



Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје

Стоматолошки факултет - Скопје

**ДЕТЕКЦИЈА НА ПАРОДОНТОПАТОГЕНИ БАКТЕРИИ СО
ПОМОШ НА VANA ТЕСТОТ И НИВНА КОРЕЛАЦИЈА СО
КЛИНИЧКИТЕ КАРАКТЕРИСТИКИ НА ХРОНИЧНА
ПАРОДОНТАЛНА БОЛЕСТ**

- магистерски труд -

Кандидат:

Д-р Шпенд Адили

Ментор:

Проф. д-р Киро Ивановски

Скопје, 2019



UNIVERSITY „ SS. CYRIL AND METHODIUS „ - SKOPJE

FACULTY OF DENTISTRY – SKOPJE

**DETECTION OF PERIODONTOPATHOGENE BACTERIA WITH THE
HELP OF BANA TEST AND THEIR CORELATION WITH THE
CLINICAL CHARACTERISTICS OF CHRONIC PERIODONTAL
DISEASE**

Master's paper

Candidate :

Dr. Shpend Adili

Mentor :

Prof.Dr. Kiro Ivanovski

Skopje, 2019

АПСТРАКТ

Основниот белег на пародонталната болест е губењето на епителниот и сврзно ткивниот атачмен. Различните форми на болеста се застапени кај возрасните популации, и сите овие форми се карактеризираат со различна стапка на прогресија на болеста како и различна реакција кон тераписките процедури. Студиите кои се спроведуваат и ја испитуваат популацијата кај која не е спроведен третман во долги временски интервали укажуваат на различна стапка на прогресијата на болеста која се движи од 0,05 до 0,3 мм загуба на атачмен на годишно ниво. Микробиолошките испитувања на хроничните пародонтити кои интензивно се спроведуваат го поддржуваат концептот на хронична пародонтална болест поврзана со специфични бактериски агенти.

Зголемените нивоа на *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *B. rectus* и *A. Actinomycetemcomitans* се поврзани со прогресијата на болеста а нивната тераписка елиминација е поврзана со подобрување на клиничкиот одговор а исто е покажано дека *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans* имаат способност да извршат инвазија на ткивата на домаќинот факт кој е со сигнификантно значење за адултните агресивни форми на пародонталната болест.

Целта на овој труд беше да се оцени способноста на BANA тестот за откривање на различни нивоа на *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* и *Tannerella forsythia* или нивни комбинации во субгингивалните плак примероци во првичната дијагноза и по пародонталната терапија и да се утврди можноста за докажување на пародонталните микробни комплекси со помош на BANA-тестот и да се утврди корелацијата помеѓу клиничките показатели на хроничната пародонтална болест и резултатите од тестот.

Во студијата беа вклучени 40 пациенти со хронична пародонтопатија, кои се јавуваа на Клиниката за болести на устата и пародонотот на ЈЗУ Стоматолошки Клинички Центар „ Св. Пантелејмон “ во Скопје. За определување на микробните комплекси беше користен BANA процесор (BANA-Zyme™) со оригинални тест стрипови, физиолошки раствор и микробиолошки брис од дното на пародонталниот џеб. Беа користени градуирана пародонтална сонда и Грасу-ева кирета за земање на брисот.

Од сите пациенти кои беа вклучени во испитувањето, се бараше согласност и им беше објаснето зошто се спроведува испитувањето. Врз основа на темелна анамнеза, клинички пародонтолошки преглед и панорамска ренгенска снимка беше поставувана дијагнозата и беше определен стадиумот на напреднатост на пародонталната болест.

По спроведените мерења и определување на индексните вредности беше испирана устата на пациентот со физиолошки раствор, регијата во која се наоѓа џебот од кој ќе се зема брис, беше изолирана со ветеролни. Со соодветна грејсиева кирета се навлегуваше во најдлабокиот дел од пародонталниот џеб и се загребуваше по дното и

коренскиот дел од џебот за да се земе доволно количество на материјал за испитување на микробните комплекси.

Кај секој испитаник, земањето на брис од пародонталниот џеб беше направено во три временски интервали, и тоа:

- T1-прв пат, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности,
- T2-втор пат, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуконат,
- T3-трет пат, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб.

Тестот се изведуваше на следниот начин:

Горниот дел од стрипот со памучен стап се натопува исклучиво со дестилирана вода. Стрипот на превиеното место се свиткува така што двете места каде што се аплицирани примероците и делот натопен со дестилирана вода се совпаѓаат, се допираат еден со друг, и така во претходно вклучениот BANA процесор свитканиот стрип се става во едно од двете предвидени места на процесорот, според упатствата на производителот. Така поставениот стрип се инкубира 5 минути додека процесорот ја постигне температурата од 55 целзиусови степени, по што самиот процесор дава светлосен и звучен сигнал дека процедурата е завршена и дека резултатите може да се толкуваат.

Ако BANA позитивните соеви се присутни кога резултатите се толкуваат, сина боја се појавува на горниот дел од стрипот. Колку поголема е концентрацијата на бактериските соеви, толку е потемно синото обојувањето на стрипот. Согласно резултатите тој може да биде позитивен, слабо позитивен и негативен.

Резултатите кои ги добивме укажуваат дека само со хемиска плак контрола не е можна комплетна елиминација на микроорганизмите од пародонталниот џеб. Имено, во вториот временски интервал, по испирање на џебот се зголемува бројот на слабо позитивните резултати како резултат на намалување на бројот на микроорганизмите во оние џбови, кои во првиот интервал биле со позитивен резултат. Дека механичката плак контрола е најефикасна, се потврдува со значителното намалување на слабо позитивните резултати од BANA тестот во третиот испитуван интервал во споредба со слабо позитивните резултати од BANA тестот во вториот интервал.

Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, BANA тестот кај 57.5% беше *позитивен*, додека пак во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуконат, BANA тестот кај 32.5% беше *позитивен*. После маханичкото (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, не се регистрира *позитивен* BANA тестот.

Врз основа на добиените резултати може да заклучиме дека со резултатите добиени од Бана тестот, се потврди тезата дека механичката елиминација на микроорганизмите од длабочината на пародонталните џебови е неприкосновена метода и далеку поефикасна од хемиската елиминација и дека со помош на Бана тестот може, брзо лесно и ефикасно да се определат жителите на црвениот комплекс кој се поврзува со пародонталната болест, особено со клиничката презентација на крварење од гингивата.

Клучни зборови: BANA test, пародонтопатогени микроорганизми, црвен комплекс на бактерии, пародонтален џеп, длабочина на пародонтален џеп.

ABSTRACT

The main mark of periodontal disease is the loss of epithelial and connective tissue attachment. Different forms of the disease are represented in adult population, and all these forms are characterised with a different level of disease progression as well as different reaction towards therapeutic procedures. Studies which are being implemented and examine the population in which no long-term treatment has been performed suggest of different level of disease progression which moves from 0,05 to 0,3 mm yearly attachment loss. Microbiological researches of the chronic parodontitis which are intensively carried support the concept of chronic parodontitis related to specific bacteria agents.

Increased levels of *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *B. rectus* and *A. actinomycetemcomitans* are related with disease progression and their therapeutical elimination is related with the improvement of the clinical response and it is also shown that *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* have the ability to invade host cells which is of significant meaning for the adult aggressive forms of periodontal disease.

The goal of this labor was to evaluate the ability of BANA test to detect different levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tanarella forsythia* or their combinations in the subgingival plaque samples in the initial diagnosis and after periodontal therapy and to determine the possibility for proving of periodontal microbial complexes with the help of BANA test and to determine the correlation between the clinical indicators of chronic periodontal disease and the test results.

In the study were included 40 patients with chronic periodontitis, who called in at the Clinic for mouth and periodontium diseases at PHI Dental Clinical Center „ St. Pantelejmon „ in Skopje. For the determination of the microbial complexes was used the BANA processor (BANA-Zyme™) with original test stripes, physiological saline and microbial sample from the bottom of the parodontal pocket. Graduated probe and Gracey curette were used for the swab taking.

