

ARTICOL DE CERCETARE

Distribuția microbiotei parodontopatogene la pacienții cu pierdere minimă de țesut parodontal: studiu transversal

Tatiana Porosencova^{1*}

¹Catedra de propedeutică stomatologică „Pavel Godoroja”, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

Autor corespondent:

Tatiana Porosencova, asis. univ., doctorand
Catedra de propedeutică stomatologică „Pavel Godoroja”
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”
bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004
e-mail: lazutania@gmail.com

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Există o corelație strânsă între compoziția microbiană orală și starea de sănătate sau patologie. Totuși, studiile suplimentare sunt necesare pentru a elucida mecanismele acestei relații între gazdă și microorganisme.

Ipoteza de cercetare

Studiu transversal al concentrației microbiene la pacienții cu forma incipientă de parodontită marginală cronică.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Diagnosticul timpuriu al parodontitei marginale cronice permite conservarea țesuturilor parodontale și asigurarea unui nivel optim al sănătății orale. Deopotrivă, prezintă un instrument favorabil, preventiv, pentru managementul inițierii și progresării afecțiunii parodontale.

Rezumat

Introducere. Se descrie distribuția naturală a microorganismelor parodontopatogene: *Porphyromonas gingivalis*, *Tanarella forsythia*, *Treponema denticola* și *Actinobacillus actinomycetemcomitans* la un grup de pacienți cu leziuni parodontale minime.

Material și metode. Evaluarea microbiologică a probelor subgingivale a fost efectuată prin utilizarea metodei de polimerizare în lanț (PCR), utilizând setul *PeriodontScreen Real-TM* pentru speciile *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* și *A. actinomycetemcomitans*.

Rezultate. Variabile, precum nivelul de atașament clinic ($1,74 \pm 0,23$) în lotul de studiu, a prezentat o puternică asociere statistic semnificativă asupra concentrației de microorga-

RESEARCH ARTICLE

Distribution of periodontal pathogen microbiota in patients with minimal loss of periodontal tissue: a cross-sectional study

Tatiana Porosencova^{1*}

¹Chair of dental propedeutics “Pavel Godoroja”, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

Corresponding author:

Tatiana Porosencova, PhD fellow
¹Chair of dental propedeutics “Pavel Godoroja”
Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy
165, Stefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004
e-mail: lazutania@gmail.com

What is not known yet about the topic

There is a close correlation between the microbial composition and oral health or pathology. However, additional studies are needed to elucidate the mechanisms of this relationship between the host and the microorganisms.

Research hypothesis

A cross-sectional study of microbial concentration in patients with incipient form of chronic periodontitis.

Article's added novelty on this scientific topic

Early diagnosis of chronic periodontitis ensures the preservation of periodontal tissues and provides an optimal state of oral health. Alike it presents a positive, preventive tool in the management of initiation and progression of periodontal disease.

Abstract

Introduction. Is described the natural distribution of periodontal pathogen microorganisms: *Porphyromonas gingivalis*, *Tanarella forsythia*, and *Treponema denticola* *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in a group of patients with minimal periodontal lesions.

Material and methods. Microbiological assessment of the samples was done by the use of the polymerase chain reaction method (PCR), using *Real-TM PeriodontScreen* kit for the species *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, and *A. actinomycetemcomitans*.

Results. Variables such as clinical attachment level (1.74 ± 0.23) in the study group, presented a strong association statistically significant on the concentration of pathogen

nisme patogene *P. gingivalis* ($r_{xy}=0,84$), *T. denticola* ($r_{xy}=0,60$), *T. forsythia* ($r_{xy}=0,86$), *A. actinomycetemcomitans* ($r_{xy}=0,85$), pentru toate – $p<0,001$.

Concluzii. Utilizarea testelor microbiologice în diagnosticarea afecțiunii parodontale asigură posibilitatea depistării maladiei la etapa incipientă. Este un instrument favorabil preventiv pentru managementul inițierii și progresării afecțiunii parodontale.

Cuvinte cheie: parodontita marginală cronică incipientă, microflora parodontopatoagenă.

Introducere

Parodontita marginală prezintă o afecțiune cronică de tip inflamator-distructiv de origine infecțioasă ce duce spre distrucția țesuturilor de suport a sistemului dentar [1]. Este o maladie lent progresivă și poate fi clinic nesemnificativ evidentă până la vârsta de 35 de ani [2]. În anul 2012, datele obținute asupra populației adulte din SUA, au arătat că peste 47% din adulți au prezentat cel puțin una din formele parodontitei marginale [3].

