subgingivalnom plaku bio prisutan kod 20,8% pacijenata sa blagim krvarenjem gingive. Kod pacijenata sa umerenim krvarenjem pozitivan nalaz *A.a* je pronađen u 66,7% slučajeva, a u grupi sa intenzivnim krvarenjem gingive ovaj mikroorganizam detektovan je kod 12,5% pacijenata. Statistički značajna razlika bila je samo u grupi pacijenata sa umerenim krvarenjem, dok se u grupi sa intenzivnim krvarenjem približila statističkoj značajnosti. Zajedničko prisustvo *P.g* i *A.a* pronađeno je kod 17,6% pacijenata sa umerenom, i kod 82,4% pacijenata sa intenzivnim krvarenjem gingive. Fisher-ov test je pokazao statistički visoko značajnu razliku ($p < 0,05$) prisustva ovih mikroorganizama u subgingivalnom plaku kod pacijenata sa intenzivnim krvarenjem gingive. Pacijenti kod kojih je rađena detekcija mikroorganizama *P. gingivalis* i *A. actinomycetemcomitans* podeljeni su u tri grupe na osnovu težine parodontopatije. Rukovodeći se srednjom vrednošću dubine parodontalnih džepova, 7 (8,23 %) pacijenata je bilo u grupi sa blagom formom bolesti, 55 (64,70%) sa srednjom i 23 (27,05%) sa teškom formom parodontopatije. *P. gingivalis* je bio prisutan kod 69% pacijenata sa srednje teškom parodontopatijom i kod 31% pacijenata sa teškom formom parodontopatije.

Poređenje Fisher-ovim testom pokazalo je statistički značajnu razliku između prisustva mikroorganizama u subgingivalnom plaku i težine parodontopatije kod pacijenata sa srednje teškom i teškom formom bolesti, dok kod onih sa blagom formom nije bilo razlike. *A. actinomycetemcomitans* je bio prisutan kod 4,2% pacijenata sa blagom formom parodontopatije, kod 8,3%

pacijenata sa teškom formom i kod 87,5% pacijenata sa srednje teškom formom parodontopatije.

Poređenje Fisher-ovim testom dalo je statistički visoku značajnost u grupi pacijenata sa srednje teškom formom ($p < 0,05$) i značajnost u grupi sa teškom formom, dok je u grupi sa blagom formom parodontopatije i statistička značajnost bila najslabije izražena. Istovremena prisutnost P.g i A.a detektovana je kod 23,5% pacijenata sa srednje teškom i kod 70,6% pacijenata sa teškom formom parodontopatije.

DISKUSIJA

Parodontopatija predstavlja inflamatornu reakciju na gram negativne, anaerobne bakterijske infektivne agense koja pogađa potporni aparat zuba, uključujući gingivu, periodontalni ligament, cement i alveolarnu kost. Oboljenje je hroničnog toka, sporo napreduje i obično ne daje simptome [12]. Pored dejstva mikroorganizama, potrebna je i predispozicija domaćina, a faktori domaćina značajno utiču na samu bolest. Zbog toga se smatra da je parodontopatija zajednički naziv za familiju sličnih oboljenja koja se međusobno razlikuju po etiologiji, toku i odgovoru na terapiju, ali dele iste puteve tkivne destrukcije [13]. Klinička slika je rezultat kompleksnih reakcija između dejstva mikroorganizama, zajedničkih događaja („shared events”) i modifikatora bolesti [14].