From all the patients who were included in the examination, was required consent and it was explained to them why the examination is done. Based on a thorough history, clinical periodontal examination and panoramic x-ray a diagnosis was set and was determined the advancement stage of the periodontal disease.

After the performed measurements and determination of the index values the mouth of the patient was rinsed with physiological saline, the region in which the pocket is localized from which a sample is to be taken, was isolated with cotton roll. With appropriate Gracey curette it was got into the deepest part of the parodontal pocket and was scratched on the bottom and the root part of the pocket to take a sufficient amount of material for testing of microbial complexes.

In each respondent, swab taking from the periodontal pocket was done at three time intervals:

- T1 - first time, immediately after the measurements and the determination of the index values,
- T2 - second time, after deep rinsing of the parodontal pocket with 0,2 % solution of chlorhexidine digluconate,
- T3 – third time, after mechanical (mechanical) cleaning of the parodontal pocket.

The test was performed as follows :

The upper part of the strip is immersed with a cotton swab solely with distilled water. The strip on the bending place is bent so that the two places where the sample is applied and the part soaked with distilled water match, they touch with each other, and so in the pre turned on BANA processor the bent strip is put in one of the two predicted slots in the processor, following the manufacturers instructions. The strip is incubated for 5 minutes until the processor reaches the temperature of 55 degrees Celsius, after which the processor itself gives a light and sound signal that the procedure is complete and that results are to be interpreted.

If the BANA positive strains are present while the results are being interpreted, a blue color shows up on the upper part of the strip. The greater the concentration of bacterial strains, the darker the blue coloration on the strip. According to the results it can be positive, weakly positive and negative.

The results that we got are indicating that only with chemical plaque control alone it is not possible a complete elimination of the microorganisms from the parodontal pocket. Namely, in the second time interval, after pocket rinsing the number of weakly positive results increases as a result of the reduction of the number of microorganisms in those pockets, which were with a positive result in the first interval.

In T1 time, right after the measurements and the determination of the value indexes, the BANA test in 57,5 % was positive, while in T2 time, after deep rinsing of the parodontal pocket with 0,2 Chlorhexidine digluconate, the BANA test in 32,5 % was positive. After the mechanical (ultrasonic) cleansing of the parodontal pocket, positive BANA test was not registered.

Based on the obtained results we can conclude that with the results received from the BANA test, confirmed the thesis that mechanical elimination of the microorganisms from the depth of parodontal pockets is irreversible method and is far more effective than chemical elimination and that with the help of the BANA test it is possible, quick, easy and effective determination of inhabitants of the red complex which is related with the periodontal disease, especially with the clinical presentation of gum bleeding.

Keywords: BANA test, periodontal pathogene microorganisms, red bacteria complex, parodontal pocket, depth of parodontal pocket.

ВОВЕД

Пародонтопатиите се специфични инфективни болести, кои се предизвикани од бактерии а се карактеризираат со уништување на сврзното ткиво на пародонтот и на алвеоларната коска (1). Генерално е прифатено дека хроничната пародонтопатија е најпревалентна форма на пародонтопатија, која се карактеризира со бавен тек на прогресија и претставува главна причина за загуба на забите кај повозрасната популација (2). Клиничките знаци врз основа на кои се поставува дијагноза хронична пародонтопатија се прогресивен губиток на припојот, кој води кон формирање пародонтален џеб и постепена ресорпција на алвеоларната коска. Првите знаци на хронична пародонтопатија можат да се појават уште во адолесцентниот период, како резултат на континуирано акумулирање на плак и забен камен. Сепак, согласно бавниот тек на прогресија, клиничките знаци стануваат сигнификантни околу 30 – тите години или подоцна во текот на животот.

Отривањето на етиологијата на пародонталната болест бележи значителен напредок во последната деценија. Во минатиот век се сметало дека сите бактериски видови пронајдени во денталниот плак се подеднакво способни да предизвикаат пародонтална болест и дека пародонталната болест е резултат на кумулативна изложеност на дентален плак. Дури во почетокот на 1960, кога со микроскопски преглед на плакот во пародонтално заболени места биле пронајдени специфични бактериски морфотипови е докажана нивната поврзаност со болеста. Во наредните години благодарение на техничкиот напредок, било олеснато изолирањето, култивирањето и идентификацијата на пародонталните микроорганизми. Ова резултирало со ревизија на бактериската таксономија и откривање на специфичните микроорганизми поврзани со болестите на пародонтот. Во '90-тите години на минатиот век молекуларниот пристап во идентификацијата на микроорганизмите доведе до добивање на нови податоци за бактериската разновидност во пародонталната средина. Докажано е дека оваа микрофлора е комплексна заедница на микроорганизми, и некои од нив до ден денес е невозможно да се култивираат во лабораториски услови. Меѓутоа студиите покажуваат дека некои видови функционираат како патогени и видовите што функционираат како такви можат да бидат присутни, иако во многу помал број, и во здравата орална средина. Хроничната природа на пародонталната болест ја комплицира потрагата по патогените бактерии. Порано се сметало дека пародонталната болест напреднува со константен бавен раст. Меѓутоа епидемиолошките истражувања докажаа дека болеста прогредира со различна брзина, со епизоди на брза ткивна деструкција и периоди на ремисија. Како што разбирањето на пародонталната

микробиолошка екологија напредува така постепено се разоткрива и точната етиологијата на пародонталната болест. (3, 4)

Во средината на минатата деценија се сметало дека пародонталните болести се резултат на таложењето на плакот врз денталните ткива и биле асоцирани со намалениот имун одговор на домаќинот како и со зголемената подложност кон заболување со текот на стареењето. Оваа хипотеза била поткрепена со епидемиолошките студии, кои ги доведувале во корелација возраста и количината на плакот кај пациентите со развиена пародонтална болест и се сметало дека сите типови на плак се подеднакво способни да предизвикаат инфламација. (3)

Сепак, неколку наоди биле контрадикторни на овие заклучоци. Некои поединци, кај кои имало значително големи количини на плак и забен камен, како и гингивитис, никогаш не развиле деструктивни форми на пародонтитис. Исто така, кај други поединци кои имаат пародонтална болест биле докажани одредени значителни специфичности во јавувањето на болеста во различни места. Некои подрачја биле здрави, додека напреднати форми на болеста биле пронајдени во нивната непосредна близина. При униформен имун одговор, овие резултати биле неконзистентни со концептот дека секој плак е патоген. Овие контрадикторни клинички наоди довеле до повторно спроведување на истрага со цел ревизија и пронаоѓање на специфичните пародонтопатогени агенси а со тоа и концептуален премин од неспецифичната кон специфичната плак хипотеза. (3)

Неспецифичната и специфичната плак хипотеза биле разграничени во 1976 година од Walter Loesche, истражувач на Универзитетот во Мичиген. Неспецифичната плак хипотеза тврди дека пародонталната болест е резултат на "ослободување на штетни производи од целокупната плак микрофлора" т.е. секој плак е патоген. Според оваа хипотеза, кога се присутни мали количини на штетни продукти од плакот тие се неутрализираат од страна на домаќинот. Слично на тоа, големите количини на плак ќе доведат до продукција на големи количини на штетни производи, кои во суштина можат да го совладаат имуниот одговор на домаќинот. Составен дел на оваа хипотезата е концептот дека контролата на пародонталната болест зависи од контролата на плак акумулацијата. Третманот на пародонтопатијата (нехируршки или хируршки) и коректно спроведените орално хигиенски мерки се фокусиран кон отстранувањето на плакот и неговите продукти и претставуваат основа на неспецифичната плак хипотеза. Иако оваа хипотеза е отфрлена во корист на специфичната плак хипотеза, клиничкото лекување се уште се базира на постулатите од оваа хипотеза. (3)