Pierderea de atașament clinic, în asociere cu formarea pungii parodontale și pierderea de os alveolar, necesită de a fi diferențiată de recesia gingivală, unde migrarea apicală a marginii gingivale nu este asociată cu formarea pungii parodontale. De obicei, apare pe suprafața bucală decât interproximal [2, 4]. Faza inițială a parodontitei marginale cronice a adultului reprezintă prezența pierderii de atașament clinic ≥ 2 mm, nefiind raportată la recesia gingivală [2].

Parodontita marginală a fost sistematizată conform clasificării abordate în cadrul Atelierului Internațional de Lucru din 1999 în: localizată sau generalizată, în funcție de gradul de răspândire $<30\%$ sau $>30\%$ din situsurile implicate. Severitatea maladiei este bazată pe gradul de pierdere al atașamentului clinic, fiind delimitată în forma ușoară (1-2 mm), medie (3-4 mm), severă (>5 mm) [5, 6]. Participanții Atelierului au concluzionat că parodontita marginală cronică se referă la progresarea afecțiunii în timp, fără tratament și nu sugerează că maladia ar fi „netratabilă” [5].

Parodontita marginală cronică este caracterizată prin afectarea populației adulte, însă, în ultima perioadă, se atestă o răspândire și în grupul persoanelor tinere [5, 7]. Distrucția este consistentă în raport cu cantitatea depunerilor de placă bacteriană precum și influența altor factori de risc (factorii anatomici care favorizează retenția plăcii dentare, marginile debordante ale reconstrucțiilor dentare, contactele interdente deschise); tartrul subgingival, la fel, este depistat. În termeni generali, afecțiunea progresează lent, dar se pot înregistra acutizări distructive. În plus, rata progresării afecțiunii poate fi modificată prin influența factorilor locali, maladii generale și factori extrinseci, precum fumatul [5].

Este pe larg acceptată teoria de inițiere și progresare a infecției parodontale față de prezența microfloriei capabile să provoace maladia [1]. Mai bine de 300 de specii de microorganisme au fost izolate din pungile parodontale, dar numai un procent mic constituie agenți etiologici [1]. Cel puțin, 3 caracteristici cu rol patogen ale microorganismelor parodontale

P. gingivalis ($r_{xy}=0.84$), *T. denticola* ($r_{xy}=0.60$), ($r_{xy}=0.86$), *A. actinomycetemcomitans* ($r_{xy}=0.85$) for all – $p<0.001$.

Conclusions. Using microbiological tests in diagnosing periodontal disease provides the possibility of detecting the disease at the initial stage. It is a favourable preventive tool for the management of initiation and progression of periodontal disease.

Key words: initial chronic periodontitis, periodontal pathogen microflora.

Introduction

Marginal periodontitis represents a chronic inflammatory-destructive type disease of infectious origin that leads to destruction of dental system supportive tissues [1]. It is a slowly progressive disease and may be clinically insignificant evident until the age of 35 years [2]. In 2012, data from the US adult population, have shown that over 47% of adults have experienced at least one form of periodontitis [3].

Clinical attachment loss, periodontal pocket formation in association with alveolar bone loss, requires to be distinguished from gingival recession, whereas apical migration is not always associated with periodontal pocket formation. Usually, it appears on the buccal site than on interproximal surface [2, 4]. The initial phase of chronic adult periodontitis is the presence of marginal clinical attachment loss ≥ 2 mm, not reported to gingival recession [2].

At the International Workshop in 1999, marginal periodontitis was systematized in accordance to classification in: localized or generalized, depending on the extent $<30\%$ or $>30\%$ of involved sites. The severity of disease is based on the degree of clinical attachment loss, as defined in the mild form (1-2 mm), medium (3-4 mm), severe (>5 mm) [5, 6]. Workshop participants concluded that chronic marginal periodontitis refers to progression of the disease over time without treatment and does not suggest that the disease would be “untreatable” [5].

Chronic periodontitis is characterized by affecting adult population, but lately, there is also a prevalence among young subjects [5, 7]. Destruction is consistent in relation to the amount of plaque deposits and the influence of other risk factors (anatomical factors favouring retention of dental plaque, overflowing fillings, open interproximal contacts); subgingival calculus, as is detected. In general terms, the disease progresses slowly, but can register destructive exacerbation. In addition, the rate of disease progression can be altered by the influence of local factors, general diseases and extrinsic factors, such as smoking [5].