Patogeni mikroorganizmi koji imaju najveći parodontogeni potencijal su *P. gingivalis* i *A. actinomycetemcomitans* [15]. Ove bakterije bile su predmet našeg istraživanja što je u skladu sa najnovijim istraživanjima u svetu [16-18]. U našem uzorku najučestaliji je *P. gingivalis*. Od 85 pacijenata sa dijagnozom parodontopatije, kod njih 46 (54,12%) u uzorku subgingivalnog plaka detektovan je *Porphyromonas gingivalis*. Kod 29 (41,43%) pacijenata pronađen je samo P.g, a kod 17 (24,29%) detektovan je zajedno sa *A. actinomycetemcomitans*. Ovi rezultati poklapaju se sa rezultatima Takeuchi Y. i sar., u kojima je pronađen P.g. u vrlo visokom procentu 84,2% kod klinički dijagnostikovane parodontopatije, dok je u zdravoj populaciji pronađen u svega 10% uzoraka [19]. Naši rezultati poklapaju se i sa istraživanjem koje su sprovedli R. Miličević sar. 2007. godine u našoj populaciji. U 28,5 % uzoraka zubnog plaka dokazan je genom *P. gingivalis*. *A. actinomycetemcomitans* je takođe važan parodontopatogen u etiologiji parodontalnih bolesti kao i u različitim ekstraoralnim infekcijama (endokarditis, perikarditis, pneumonija, septična stanja i apscesi) [20]. U našem uzorku u subgingivalnom plaku utvrđeno je njegovo prisustvo kod 41 pacijenta (48,24%). Kod 24 (34,29%) bio je prisutan samostalno, a kod 17 (24,29 %) udružen sa *P. gingivalis*. Ovi rezultati su takođe u saglasnosti sa rezultatima različitih studija Mullally-i sar. i Taylor-Rolinson i sar. [21,22]. U svojoj studiji Veruska de J.M i sar. nalaze da je *Actinobacillus actinomycetemcomitans* prisutan u 18% pacijenata sa dijagnozom parodontopatije, dok u zdravoj populaciji nalaze svega 2% pozitivnih [23].

Analiza učestalosti detekcije organizama oralne mikroflore u subgingivalnom dentalnom plaku pokazala je statističku vezu sa različitim parametrima težine parodontopatije i inflamacije gingive. U odnosu na parodontalne parametre GI, SBI i DPDž, pacijente iz našeg uzorka smo podelili u tri grupe. U prvoj grupi bili su pacijenti sa

blagom formom parodontopatije, njih 7 (8,23 %), u drugoj pacijenti sa srednje teškom formom ove bolesti 55 (64,70 %), treću su činili pacijenti sa teškom formom parodontopatije, njih 23 (27,05 %).

Prisustvo P.g. je bilo statistički značajno češće kod pacijenata sa srednje teškom i teškom formom parodontopatije u odnosu na prosečnu dubinu parodontalnih džepova koja je iznosila 4,81 mm. Kod srednje teške parodontopatije nalaz P.g. bio je pozitivan u 69% uzoraka, a kod teške forme u 31 % uzoraka. Udruženo sa A.a. bio je prisutan u 23,5% pacijenata sa srednje teškom i u 70,6 % pacijenata sa teškom formom parodontopatije. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* je statistički značajno češći u grupi pacijenata sa srednjom i teškom formom parodontopatije, ali je i u grupi sa blagom formom postojala slaba statistička značajnost. Tako je A.a. pronađen kod 87,5% pacijenata sa srednje teškom formom parodontopatije i kod 8,3% pacijenata sa teškom formom ove bolesti. Kod pacijenata sa blagom formom pronađen je u 4,2% uzoraka. Zajedničko prisustvo P.g. i A.a. detektovano je kod 23,5% pacijenata sa srednje teškom i kod 70,6% pacijenata sa teškom formom parodontopatije.

Takođe, detekcija *Porphyromonas gingivalis* i *Actinobacillus actinomycetemcomitans* je bila statistički češća kod osoba sa umerenom i intenzivnom inflamacijom gingive. *Porphyromonas gingivalis* je detektovan kod 13 (44,8 %) pacijenata sa umerenom, i kod 15 (51,7%) pacijenata sa intenzivnom inflamacijom gingive. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* je detektovan kod 13 (54,2 %) pacijenata sa umerenom i 6 (25 %) pacijenata sa intenzivnom inflamacijom gingive. Njihovo zajedničko prisustvo pronađeno je kod 17,6% uzoraka pacijenata sa umerenom inflamacijom i kod 82,4% pacijenata sa intenzivnom inflamacijom gingive. Prisustvo P.g bilo je u statističkoj zavisnosti sa umerenim i intenzivnim stepenom krvarenja gingive (SBI). U našem uzorku detektovan je kod 58,6% pacijenata sa umerenim stepenom krvarenja gingive, 3,4% kod blagog, a 37,9% kod intenzivnog krvarenja gingive. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* je statistički bio češći u grupi sa umerenim krvarenjem gingive. Tako je A.a. izolovan kod 12,5% sa intenzivnim krvarenjem i kod 66,7% sa umerenim krvarenjem gingive. Zajedničko prisustvo P.g. i A.a. detektovano je kod 17,6 % sa umerenim, i kod 82,4% sa intenzivnim krvarenjem gingive.