Според специфичната плак хипотеза само одреден плак е патоген и патогеноста зависи од присуството и зголемувањето на бројот на одредени специфични микроорганизми. Овој концепт предвидува дека плакот кој содржи одредени патогени бактерии резултира со појава на пародонтална болест поради тоа што овие организми произведуваат супстанции кои посредуваат при уништувањето на ткивата на домаќинот. (3)

Во исто време кога Loesche ја предложил специфичната плак хипотеза, биле направени големи достигнувања во техниките кои се користат за изолирање и идентификација на пародонтопатогените микроорганизми. Исто така се направени одредени подобрувања на процедурите на земање на субгингивални плак примероци, соодветно ракување со нив со цел да се спречи уништувањето на бактериите, и подобрување на медиумот кој се користи за растот на бактериите во лабораториите. (3)

Сето тоа резултирало со зголемување на способноста да се изолираат пародонтопатогените микроорганизми а со тоа да се направи и ревизија на бактериската таксономија. Прифаќањето на оваа хипотеза е поттикнато од откритието дека *A. Actinomycetemcomitans* е причинител на локализираните форми на агресивната пародонтопатија. Овие напредоци довеле до спроведување на серија на здружени студии кои се фокусирале на идентификување на специфичните пародонтопатогени преку испитување на микрофлората поврзана со состојбите на здравје и болест на пародонталното ткиво.(3, 4)

Основниот белег на пародонталната болест е губењето на епителниот и сврзно ткивниот припој. Различните форми на болеста се застапени кај возрасните популации, и сите овие форми се карактеризираат со различна стапка на прогресија на болеста како и различна реакција кон тераписките процедури. Студиите кои се спроведуваат и ја испитуваат популацијата кај која не е спроведен третман во долги временски интервали укажуваат на различна стапка на прогресијата на болеста која се движи од 0,05 до 0,3 мм загуба на атачмен на годишно ниво (т.е. постепен модел). Кога популациите се прегледуваат на пократки временски интервали, одделни подрачја покажале кратки периоди на брза деструкција на атачменот со последователни неактивни периоди на болеста (т.е. продорен модел). Меѓутоа не е јасно утврдено кој од овие два модели на прогресија на болеста (постепениот или продорниот) е точен или се работи за сосема друг механизам на прогресија. (3)

Микробиолошките испитувања на хроничните пародонтити кои интензивно се спроведуваат го поддржуваат концептот на хронична пародонтална болест поврзана со специфични бактериски агенси. Микроскопските прегледи на плакот од подрачјата

зафатени со хронични пародонтални промени откриваат константно покачена пропорција на спирохети, а доколку се култивираат плак микроорганизмите од овие подрачја се добива и висок процент на анаеробни (90%) и грам негативни (75%) бактериски видови. Кај овој пародонтитис најчесто застапени бактерии се: *P. gingivalis*, *B. forsythus*, *P. intermedia*, *B. rectus*, *Eikenella corrodens*, *F. nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. Micros*, *Treponema* и *Eubacterium spp.* Во пародонтално активните места (места со скорешно губење на атачмен) во споредба со неактивните места (места без скоро губење на атачменот) се откриени зголемени нивоа на *B. rectus*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *E. nucleatum* и *B. forsythus*. (3)

Зголемените нивоа на *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *B. rectus* и *A. Actinomycetemcomitans* се поврзани со прогресијата на болеста а нивната терапевска елиминација е поврзана со подобрување на клиничкиот одговор а исто е покажано дека *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans* имаат способност да извршат инвазија на ткивата на домаќинот факт кој е со сигнификантно значење за адултните агресивни форми на пародонталната болест. (3)

Документирани се и одредени асоцијации помеѓу хроничниот пародонтитис и одредни вируси од херпесвирус група, особено вирусот на Epstein-Barr (ЕБВ-1) и хуманиот цитомегаловирус (HCMV). Нивното присуство во субгингивалната регија е поврзано со високите нивоа на специфичните бактериски патогени, вклучувајќи ги *P. gingivalis*, *B. forsythus*, *P. intermedia*, и *T. denticola*. Овие податоци ја поддржуваат хипотезата дека вирусна инфекција може да придонесе за патогенезата на пародонталната болест, но потенцијалната улога на вирусни агенси останува да се испита подетално. (3)

Денталниот плак се јавува како најзначаен етиолошки фактор во појавата на хроничната пародонтопатија. Познато е дека претставува сложен екосистем, во кој опстојуваат голем број различни микроорганизми. Овие микроорганизми во зависност од нивната метаболна компатибилност како и од патогениот потенцијал кој го поседуваат се поделени на колорно – кодирани комплекси (5). Микроорганизмите кои влегуваат во составот на црвениот комплекс покажуваат највисок степен на патогеност. Станува збор за грам негативни анаеробни микроорганизми, именувани како *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola*. Нивното зголемено присуство се забележува во зрелиот дентален плак, присутен во подлабоките пародонтални џебови, каде воедно постојат анаеробни услови потребни за нивно опстојување.

Благодарение на техничкиот напредок олеснет е процесот на изолирање, култивирање и идентификација на пародонтопатогените микроорганизми. Со помош на микробиолошките лабораториски постапки се олеснува поставувањето на точната дијагноза и се контролира успехот од применетиот терапевски пристап. Бактериските видови кои се поврзуваат со хроничната пародонтопатија се главно грам негативни анаеробни бацили, акумулирани во голема количина во субгингивалниот дентален плак (6)

Тргувајќи од фактот дека главниот етиолошки фактор одговорен за хроничната пародонтопатија претставува континуирана плак акумулација, постојат голем број методи кои делуваат во супримирање на истиот. Целта на денталното здравствено воспитување поврзано со оралната хигиена, е да се иницираат промени во однесувањето на индивидуата, што ќе резултира со намалување на плак акумулацијата и согласно подобрување на клиничката слика. (6-15)

Потребно е пациентот да биде правилно инсториран од страна на стоматологот за правилната техника на четкање на забите и потребата од редовни контроли, со што механичката плак - контрола ќе се доведе на едно задоволително ниво.

Од голема важност е и контролата на плакот во пределот на интерденталните простори, која се постигнува со помош на специјално дизајнирани интердентални четкички со различна големина, согласно широчината на просторот.

Сепак, манифестната клиничката слика на хронична пародонтопатија настанува како резултат на континуирана негрижа за оралното здравје од страна на пациентот. Денталниот плак кој подолго време не е одстранет од забните површини со тек на времето преминува во забен камен, кој како таков бара посебен терапевски пристап со примена на специфичен инструментариум. Машинското отстранување на цврстите забни наслојки се изведува со помош на ултразвучните инструменти, чиј механизам на дејство е поврзан со фреквенцијата, ударот, типот на движење и ангулацијата на тоа движење во однос на површината на забот (7-15). Меѓутоа, со помош на ултразвучните инструменти не може да се постигне отстранување на субгингивалниот плак и калкулуси кои се наоѓаат во подлабоките пародонтални џебови. Како резултат на тоа во тие предели се применува рачна инструментација со помош на кирети, со кои се постигнува полирање на површината на коренот и воедно отстранување на гранулациите од мекоткивните структури.

Како дополнителен метод кој индивидуално се применува при третирање локализираните активни пародонтални џебови претставува локализираната

антимикробна терапија. Станува збор за посебно дизајнирани стикови кои се применуваат локално и делуваат антибактериски врз микробната флора во длабоките пародонтални џебови (8-15).

Покрај механичката плак – контрола, во секојдневната пракса доколку е потребно на пациентите им се препорачува употреба и на хемиска плак – контрола. Најчесто применуван е 0.2% раствор на хлорхексидин. Се препишува кај лица во хоспитализирана состојба, кај хендикепирани лица и кај индивидуи во напредната возраст, кај кои механичката плак – контрола најчесто не задоволува.

ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРАТА

Поголем број на бактерии од оралната флора се поврзуваат со етиологијата на пародонталната болест. Црно пигментираните, грам негативни, анаеробни микроорганизми *Porphyromonas gingivalis* и *Tannerella forsythia* се спомнуваат како главни патогени бактерии во етиологијата на пародонтопатијата. Овие две бактерии многу често се изолираат заедно во субгингивалниот биофилм, што укажува на постоење на еколошка врска помеѓу овие два микроорганизми во плакот (18). Спиралната орална спирохета, *Treponema denticola* (18) исто така се издвојува како значајна бактерија која се поврзува со пародонталната болест. Присуството на овие три бактерии се поврзува со активноста на пародонталните џебови (19). Socransky (19) комбинацијата на овие три бактерии ја нарекува „црвен комплекс“ и утврдил дека нивното присуство е од големо значење за прогресијата на пародонталната болест. Поради тоа, детекцијата (потврдување на нивното присуство во пародонталните џебови) укажува на тежината на пародонталната болест. Присуството пак, на *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* се поврзува со агресивните форми на пародонтална болест кај адолесцентите (18).

За пародонтопатиите се смета дека се ендогени инфекции, предизвикани од бактериите присутни во оралната флора. Сепак и можноста од егзоген бактериски „атак“ кој би ја комплицирал болеста, не се исклучува (20). Постојат повеќе методи за откривање на оралните бактерии а повеќето од нив се квалитативни (21). Бидејќи пародонталните патогени се присутни и во активните пародонталните џебови и во гингивалниот сулкус, само нивно квалитативно докажување не доволно во дијагностицирањето на пародонталната болест.

Заедничка карактеристика на инфективните болести е дека се тие поврзани со присуство на бактерии кои колонизираат одредени површини од телото (22). Оралната средина го олеснува растот и размножувањето на голем број различни бактерии. Составот на оралната микрофлора е под влијание на температурата, рН, редокс потенцијалот, од пруството на различни егзогени и ендогени извори на хранливи материи, како и од одбраната и генетиката на домаќинот (23).

Неколку објавени студии укажуваат на можната асоцијација на пародонталната болест со вируси. Contreras и сораб. (2000) (24) го потврдиле присуството на Epstein-Barr вирусот-тип 1, цитомегаловирусот и херпас вирусот кај деца во Нигерија кои имале улцеронекрозен гингивостоматит. Ling (25) објаснува дека вирусната инфекција на гингивата ја намалува отпорноста на ткивото и ја олеснува колонизацијата на патогени

бактерии. Во подоцнежните истражувања е потврдено дека од 800 до 1000 различни видови на микроорганизми се населуваат во оралната празнина, но само околу 50 од нив се поврзуваат со пародонтопатиите (26). Бактериите се одговорни за реакцијата на пародонталните ткива која се случува по нивната колонизација Ling (25). Според Lamont и сораб. (27) бактериите живеат во заедници во кои се поврзани со помош на гликокаликс. Тоа им овозможува соодветно прицврстување за различни орални површини и поголема заштита од несакани надворешни влијанија.

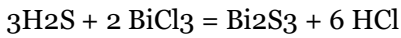
Во која фаза од менаџирањето на пародонтопатијата да се направи микробиолошка анализа е сеуште недоволно разјаснето. Да ли квантитативната детекција на пародонтопатогените да се направи при иницијалното дијагностицирање на пародонталната болест? Прашањето е логично заради тоа што голем број на дополнителни етиолошки фактори (генетски, фактори на средината, начин на живот) се вклучуваат во етиопатогенезата на болеста. Поради тоа микробиолошката детекција во иницијалната фаза од третманот на болеста, може да биде со лимитирачка вредност. Микробиолошките претраги кај пародонталната болест можат да бидат значајни за следење на ефектите на терапијата. Небактериските фактори кои се вклучуваат во етиологијата на пародонталната болест, се релативно стабилни и не се менуваат во текот на терапијата на болеста. Утврдена е позитивна корелација помеѓу длабочината на пародонталните џебови и квантитативната застапеност на *P. gingivalis* и *T. denticola*, а квантумот на бактериските клетки значително се намалуваат по иницијалната пародонтална терапија (28, 29).

Изборот на најсоодветната метода за детекција на пародонтопатогените микроорганизми зависи од целта на истражувањето. Клиничко потврдување на присуството на пародонтопатогените може да биде направено со земање на примероци на плунка или пак брис од јазик. За откривање на определени специфични бактерии од пародонталните џебови е потребно да се земе брис од џебот со хартиени влошки.

Ензиматските тестови и методите кои се базираат на PCR, често се користат за квалитативно докажување на пародонтопатогените бактерии. За ензиматските тестови не е потребна скапа технологија (30). Но бидејќи со нив се открива група на бактерии а не некоја специфична бактерија, овие методи не се толку полезни за селекција кој антибиотик ќе биде ординиран.

Yoshida и сораб. (31) го воведуваат тестот за детекција на водороден сулфид (H_2S), кој предизвикува халитоза а особено се продуцира од пародонтопатогените бактерии. Оваа метода може да се користи за да се проследат ефектите од спроведениот третман на пародонталната болест, кога не постои можност за микробиолошка дијагностика.

Хидроген сулфидот кој го продуцираат оралните бактерии, рагира со бизмут хлорид при што се создава црн преципитат од бизмут сулфид, според следнава реакција:



Продукцијата на хидроген сулфидот се врши со мерење на абсорбанцата на црниот талог на Bi_2S_3 , кој се добива откако ќе се земе мало количество на субгингивален плак со хартиени влошки.

За разлика од ензиматските тестови, со методите кои се базираат на PCR се откриваат специфични бактерии (21). Голем недостаток на PCR техниките е што со нив не се прави разлика помеѓу витални и авитални бактерии, бидејќи методологијата се базира на користење на хромозомална ДНК. Ова ги прави PCR техниките, да бидат несоодветни за селекција на антибиотик во третманот на пародонталната болест.

Во средината на минатата декада PCR техниките станаа популарни за квантитативно определување на пародонтопатогените микроорганизми (32, 33). Предност на овие техники е што дава широка можност за детекција на оралните бактерии. Како и сораб. (34), Nagashima и сораб. (35) и Yoshida и сораб. (36) ги вовеле PCR техниките за детекција на пародонтопатогените бактерии какви што се, *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *T. forsythia*, и *Prevotella* и во плунка и во дентален плак. Kawada и сораб. (28) и Yoshida и сораб. (30) утврдиле дека постои позитивна корелација помеѓу застапеноста на *P. gingivalis* и *T. denticola* и длабочината на пародонталните џебови. Но со оглед на потребната опрема за изведување на овие тестови, достапноста на лаборатории кои ги изведуваат овие микробиолошки техники и секоако цената на чинење на овие тестови, се недостатоци кои ги карактеризираат PCR техниките.

За утврдување кој антибиотик е потребно да се ординира при определени индикации кај пациенти со пародонтопатија, поефикасни се квалитативните методи на докажување на пародонтопатогените во споредба со молекуларните методи.

Отстранувањето на локалните етиолошки фактори, чистењето и полирањето на коренската површина се инцијалните фази од терапијата на пародонталната болест. Но, во одредени случаи со пародонтопатија оваа механичка терапија е недоволна, поради што е потребно да се ординира и антибиотик (37). Изборот на антибиотик ќе зависи од специфичните патогени кои ќе бидат изолирани од пародонталните џебови. Најчесто изолирани бактерии кај активна пародонтална болест се *Porphyromonas gingivalis*, *A.*

actinomycetemcomitans, *T. forsythia*, и *T. denticola*. Во следната табела се дадени и антибиотиците кои се најсоодветни за одделни пародонтопатогени:

	црвен комплекс <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Tannerella forsythia</i> , <i>Treponema denticola</i>	Aggregatibacter actinomycetemcomitans	портокалов комплекс <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i>
патогеност	висока	висока	умерено висока
Amoxicillin	-	+	-
Clindamycin	+	-	+
Doxycycline	+	+	+
Azithromycin	-	+	-
Ciprofloxacin	-	+	+
Metronidazole	+	-	+

Раното откривање на пародонтопатијата е од непроценлива важноста за понатамошната терапија и за контролата на прогресијата на пародонталната болест. Длабочината на пародонталните џебови не е добар прогностички знак за прогресијата на болеста, бидејќи оваа мерка повеќе укажува на патогенетските случувања во изминатиот период.