It is widely accepted the theory of initiation and progression of periodontal infection by the presence of microflora capable of causing the disease [1]. More than 300 species of microorganisms were isolated from periodontal pockets, but only a small percentage are etiologic agents [1]. At least three characteristics of periodontal pathogenic role of microorganisms have been identified: the ability to colonize, the ability to avoid the host mechanism defenses and the competence to produce substances able to initiate tissue damage [1].

au fost identificate: capacitatea de a coloniza, abilitatea de a evita mecanismele de apărare ale macroorganismului și competența de a produce substanțe care pot direct iniția distrucția tisulară [1].

În lucrarea lui Loe (1965), a fost stipulată teoria de inițiere a inflamației gingivale de către microorganismele din placa bacteriană [7]. Experții confirmă că parodontita marginală este inițiată și dezvoltată de un grup de bacterii predominant gram-negative, anaerobe sau microaerofile, ce colonizează zona subgingivală [8]. Rolul speciilor microbiene subgingivale în etiologia afecțiunilor parodontale a fost pe larg documentată [9]. În cadrul grupului relevant de lucru al Atelierul Mondial în Parodontologia Clinică (1996), s-a stabilit că parodontita marginală umană este cauzată de *P. gingivalis*, *B. forsythius*, *T. denticola*, *P. intermedia* și *A. actinomycetemcomitans* [1, 8, 10-12]. Speciile numite apar mai frecvent în concentrații crescute în situsurile cu parodontită marginală, pe când alte specii bacteriene, precum cele din genul *Streptococcus* și *Actinomyces*, au fost asociate la sănătatea parodontală [11]. Totuși, nu toți pacienții sunt în egală măsură susceptibili la parodontita marginală. În plus, pe lângă cauza de origine microbială, factorii de mediu, genetici, reacția imună a macroorganismului, joacă un rol important în patogenizarea acestei maladii [1].

Efectele directe patologice ale bacteriilor asupra parodontiului marginal sunt semnificative în perioada semnelor incipiente ale afecțiunii [1]. Analiza probelor microbiologice ale plăcii dentare de la pacienții cu nivele severe de inflamație gingivală, au demonstrat o succesiune a speciilor bacteriene cu o capacitate înaltă de a induce direct un răspuns inflamator [5]. *P. gingivalis* este cunoscută că produce enzime (proteaze, colagenaze) care pot degrada direct țesuturile înconjurătoare în straturile superficiale ale parodontiului [5]. Bacterii, precum *A. actinomycetemcomitans*, produc factori ce duc la suprimarea răspunsului imun din partea organismului, diminuând, astfel, producerea de anticorpi [5].

O varietate de teste adiționale de laborator au fost antrenate în depistarea acestor tipuri de microorganisme. În timp ce complexul roșu este frecvent depistat în concentrații înalte la nivelul leziunilor parodontale, nivele joase ale fiecărei specii au fost depistate în situsuri sănătoase. Din aceste motive, metodele de depistare ale acestor microorganisme furnizează date cantitative despre bacteriile prezente și facilitează interpretarea rezultatelor testului [10]. Cu o tehnică performantă de identificare și abilitatea de a examina mai multe probe/mostre de placă dentară a unui număr cât mai larg de persoane, posibilitatea este mai mare de a examina extensiv speciile patogene suspectate în inițierea și dezvoltarea afecțiunilor parodontale [12].

Material și metode

Caracterizare generală a studiului

Studiu transversal, pe un lot de 84 de pacienți. Participanții au fost selectați conform următoarelor criterii de excludere: (1) comorbidități sistemice; (2) sarcina și alăptarea; (3) tratament antimicrobian sistemic în decursul ultimelor 6 luni; (4) administrarea remediilor anti-inflamatoare în decursul ultimelor 6 luni; (5) utilizarea habituală a antisepticelor orale; (6) prezența implantelor dentare sau al aparatelor ortodontice;

In his work Loe (1965), has stipulated the theory of initiation of the gingival inflammation by the microorganisms from the dental plaque [7]. Experts confirm that marginal periodontitis is initiated and developed by a group of predominantly gram-negative bacteria, anaerobic or microaerophilic, which colonize the subgingival area [8]. The role of subgingival microbial species in the etiology of periodontal diseases has been widely documented [9]. In the relevant working group World Workshop in Clinical Periodontology (1996) was established that marginal periodontitis is caused by *P. gingivalis*, *B. forsythius*, *T. denticola*, *P. intermedia* and *A. actinomycetemcomitans* [1, 8, 10-12]. The named species occur more frequently in high concentrations in sites with periodontitis, while other bacterial species such as the genus *Streptococcus* and *Actinomyces* were associated with periodontal health [11]. However, not all patients are equally susceptible to periodontitis. In addition to the cause of microbial origin, environmental factors, genetics, immune response of the host play an important role in the pathogenesis of this disease [1].