Svi naši rezultati upućuju na to da kvantitativno-kvalitativni sastav mikroorganizama subgingivalnog plaka ima direktan uticaj na inflamatorno-destruktivne procese u parodontalnim tkivima te upućuju na značajnost njihovog ranog detektovanja, u smislu prevencije nastajanja parodontopatija kao jedne od najčešćih bolesti usne duplje.

ZAKLJUČAK

Prisustvo organizama oralne mikroflore u subgingivalnom plaku pokazalo je statističku vezu sa kliničkim parametrima težine parodontopatije i inflamacije gingive. Nalaz *Porphyromonas gingivalis* i *Actinobacillus actinomycetemcomitans* je bio statistički značajno češći kod pacijenata sa srednjom i teškom formom parodontopatije u odnosu na prosečnu dubinu parodontalnih džepova. Detekcija *P. gingivalis* i *A. actinomycetemcomitans* je bila statistički značajno češća kod osoba sa

umerenom i intenzivnom inflamacijom gingive. Prisustvo *P. gingivalis* bilo je u statističkoj zavisnosti sa umerenim i intenzivnim stepenom krvarenja gingive, dok je *A. actinomycetemcomitans* bio statistički povezan sa umerenim krvarenjem gingive.

LITERATURA

1. Đajić D, Đukanović D, Kojović D. Oralna medicina i parodontologija. Elit medica, 2001, Beograd, 180-182, 214-220, 227-233.
2. Popović V., Lukić V., Perović J., Đukanović D., Gvozdenović-Simović V., Beloica D., Vulović M., Dovijanić P., Leković V., Lekić P., Dimitrijević D. : Bolesti usta i zuba u stanovništva Beograda. Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet, 1987, Beograd.
3. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Korman KS: Advances in the pathogenesis of periodontitis. Summary of developments, clinical implications and future directions, *Periodontology* 2000; 14:216-246.
4. Toyofoku T, Inoue Y, Kurihara N, Jubici M, Sugano N, Umeda M, Izumi Y. Differential detection rate of periodontopathic bacteria in atherosclerosis. *Surg.Today*, 2011; 41(10): 1395-400.
5. Janaina SG, Tareira A, Garlet GP, Ghizoni MF. Increased levels of *Porphyromonas gingivalis* are associated with ischemic and hemorrhagic cerebrovascular disease in humans: in vivo study. *J Appl Oral Sci* 2012; 20(1): 104-112.
6. Field CA, Gidley MD, Preshaw PM, Jakubovics N. Investigation and quantification of key periodontal pathogens in patients with type 2 diabetes. *J. Periodontal Res.* 2012; 47(4):470-8.
7. Pejčić A, Kesić LJ, Milašin J. C- reactive protein as a systemic marker of inflammation in periodontitis. *Eur J Clin. Microbiol. Infect* 2011; 30(3): 407-14.
8. Sharma A, Novak EK, Sojar HT, Swank RT, Kuramitsu HK, Genco RJ. *Porphyromonas gingivalis* platelet aggregation activity: outer membrane vesicles are potent activators of murine platelets. *Oral Microbial Immunol* 2000; 15:393-396.
9. Sessa R, Pietro S, Turriziani O. Infections burden and atherosclerosis: A clinical issue. *World J Clin Cases* 2014; 2 (7): 240-9.
10. Romano F, Barbui A, Aimetti M. Periodontal pathogens in periodontal pockets and in carotid atheromatous plaques. *Minerva Stomatol* 2007; 56(4): 169-79.
11. Cvetković A, Mitić A, Mitić T, Stošović-Kalezić I, Stevanović M. Procena povezanosti nivoa ukupnih proteina pljuvačke, IGA pljuvačke i karijes iskustva u dece. *Praxis Med.* 2013; 13-18; 42(2).
12. Armingohal Z, Jorgensen JJ, Kristoffersen AK, Abesha-Belay E, Olsen J. Bacteria and bacterial DNA in atherosclerotic plaque and aneurysmal wall biopsies from patients with and without periodontitis. *J Oral Microbiol.* 2014.
13. Kebschull M, Demmer RT, Papapanon PN. Gum bug, leave my heart alone!- epidemiologic and mechanistic evidence linking periodontal infections and atherosclerosis. *J Dent. Res.* 2014; 89(9); 879-902.
14. Rodrigues PH, Reyes L, Chadda AS, Belaiger M, Wallet SM, Akin D. *Porphyromonas gingivalis* strain specific interactions with human coronary artery endothelial cells: a comparative study. *Plo S One* 2012; 7(12).
15. Rudney JD, Chen R, Pan Y. Endpoint quantitative PCR assays for *Bacteroides Forssythus*, *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontal Res.* 2003; 38,465-470.
16. Beikler T, Schnitzer S, Abdeen G, Ehmke B, Eisenacher M, Flemmig TF. Sampling strategy for intraoral detection of periodontal pathogens before and following periodontal therapy. *J periodontology.* 2006 aug.; 77 (8), 1323-1332.
17. Feng XH, Zhang L, Meng HX, Xu L, Chen ZB, Shi D. Prevalence of putative periodontal microorganisms in Chinese patients with aggressive periodontitis. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* Jun 2006; 41 (6), 344-7.
18. Straka M, Kazar J, Pijak MR, Gasparovic J, Wsolova L, Mongiellova V. The importance of the presence of aggregatibacter *actinomycetemcomitans* in sulcus *gingivalis* of patients with cardiovascular diseases. *Med Sci Monit.* 2011; 17(11): 646-649.
19. Takeuchi Y, Umeda M, Sakamoto M, Benno Y, Huang Y, Ishikawa I. *Treponema socranskii*, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* are associated with severity of periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2001; 72 (10): 1354-1363.
20. Ohnishi M. Quantitative analysis of periodontal pathogens in aggressive periodontitis patients in Japanese population. *Kokubyo Gakkai Zasshi.* 2006; 73 (1) 70-78.
21. Ohki T, Itabashi Y, Kohno T, Yoshizawa A, Nishikubo S. Detection of periodontal bacteria in thrombi of patients with acute myocardial infarction by polymerase chain reaction. *Am Heart J.* 2012; 163(2): 164-7.
22. Taylor-Robinson D, Aduse-Opoku J, Sayed P, Slaney J.M., Thomas B.J, Curtis M.A. Oro-Dental Bacteria in Various Atherosclerotic Arteries. *Eur.J.Clin Microbial Infect. Dis.* 2002; 21:755-757.
23. Veruska JM, Mario Julio AC. Detection of pathogens from periodontal lesions. *Rev.Saude Publica.* 2004; 38 (5) 723-728.