Во студијата на **Socransky (38)** микроорганизмите откриени во субгингивалните биофилмови се класифицирани во микробни комплекси и се укажува дека црвениот микробен комплекс се состои од: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*. Овие три бактерии од црвениот комплекс имаат сподобност да вршат хидролиза на трипсинскиот супстрат на **N benzyl-DL-arginase- 2-naphthalamide (BANA)**.

Целта на студијата на **José Alexandre (39)** била да се оцени способноста на BANA тестот за откривање на различни нивоа на *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* и *Tannerella forsythia*, или нивни комбинации, во субгингивалните плак примероци кај пациенти по поставување на дијагноза на пародонтална болест и по различни временски периоди од спроведена пародонтална терапија. Селектирани се пародонтални џебови со длабочини помеѓу 5-7 мм и ниво на клиничко губење на припојот помеѓу 5-10 мм, кај 53 пациенти со хронична пародонтопатија.

По отстранување на супрагингивалниот плак, субгингивални примероци биле земен од дното на шест интерпроксимални пародонтални џебови. Овие претходно

избрани места биле не контаминирани. Примерокот бил поделен во два дела, едниот определен за BANA тестот а другиот за ДНК-ДНК хибридизацијата.

Од селектираните места беа земени примероци во четири периоди: почетна дијагноза (T₀), веднаш по иницијалната терапија (T₁), 45 дена по третманот (T₂) и 60 дена (T₃) по обработката на коренската површина.

Најдобри резултати биле забележани при поставување на првичната дијагноза. Сензитивноста на BANA тест била: 95,54% во периодот (T₀), 65,18% во периодот (T₁), 65,22% во периодот (T₂) и 50,26% во периодот (T₃). Специфичноста пак на тестот била: 12,24% во периодот (T₀), 57,38% во периодот (T₁), 46,27% во периодот (T₂) и 53,48% во периодот во периодот (T₃). BANA тестот е по ефективен за детекција на патогените на црвениот комплекс кога бактериските нивоа се високи, т.е. во иницијалната дијагноза на хроничната пародонтопатија.

Резултатите од BANA тестот, како што е опишано од страна на Loesche и сораб. (40) се презентираат како: резултат 0 - негативен резултат (без сина боја); резултат 1 - слаб позитивен резултат (слабо сина боја) и резултат 2 - силен позитивен резултат (дефинитивна сина боја). Слабата ензимска реакција (резултат 1) соодветствува на околу 10⁴-10⁵ колонизирачко формирачки единици и силна ензимска реакција (резултат 2) соодветствува на околу 10⁶ или над 10⁶ колонизирачко формирачки единици.

Во секој примерок беа утврдени три бактериски видови, со користење на Checkerboard ДНК-ДНК хибридизациона техника како што е претходно опишано од Matarazzo и сораб (41).

Распределбата на резултатите покажала поврзаност на *P. gingivalis* во сите експериментални периоди, за *T. denticola* во T₁ и T₂; и за *T. forsythia* во T₁, T₂ и T₃.

Значајна поврзаност помеѓу BANA тестот и Checkerboard ДНК-ДНК хибридизациона техника е забележана во првичната дијагноза (T₀) за детекција на црвениот комплекс. Ова било особено точно кога резултатите биле сведени на присуството или отсуството на ензимската активност и присуството или отсуството на ДНК од соевите на црвениот комплекс. Осумдесет и шест проценти (257/300) од BANA позитивните примероци ги содржеле сите три жители на црвениот комплекс и 95,3% (286/300) содржеле еден или два од трите чинители на црвениот комплекс.

Кога значајна корелација помеѓу BANA активноста и присуството на видовите од црвениот комплекс, со користење на PCR методот и комерцијално добиените

примероци ДНК примероци, беа користени како примарна референца BANA тестот покажа сензитивност од 90% и точност од 83%. Takaishi и сораб. (42) утврдил дека BANA активноста во субгингивалните плак примероци е поврзана со жителите од црвениот комплекс, бидејќи во развојот на BANA тестот, *P. gingivalis*, *T. Denticola* и *T. Forsythia* биле единствените видови надвор од над 50 тестирани орални микроорганизми, кои секогаш биле BANA позитивни. Сепак веројатно е дека постојат и други BANA позитивни видови во усната шуплина. Една неодамнешна анализа на орални микробиолошки рибозомални секвенции најде нови бактериски видови веројатно поврзана со хронична пародонтопатија чиј ензимски профил се уште не е утврден.

Takaishi и сораб. (42) ги испитувале Benzoyl-DL arginine-naphthylamide (BANA) тестот и полимеримемеразната ланчана реакција (PCR polymerase chain reaction) на патогените бактерии кај 15 пациенти со пародонтална болест. Бројот на *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* и *Treponema denticola*, кои се најмоќни забрзувачи на ресорпцијата на алвеоларната коска, биле утврдени. Губитокот на припојот и BANA тестот покажале значителни блиски корелации со бројот на патогени бактерии, како и со мобилноста на забот и длабочината на џебот. Авторите заклучиле дека BANA тестот и PCR мерењето на бактериите се корисни методи за откривање на патогени бактерии кои го забрзуваат алвеоларното уништување на ткивото.

Кога пародонталната болест почнала да се смета за бактериска инфекција предизвикана главно од субгингивалниот плак, основен проблем со кои се соочувале пародонтолозите била идентификацијата и / или квантификацијата на пародонтопатогените бактерии. Сепак, клиничките методи продолжиле да бидат од голема вредност за дијагноза на пародонталната болест. Grisi и сораб (43) утврдиле значајна корелација помеѓу индекс кој широко се користи во клиничката пракса, гингивалниот индекс на Loe (1967), врз основа на присуството или отсуството на крварењето при сондирање и методологијата на тестот BANA за откривање на специфична ензиматска активност на микроорганизмите кои се вклучени во пародонталната болест. Повеќе чувствителни и специфични клинички параметри, заедно со други микробиолошки методи, се корисни во секојдневната клиничка пракса, дури и пред третманот на пародонтопатијата.

Ензиматскиот BANA тест (N-benzoyl-DL-arginine-naphthylamide) бил користен да се анализира субгингивалната микрофлора кај 28 пациенти на возраст од 26 до 55 години со дијагноза напредната пародонтопатија (44). Примероците биле собрани со пародонтална кирета од 513 места, со среден број на места 18,3 +/- 8,8 по пациент. Резултатите од BANA тестот биле во корелација со почетното мерење на длабочината

на џебот. Податоците покажале статистички значајна корелација помеѓу зголемувањето на длабочината на сондирањето и позитивните резултати од BANA тестот. BANA тестот бил позитивен дури и кај пародонтални џебови со длабочина на сондирање <3 mm. Негативни (BANA 1) и слабо позитивни (BANA 2) BANA тестови биле во обратна корелација со зголемувањето на длабочината на џебот, и позитивни (BANA 3) BANA тестови биле во директна корелација со зголемување на длабочината на џебот. Врз основа на резултатите, Grisi и сораб. (44) го сметаат дека BANA тестот има практична применливост во пародонталната клиничка пракса и претставува значајна помошна дијагностичка алатка за пациенти со напредната пародонтопатија.