Direct pathological effects of periodontal bacteria on marginal periodontium are significant during early signs of the disease [1]. Microbiological analysis of dental plaque samples from patients with severe levels of gingival inflammation, have shown a succession of bacterial species with a high capacity to directly induce an inflammatory response [5]. *P. gingivalis* is known to produce enzymes (proteases, collagenase) that may degrade directly the surrounding superficial periodontal tissue [5]. Bacteria, such as *A. actinomycetemcomitans* produces factors that lead to the suppression of the host immune response, reducing thereby the production of antibodies [5].

A variety of additional laboratory tests were trained in detecting these types of microorganisms. While red complex is commonly found in high concentrations in periodontal lesions, low levels of each species were detected in healthy sites. For these reasons, detection methods of these organisms provide quantitative data about present bacteria and facilitate the interpretation of the test results [10]. With advanced equipment identification and the ability to examine multiple samples of dental plaque of a wide number of subjects, the opportunity is higher to extensively examine the suspected pathogenic species in the initiation and development of periodontal disease [12].

Material and methods

General characterization of the study

A cross-sectional study on a group of 84 patients. Participants were selected according to the following exclusion criteria: (1) systemic comorbidities; (2) pregnancy and lactation; (3) systemic antimicrobial therapy within the previous 6 months; (4) administering anti-inflammatory remedies within the last 6 months; (5) the use of habitual oral antiseptics; (6) the presence of dental implants or orthodontic appliances; (7) previously periodontal treatment; (8) the presence of less than 18 natural teeth.

Periodontal measurements were performed by a single examiner. Registration of periodontal pocket depth and clinical attachment level appreciation were recorded at all teeth of



Fig. 1 Sondarea parodontală cu înregistrarea CAL și GI.
Fig. 1 Clinical attachment level and gingival index probing.

(7) tratament parodontal anterior; (8) prezența a mai puțin de 18 dinți naturali.

Măsurările parodontale au fost efectuate de un singur examinator. Înregistrarea adâncimii pungii parodontale și aprecierea nivelului de atașament clinic au fost înregistrate la nivelul tuturor dinților arcadei dentare, 6 situsuri per dinte, cu excepția molarilor III, cu ajutorul sondei parodontale automatizate *Florida Probe*. Sângerarea la sondare a fost înregistrată în cadrul aprecierii indicelui gingival (GI) în 6 situsuri per dinte (Figura 1). Prezența plăcii bacteriene a fost apreciată prin intermediul indicelui Quigley & Hein.

Pacienții au fost divizați în două grupuri: lotul control – parodontal sănătos (PS) și lotul de studiu – pacienți cu parodontită marginală cronică forma incipientă (PMCI). Reprezentanții celui de-al doilea grup au inclus pacienți cu, cel puțin, un situs pozitiv de 1-2 mm pierdere de atașament clinic în zona proximală.

Protocolul de studiu a fost aprobat de către Comitetul de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (aviz nr. 16, ședința din 25.01.2013, președinte CEC – Gavriluc Mihail, dr. hab. șt. med., prof. univ.). Pacienții, înrolați în studiu, au semnat acordul informat.

Colectarea probelor subgingivale

Placa bacteriană supragingivală a fost înlăturată prin intermediul unei chiurete parodontale sterile. Placa subgingivală a fost colectată prin intermediul conurilor endodontice sterile (diametrul 25), fiind introduse în șanțul gingival/punga parodontală, în situsurile proximale pentru 10 secunde (Figura 2). La pacienții cu PMCI, probele microbiologice au fost prelevate din situsurile ce prezentau valori ale nivelului de atașament clinic de 1-2 mm. Conurile de hârtie au fost plasate apoi în mediu de transport (Figura 3). Examinările microbiologice au fost efectuate prin utilizarea metodei cantitative de polimerizare în lanț (PCR), setul *Periodont Screen Real-TM* pentru speciile *P. Gingivalis*, *B. Forsythus*, *T. Denticola*, și *A. Actinomyetemcomitans*, în cadrul laboratorului *Invitro Diagnostic*.

Analiza statistică

Datele clinice și microbiologice au fost analizate în programul SPSS V22.0 IBM. Au fost calculate media, deviația standard, eroarea standard, gradul de corelație. Diferențele dintre parametrii clinici au fost determinate prin testul ANOVA. Un $p < 0,05$

both dental arcades, six sites per tooth, excluding third molars, using automated periodontal probe *Florida Probe*. Bleeding on probing was recorded by assessing the gingival index (GI) în 6 sites per tooth (Figure 1). The presence of plaque index (PI) was appreciated by Quigley & Hein.