REPRESENTATION OF MICROORGANISMS OF SUBGINGIVAL PLAQUE AT DIFFERENT DEGREES OF PERIODONTIUM TISSUE INFLAMMATION AND DESTRUCTION

Staletović D., Šehalić M., Marjanović D.

¹ Dental clinic, Faculty of Medical Sciences, University of Priština, Kosovska Mitrovica

SUMMARY

Parodontopathy is an inflammatory reaction to gram negative anaerobic bacterial infectious agents that attacks the supporting dental apparatus including gingiva, periodontal ligament, cement and alveolar bone. The aim of the survey was to identify quantitative qualitative structure of microorganisms of subgingival plaque in patients suffering from chronic and aggressive parodontopathy using the PCR method, and then evaluate the correlation of different degrees of inflammation and destruction of periodontium tissue with the presence and concentration of these microorganisms. The survey involved 70 patients, 16 to 65 years old. The identification of microorganisms in subgingival plaque was set by the PCR method (Polymerase Chain Reaction). Towards diagnosing and defining the destruction degree of periodontal tissue, standard epidemiological criteria were used: plaque index (Silness-Löe), gingival index (Löe-Silness), SBI index (Mühlemann-Son) and PDDZ. The presence of periodontal pathogens in subgingival plaque showed the statistical link with clinical parameters of the severeness of parodontopathy and gingival inflammation. The test result of *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* statistically was significantly more frequent in patients with medium and severe type of parodontopathy compared to the average depth of periodontal pockets. The detection of P.g. and A.a. statistically was significantly more frequent in persons with mild and intensive gingival inflammation.

Keywords: parodontopathy, subgingival plaque, PCR.