Целта на студијата на Wetzel и сораб. (45) била да се оцени дијагностичката вредност на BANA тестот со користење на Perio scan комплетот за да се идентификуваат субгингивалните пародонтопатогени (*P. gingivalis*, *T. denticola* и *B. forsythus*) и да се утврди дали BANA реакцијата рефлектира на присуството или отсуството на клинички знаци на пародонтопатија. 10 пациенти со третирана пародонтопатија, 10 здрави испитаници и 10 испитаници кои биле во фаза на одржување на постигнатите резултати, учествувале во студијата. Бил земен субгингивален плак и присуството или отсуството на гореспоменатите бактерии било оценето со BANA реагенс картичките (Perio Scan). Покрај тоа, сите примероци биле анализирани за присуство или отсуство на *P. gingivalis* и / или *T. denticola* со користење на ELISA. BANA тестот бил високо специфичен (86,7%) и високо сензитивен (77,0%) за присуство на пародонтопатогени во споредба со ELISA резултатите како референтен параметар. Дијагностичките карактеристики на резултатите од BANA тестот во однос на клиничките параметри имале висок степен на точност за севкупната клиничка проценка и за длабочината на сондирање (PD 5 mm), но во помал степен, за крварење при сондирање.

Капарарthy и сораб. (46) ја испитувале ефикасноста од антимицробниот третман (антибиотици) на пародонталната болест со помош на BANA тестот кај 30 пациенти, поделени во три групи: првата група ја сочинувале пациенти третирани само коренска обработка и чистење, втората група ја сочинувале пациенти кои освен класичниот третман системски примале и антибиотик Amoxicillin, и третата група ја сочинувале пациенти кои освен класичниот третман системски примале и антибиотик Azithromycin. Авторите заклучиле дека BANA тестот не само што служи како маркер за активноста на пародонталната болест, туку тој е погоден и за детекција на спирохети во субгингивалниот плак.

Во истражувањето на Miguel и сораб. (47) биле вклучени 62 пациенти (испитувана група) со пародонтални џебови подлабоки од 3mm и десет контролни

испитаници кои имале пародонтални џебови, чија длабочина не надминувала 2мм. Кај секој пациент од испитуваната и од контролната група биле направени направени по 2 BANA тестирања. Од 124 проби кај испитуваната група, само 18 биле негативни, додека пак сите 20 проби кај контролната група биле негативни. Овој податок бил важен за авторите да заклучат дека BANA тестот треба да се користи како дополнителна дијагностичка постапка и за рано откривање на пародонталната болест.

ЦЕЛ НА ТРУДОТ

Да се утврди можноста за докажување на пародонталните микробни комплекси со помош на BANA-тестот и да се утврди корелацијата помеѓу клиничките показатели на хроничната пародонтална болест и резултатите од тестот.

Специфични цели:

- Да се утврди способноста на тестот за докажување на пародонталните микробни комплекси, кај пациенти со различна длабочина на пародонтален џеб;
- Да се утврди корелацијата помеѓу длабочината на пародонталните џебови и резултатите од BANA-тестот;
- Да се утврди корелацијата помеѓу гингивалната инфламација и резултатите од BANA-тестот;
- Да се утврди корелацијата помеѓу степенот на гингиворагија и резултатите од BANA-тестот;
- Да се утврди корелацијата помеѓу количеството на дентален плак и резултатите од BANA-тестот;
- Да се спореди присуството на пародонталните микробни комплекси пред третман на пародонталните џебови, по испирање на џебот со хлорхексидин 0,2% и по ултразвучно инструмирање на пародонталниот џеб.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ НА РАБОТА

МАТЕРИЈАЛ НА РАБОТА

Во студијата беа вклучени 40 пациенти со хронична пародонтопатија, кои се јавуваа на Клиниката за болести на устата и пародонотот на ЈЗУ Стоматолошки Клинички Центар „Св. Пантелејмон“ во Скопје.

Критериуми за вклучување во студијата:

- Да се постари од 30 години
- Да имаат поставена дијагноза хронична пародонтопатија
- Да имаат најмалку во еден секстант од забалото, присутен пародонтален џеб со длабочина 4мм или повеќе од 4 мм
- Да имаат најмалку 20 присутни заби во устата

Критериуми за исклучување од студијата:

- иницијална пародонтална афекција
- земање на антибиотска терапија во последните три месеци
- системски заболувања и компликации
- бременост

За определување на микробните комплекси беше користен BANA процесор (BANA-Zyme™) со оригинални тест стрипови, физиолошки раствор и микробиолошки брис од дното на пародонталниот џеб. Беа користени градуирана пародонтална сонда и Gracy-ева кирета за земање на брисот.

МЕТОДОЛОГИЈА НА РАБОТА

Од сите пациенти кои беа вклучени во испитувањето, се бараше согласност и им беше објаснето зошто се спроведува испитувањето. Врз основа на темелна анамнеза, клинички пародонтолошки преглед и панорамска ренгенска снимка беше поставувана дијагнозата и беше определен стадиумот на напреднатост на пародонталната болест.

По донесување на одлука од кој пародонтален џеб (кој заб и од која локализација) ќе биде земен брисот, кај сите пациенти на селектираните места за земање на брис, беа определени следните параметри:

1. ДПЦ-длабочина на пародонтален џеб, како растојание од работ на гингивата до дното на пародонталниот џеб, мерено со градуирана пародонтална сонда;

2. КГП-клиничко губење на припојот, како растојание од емајл-цементното споиште до дното на пародонталниот џеб мерено со градуирана пародонтална сонда;
3. Индекс на дентален плак по Silness и Loe (48)

Кај овој индекс како параметер земена е дебелината на денталниот плак по должината на гингивалниот раб, кој е поврзан со инфламацијата.

0-нема дентален плак

1-многу мала количина на плак,видлив само при внимателно сондирање

2-умерена количина на плак по должината на гингивалниот раб,видлив со голо око,интерденталните простори се слободни

3-голема количина на плак по должината на гингивалниот раб,со плак исполнети интердентални простори;

4. Гингивален индекс по Loe и Silness (49)

Гингивалниот индекс дава податоци за степенот на инфламација на гингивата:

0-нормална гингива, без инфламација, без промена на боја, без крварење

на бојата и површината на гингивата,не се јавува крварење при сондирање

2-умерена инфламација, црвенило и оток на гингивата,крварење при сондирање

3-силна инфламација, силно црвенило и оток на гингивата,постои склоност кон спонтано крварење;

5. Mühlemann-Son-ов-индекс на крварење од сулкусот (SBI-Sulcus Bleeding Index) (50)

Со овој индекс се контролира активноста на инфламаторниот процес кој се одвива во гингивата и пародонциумот. Заклучокот се донесува врз основа на провоцирано крварење. Тестирањето се изведува со сондирање на пародонталниот џеб со тапа пародонтална сонда а бодирањето се вршеше на следниов начин:

0-нема крварење после сондирање на пародонталниот џеб, гингивата е со нормална боја и облик

1-крварење после сондирање а гингивата е со непроменета боја и облик

2- крварење после сондирање а гингивата, присутно воспаление со промена на бојата на гингивата а обликот не е променет

3- крварење после сондирање, гингивата е со променета боја и благ едем

4- крварење после сондирање, гингивата е со променета боја и изразен едем

5-крварење на најмал допир и спонтано крварење од џебот, гингивата е со променета боја, многу изразен едем а можни се и улцерации на гингивата

По спроведените мерења и определување на индексните вредности беше испирана устата на пациентот со физиолошки раствор, регијата во која се наоѓа џебот од кој ќе се зема брис, беше изолирана со ветеролни. Со соодветна грејсиева кирета се навлегуваше во најдлабокиот дел од пародонталниот џеб и се загребуваше по дното и коренскиот дел од џебот за да се земе доволно количество на материјал за испитување на микробните комплекси.