Patients were divided into two groups: control group – periodontal healthy (PH) and the study group – patients with chronic initial periodontitis (PCIP). Representatives of the second group included patients with at least one positive site of 1-2mm of CAL în the proximal area.

The study protocol was approved by the Research Ethics Committee of the *Nicolae Testemitanu* Medical University (approval no. 16, session from 25.01.2013, President of REC – professor Gavriluc Mihail). Enrolled patients signed the informed consent.

Subgingival samples collection

Supragingival dental plaque was removed through a sterile periodontal curette. Subgingival plaque was collected via sterile endodontic cones (diameter 25) being introduced into the gingival sulcus/periodontal pocket, în proximal sites for 10 seconds (Figure 2). în patients with PCIP, microbiological samples were taken from sites presenting clinical attachment level values of 1-2 mm. The cones were then placed în the paper transport medium (Figure 3). Microbiological examinations were performed în *Invitro Diagnostic* laboratory, using quantitative polymerase chain method (PCR), *Periodont Screen Real-TM* periodontal kit for the species *P. gingivalis*, *B. forsythus* and *T. denticola*, and *A. Actinomyetemcomitans*.

Statistical analysis

Clinical and microbiological data were analyzed în IBM SPSS V22.0. It was calculated the mean, standard deviation, standard error; the degree of correlation. The differences between clinical parameters were determined by the ANOVA test. A $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

From the sample of 84 patients, 2295 teeth were subjected to clinical examination and microbiological samples were taken at the level of 504 teeth (6 teeth per participant). Periodontal clinical indications such as CAL, PI, GI, the number of



Fig. 2 Prelevarea probelor subgingivale prin intermediul conurilor de hârtie.

Fig. 2 Collecting subgingival samples using sterile paper points.

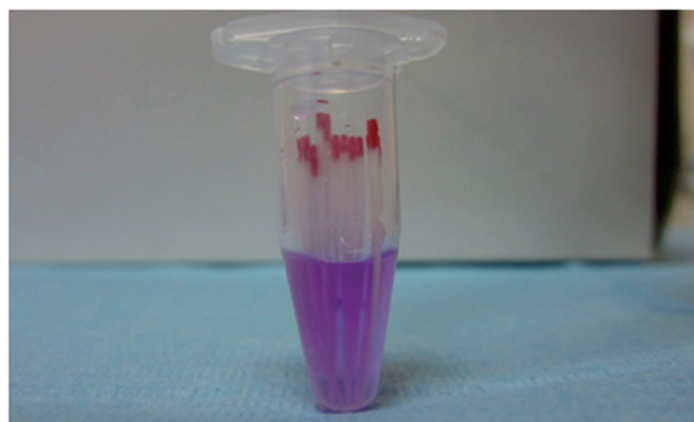


Fig. 3 Plasarea conurilor de hârtie cu probe microbiologice în mediu de transport cu ser fiziologic steril.

Fig. 3 Paper points with subgingival microbiota placed in sterile saline solution.

a fost considerat semnificativ din punct de vedere statistic.

Rezultate

Din eșantionul de 84 de pacienți, 2295 de dinți au fost supuși examenului clinic, iar probele microbiologice au fost prelevate la nivelul a 504 de dinți (6 dinți per participant). Indicii clinici parodontali, precum nivelul de atașament clinic (CAL), indicele de placă (PI), indicele gingival (GI), numărul de microorganisme depistate la ambele loturi de pacienți, sunt prezentați în Tabelul 1. Valorile medii ale CAL, PI și GI, în funcție de sexe, în lotul de studiu sunt prezentate în Tabelul 2.

Tabelul 1. Valorile nivelului de atașament clinic (CAL), indicelui parodontal (PI), indicelui gingival (GI) și numărului de microorganisme, depistate la ambele loturi.

	Vârsta	PI	GI	CAL	nr. m/o
Lotul PS	28,7±6,74	1,02±0,71	0,94±0,59	1,74±0,23	3,3±0,80
Lotul PMCI	26,0±6,25	0,13±0,08	0,0	0,09±0,08	0,0

Notă: Datele sunt prezentate drept medie și deviere standard.

Tabelul 2. Valorile nivelului de atașament clinic (CAL), indicelui parodontal (PI), indicelui gingival (GI) și procentul persoanelor cu rezultate pozitive pentru speciile grupului roșu, în funcție de sexe.

	CAL	PI	GI	Pozitive pentru speciile grupului roșu, %			
				A	B	C	D
Bărbați	1,81±0,21	1,42±0,79	1,07±0,52	29,8	19,1	31,9	27,3
Femei	1,69±0,23	0,77±0,52	0,82±0,64	34,5	14,3	34,5	34,5
Total	1,75±0,22	1,09±0,66	0,95±0,58	64,3	33,4	66,4	61,8

Notă: A – *P. gingivalis*; B – *T. denticola*; C – *T. forsythia*; D – *A. actinomycetemcomitans*. Datele sunt prezentate drept medie și deviere standard sau sub formă de valori relative (%).

Reacția de amplificarea în lanț (PCR) a demonstrat o distribuție proporțională a speciilor de microorganisme *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*. Prezența acestora

microorganismelor detectate în ambele grupuri de pacienți sunt prezentate în Tabelul 1. Valorile medii ale CAL, PI și GI în funcție de gen în grupul PCIP sunt prezentate în Tabelul 2.

Analiza PCR a demonstrat o distribuție proporțională a speciilor de microorganisme de *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*. Prezența acestora nu prezintă asociații relevante în relație cu genul pacienților (Tabelul 2). Concentrații scăzute ale speciilor enumerate au fost frecvent detectate în grupul de vârstă 18-25 ani, în două grupuri de vârstă de 26-35 și 36-42 ani, speciile au prezentat valori crescute, indicând un risc crescut de apariție a bolii (Tabelul 3). Interrelația speciilor de bacterii cu parametrii

Tabelul 1. Valorile nivelului de atașament clinic (CAL), indicelui parodontal (PI), indicelui gingival (GI) și numărul de microorganisme, depistate la ambele loturi.

	Age	PI	GI	CAL	no. m/o
Group PS	28.7±6.74	1.02±0.71	0.94±0.59	1.74±0.23	3.3±0.80
Group PMCI	26.0±6.25	0.13±0.08	0.0	0.09±0.08	0.0

Note: Data are presented as mean and standard deviation.

Tabelul 2. Valorile nivelului de atașament clinic (CAL), indicelui parodontal (PI), indicelui gingival (GI) și procentul persoanelor cu rezultate pozitive pentru speciile grupului roșu, în funcție de gen.

	CAL	PI	GI	Pozitive pentru speciile grupului roșu, %			
				A	B	C	D
Males	1.81±0.21	1.42±0.79	1.07±0.52	29.8	19.1	31.9	27.3
Females	1.69±0.23	0.77±0.52	0.82±0.64	34.5	14.3	34.5	34.5
Total	1.75±0.22	1.09±0.66	0.95±0.58	64.3	33.4	66.4	61.8

Note: A – *P. gingivalis*; B – *T. denticola*; C – *T. forsythia*; D – *A. actinomycetemcomitans*. Data are presented as mean and standard deviation, or as relative values (%).

clinical parameters is described in Table 4. Significant associations were found between CAL values and mentioned bacte-

nu prezintă asocieri relevante în raport cu sexul pacienților (Tabelul 2). Concentrațiile joase ale speciilor menționate au fost frecvent depistate la grupul de vârstă 18-25 de ani, iar în cele două grupe de vârstă de 26-35 și de 36-42 de ani, speciile au prezentat valori crescute, ce indică riscul crescut al apariției bolii (Tabelul 3). Interrelația speciilor de bacterii cu parametrii clinici parodontali este descrisă în Tabelul 4. Asocieri semnificative au fost găsite între valorile CAL și speciile menționate de bacterii, demonstrând că cele anaerobe, odată cu avansarea distrucției tisulare parodontale, cresc în număr.

Tabelul 3. Procentul persoanelor cu rezultate pozitive pentru speciile *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, în funcție de grupul de vârstă.

Grup de vârstă, ani	Concentrație înaltă (>10 ⁵), %				Concentrație joasă (≤10 ⁵), %			
	A	B	C	D	A	B	C	D
18-25	1,2	1,2	1,2	1,2	10,7	3,6	10,7	10,7
26-35	5,6	3,6	7,1	5,9	3,6	5,9	3,6	3,6
36-42	8,3	3,6	8,3	5,9	0	4,8	0	0

Notă: A – *P. gingivalis*; B – *T. denticola*; C – *T. forsythia*; D – *A. actinomycetemcomitans*.

Tabelul 4. Interrelația speciilor de bacterii cu parametrii clinici parodontali.

Parametru clinic	Concentrație înaltă (>10 ⁵), %				Concentrație joasă (≤10 ⁵), %			
	A	B	C	D	A	B	C	D
CAL	2	2	2	2	1,5	1,7	1,6	1,5
GI	1,9	1,6	1,8	1,8	0,6	0,7	0,6	0,6

Notă: A – *P. gingivalis*; B – *T. denticola*; C – *T. forsythia*; D – *A. actinomycetemcomitans*.

Conform analizei de corelație, rezultatele indică o puternică asociere, statistic semnificativă, între variabila CAL și concentrația de microorganisme parodontopatogene (Tabelul 4). Odată cu creșterea valorilor CAL, crește și concentrația bacteriilor: *P. gingivalis* ($r_{xy}=0,84$), *T. denticola* ($r_{xy}=0,60$), *T. forsythia* ($r_{xy}=0,86$), *A. actinomycetemcomitans* ($r_{xy}=0,85$), $p<0,001$.

Discuții

Acest studiu descrie prevalența speciilor parodontopatogene ale complexului roșu (*P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*) și *A. actinomycetemcomitans*, depistate în probele de placă subgingivală la pacienții cu PMCI.

Studiile recente au demonstrat că atât situsurile parodontale sănătoase, cât și cele care răspund favorabil la tratamentul parodontal, conțin, de obicei, concentrații joase de bacterii parodontale patogene [10].

Speciile patogene investigate, sunt asociate inițierii și progresării afecțiunilor parodontale (Tabelul 4). În situsurile cu valorile CAL de 2 mm, o concentrație înaltă a combinațiilor *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia* și *A. actinomycetemcomitans* au fost regăsite, confirmând teoria de puternică asociere între parodontita marginală cronică și complexul roșu, contribuind la pierderea de țesut parodontal [13].

Odată cu progresarea pierderii de atașament clinic, crește

ria, demonstrând că bacteriile anaerobe cresc în număr odată cu distrucția țesutului parodontal.

Conform analizei de corelație, rezultatele indică o puternică asociere, statistic semnificativă, între variabila CAL și concentrația de microorganisme parodontopatogene (Tabelul 4). Odată cu creșterea valorilor CAL, crește și concentrația bacteriilor: *P. gingivalis* ($r_{xy}=0,84$), *T. denticola* ($r_{xy}=0,60$), *T. forsythia* ($r_{xy}=0,86$), *A. actinomycetemcomitans* ($r_{xy}=0,85$), $p<0,001$.

Tabelul 3. Procentul persoanelor cu rezultate pozitive pentru speciile *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, în funcție de grupul de vârstă.

Age group, y.o.	High concentration (>10 ⁵), %				Low concentration (≤10 ⁵), %			
	A	B	C	D	A	B	C	D
18-25	1.2	1.2	1.2	1.2	10.7	3.6	10.7	10.7
26-35	5.6	3.6	7.1	5.9	3.6	5.9	3.6	3.6
36-42	8.3	3.6	8.3	5.9	0	4.8	0	0

Note: A – *P. gingivalis*; B – *T. denticola*; C – *T. forsythia*; D – *A. actinomycetemcomitans*.

Tabelul 4. Interrelația speciilor de bacterii cu parametrii clinici parodontali.

Clinical parameter	High concentration (>10 ⁵), %				Low concentration (≤10 ⁵), %			
	A	B	C	D	A	B	C	D
CAL	2	2	2	2	1.5	1.7	1.6	1.5
GI	1.9	1.6	1.8	1.8	0.6	0.7	0.6	0.6

Note: A – *P. gingivalis*; B – *T. denticola*; C – *T. forsythia*; D – *A. actinomycetemcomitans*.

Discussion

This study describes the prevalence of periodontal red complex species (*P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*) and *A. actinomycetemcomitans* detected in samples of subgingival plaque in patients with PMCI.

Recent studies have shown that periodontal sites both healthy and those who respond favourably to periodontal treatment, containing typically low concentrations of periodontal pathogenic bacteria [10].

Investigated pathogenic species are associated with periodontal disease initiation and progression (Table 4). In sites with CAL of 2 mm, a high concentration combinations *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia* and *A. actinomycetemcomitans* were found, confirming the theory of strong association between chronic periodontitis and red complex contributing to the loss of periodontal tissue [13].

With the progression of CAL, increases the concentration of the species *A. actinomycetemcomitans* [13]. In our study, the results indicated a direct correlation between increased levels of periodontal clinical parameters (CAL, bleeding on probing, GI) and quantitative values of species of anaerobic microorganisms. Progression in deepness periodontal pockets, becomes a favourable environment for colonization and development of anaerobic microflora [11].

și concentrația speciei *A. actinomycetemcomitans* [13]. În studiul nostru, rezultatele au indicat o corelație directă între creșterea valorilor parametrilor clinici parodontali – CAL, sângerarea la sondare, apreciat în cadrul estimării GI și valorile cantitative ale speciilor de microorganisme anaerobe.

Progresarea în adâncime a pungilor parodontale devine un mediu favorizant pentru colonizarea și dezvoltarea microflorei anaerobe [11].

Un studiu timpuriu, efectuat de Zimmer și coll. (1991), a demonstrat stabilirea microflorei patogene în cavitatea orală de la vârste timpurii [15]. La fel, studiile efectuate de Haffajee și coll. (1998) [16], și Griffen (1998) [17] au confirmat această teorie.

Concluzii

A fost demonstrată o asociere strânsă între valorile maxime ale CAL, GI și prezența cantităților crescute a speciilor *P. gingivalis*. Testele microbiologice PCR, ne oferă date importante despre etiologia infecției parodontale. Utilizarea testelor microbiologice în diagnosticarea afecțiunii parodontale asigură posibilitatea depistării maladiei la etapa incipientă, care devine un instrument preventiv eficient pentru managementul inițierii și progresării afecțiunii parodontale.

Declarația de conflict de interes

Autorul declară lipsa conflictelor de interes.

Referințe / references

- Academy Reports. The pathogenesis of periodontal diseases. *J. Periodontol.*, 1999; 70 (4): 457-70.
- Kinane D. Periodontal disease in children and adolescents: introduction and classification. *Periodontology*, 2000; 2001; 26: 7-15.
- Camelo-Castillo A., Mira A., Pico A., Nibali L., Henderson B., Donos N., Tomas I. Subgingival microbiota in health compared to periodontitis and the influence of smoking. *Front. Microbiol.*, 2015; 6: 119.
- Clerehugh V., Lennon M., Worthington H. Aspects of the validity of buccal loss of attachment greater than or equal to 1 mm in studies of early periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, 1988; 15 (4): 207-10.
- Wiebe C., Putnins E. The periodontal disease classification system of the American Academy of Periodontology – an update. *J. Can. Dent. Assoc.*, 2000; 66: 594-7.
- 1999 International Workshop for a Classification of periodontal diseases and conditions. Papers. Oak Brook, Illinois, October 30/ November 2, 1999. *Ann. Periodontol.*, 1999; 4: 1-112.
- Hamlet S., Cullinan M., Westerman B., Lindeman M., Bird P., Palmer J., Seymour G. Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in an Australian population. *J. Clin. Periodontol.*, 2001; 28: 1163-1171.
- Page R., Kornman K. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology*, 2000; 14: 9-11.
- Socransky S., Haffajee A., Smith C., Dibart S. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J. Clin. Periodontol.*, 1991; 18: 766-775.
- Boyer B., Ryerson C., Reynolds H., Zambon J., Genco R., Snyder B. Colonization by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in adult patients as detected by the antibody-based Evalusite Test. *J. Clin. Periodontol.*, 1996; 23: 477-484.
- Herrera D., Contreras A., Gamonai J., Oteo A., Jaramillo A., Silva N., Sanz M., Enrique J., Leon B. Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. *J. Clin. Periodontol.*, 2008; 35: 106-113.
- Haffajee A., Cugini M., Tanner A., Pollack R., Smith C., Kent R. Jr., Socransky S. Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J. Clin. Periodontol.*, 1998; 25: 346-353.
- Farias B., Souza P., Ferreira B., Melo R., Machado F., Gusmao E., Cimoës R. Occurrence of periodontal pathogens among patients with chronic periodontitis. *Braz. J. Microbiol.*, 2012; 43 (3): 909-916.
- Dumitrescu A. Etiology and pathogenesis of periodontal disease. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, 2010.
- Zimmer W., Wilson M., Marsh P., Newman H., Bulman J. *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the plaque of children without periodontitis. *Microbial ecology in health and disease*, 1991; 4: 329-336.
- Haffajee A., Cugini M., Tanner A., Pollack R., Smith C., Kent R., Socransky S. Subgingival microbiota in healthy, well maintained elder and periodontitis subjects. *J. Clin. Periodontol.*, 1998; 25: 346-353.
- Griffen A., Becker M., Lyons S., Moeschberger M., Leys E. Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* and periodontal health status. *Journal of clinical microbiology*, 1998; 3239-3242.