Кај секој испитаник, земањето на брис од пародонталниот џеб беше направено во три временски интервали, и тоа:

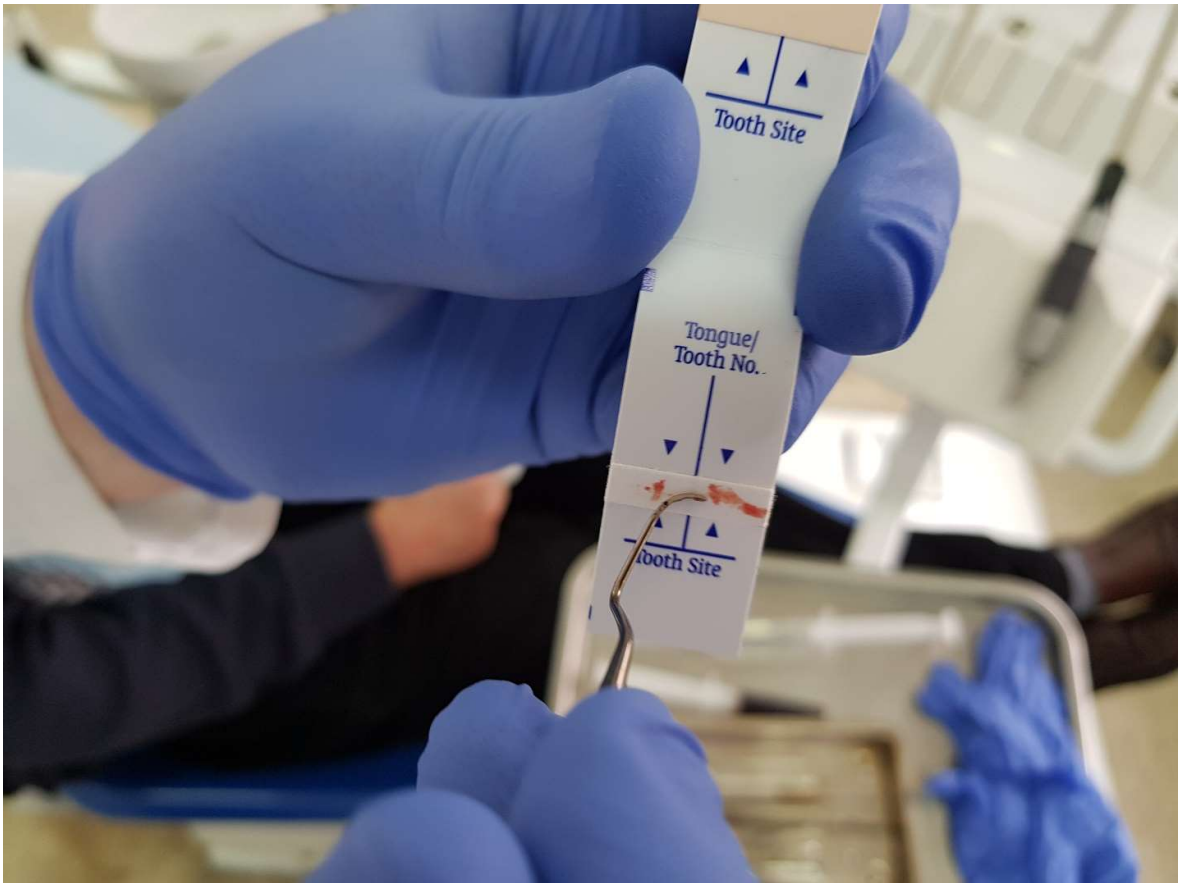
- T1-прв пат, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности,
- T2-втор пат, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуконоот,
- T3-трет пат, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб.

Изведување на BANA тестот:

BANA стрипот е пластична лента превиеена на два дела каде во долниот дел се аплицираат примероците земени од пародонталниот џеб. Во тој дел стрипот е и импрегниран со реагенс N-benzoylDL-arginine-B-naphthylamide (BANA). Во горниот дел, е содржан хромогеничен диазо реагенс кој реагира со еден од хидролитичните продукти на ензимската реакција формирајќи сина боја.

Тестот се изведуваше на следниот начин:

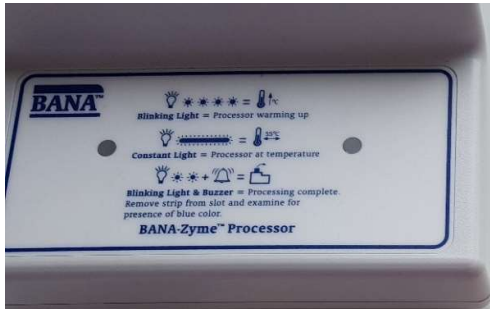









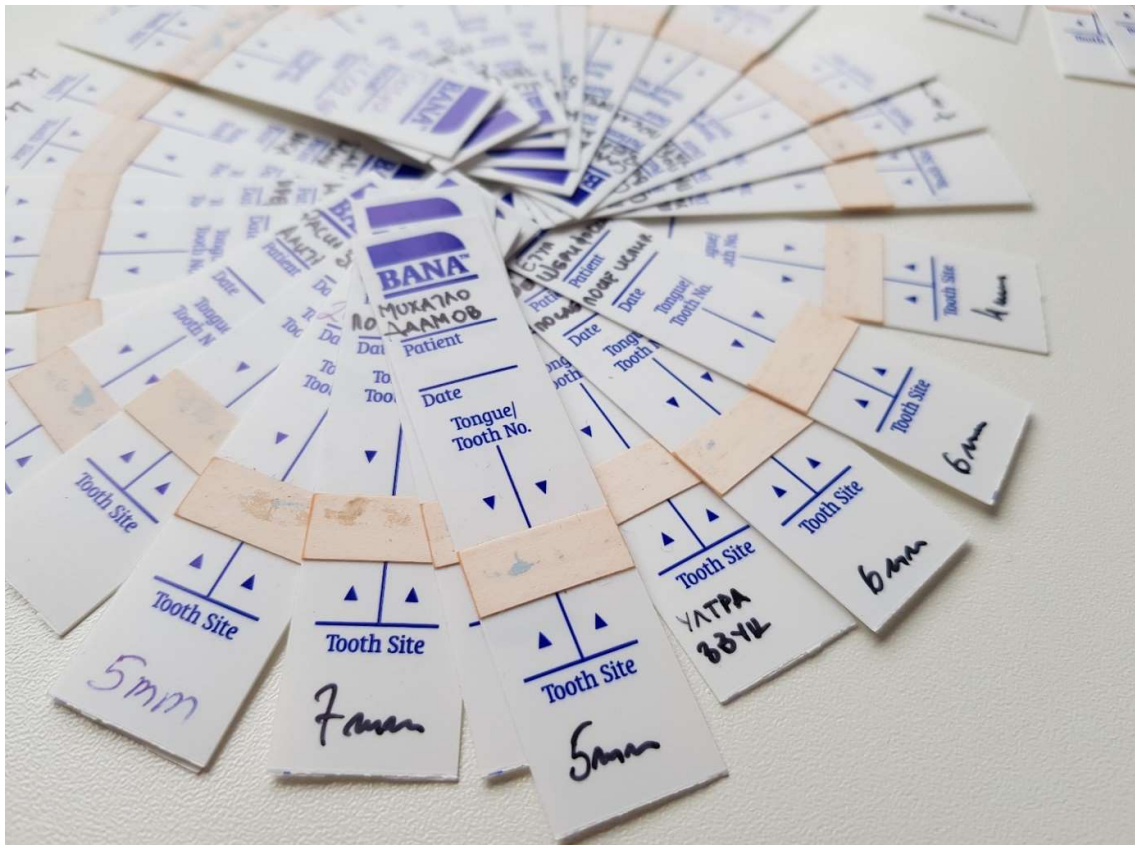


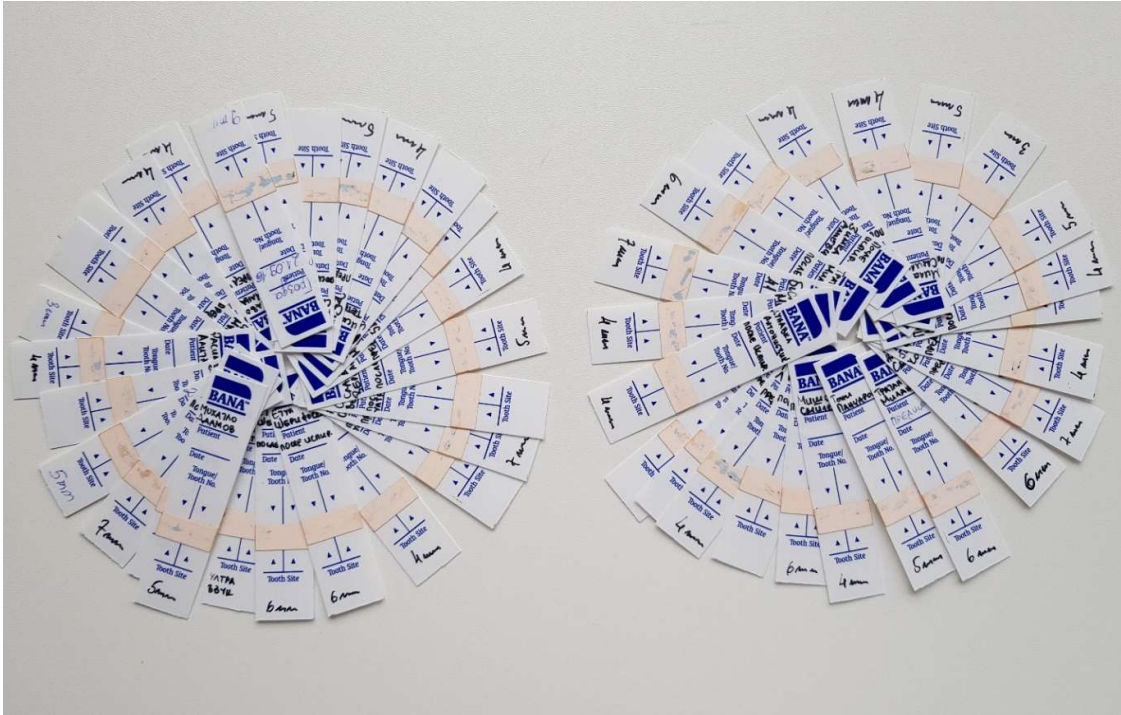




BANA-Zyme™ Test Interpretation

	NEGATIVE	WEAK POSITIVE	POSITIVE
TEST RESULT (Top Pad)			
DESCRIPTION	Colorless (Salmon background)	Pale Blue pinpoints or diffuse patches	Darker Blue pinpoints or diffuse patches
SIGNIFICANCE	<u>Minimum Risk</u> Pathogens absent or below detection threshold	<u>Elevated Risk</u> Detectable pathogens Treatment recommended	<u>High Risk</u> Numerous pathogens Treatment recommended
NUMBER OF ORGANISMS	P. gingivalis < 10,000 T. denticola < 10,000 T. forsythia < 10,000	P. gingivalis < 100,000 T. denticola < 100,000 T. forsythia < 100,000	P. gingivalis > 100,000 T. denticola > 100,000 T. forsythia > 100,000
	1	2	3





Се вади една BANA лента (стрип) од кутијата и истата веднаш се затвара, бидејќи стриповите се чувствителни на влага и светлина. Се внесуваат податоците на пациентот во полето предвидено на стрипот. Со Грејсиева кирета земениот примерок од најдлабокиот дел на пародонталниот џеб на пациентот, се аплицира на соодветното предвидено место, внимавајќи на тоа да секој пат кога се земаат примероци од различни џебови, киретата треба да се исчисти добро за да не дојде до пренесување на забниот плак.

Горниот дел од стрипот со памучен стап се натопува исклучиво со дестилирана вода. Стрипот на превиеното место се свиткува така што двете места каде што се аплицирани примероците и делот натопен со дестилирана вода се совпаѓаат, се допираат еден со друг, и така во претходно вклучениот BANA процесор свитканиот стрип се става во едно од двете предвидени места на процесорот, според упатствата на производителот. Така поставениот стрип се инкубира 5 минути додека процесорот ја постигне температурата од 55 целзиусови степени, по што самиот процесор дава светлосен и звучен сигнал дека процедурата е завршена и дека резултатите може да се толкуваат.

Ако BANA позитивните соеви се присутни кога резултатите се толкуваат, сина боја се појавува на горниот дел од стрипот. Колку поголема е концентрацијата на бактериските соеви, толку е потемно синото обојувањето на стрипот. Согласно резултатите тој може да биде позитивен, слабо позитивен и негативен.

Во текот на испитувањето резултатите ќе бидат нумерички изразени, при што:

0- негативен

1- слабо позитивен

2- позитивен

Добиените резултати во испитувањето беа статистички обработени со компјутерските програми Statistica 7.1 for Windows и SPSS 17.0.

РЕЗУЛТАТИ

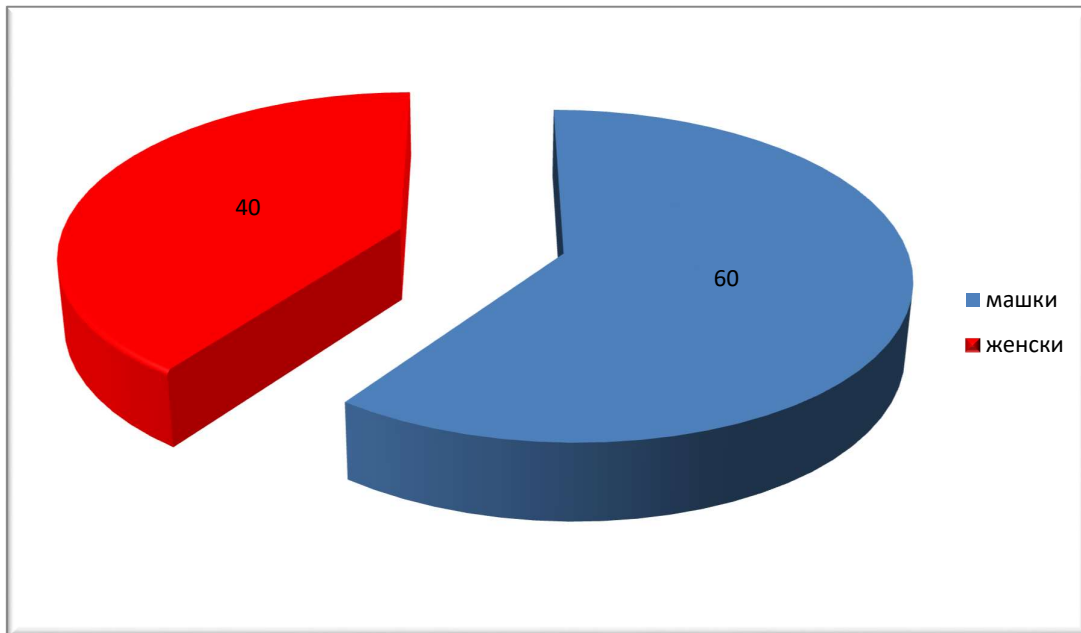
Во студијата земаат учество 40 пациенти со дијагноза хронична пародонтопатија од нив 60.0% се од машкиот пол, а 40.0% се од женскиот пол(таб и граф 1). Процентуалната разлика помеѓу половите е статистички не сигнификантна, станува збор за хомогена група во однос на полот(Difference test, $p=0.0736$).

Просечната возраст на пациентите изнесува 52.35 ± 7.4 г., минимум 35г. и максимум 63г.(таб и граф 2).

Табела бр 1 Приказ на пациентите според полот

пол	број	%
машки	24	60,0
женски	16	40,0
вкупно	40	100.0

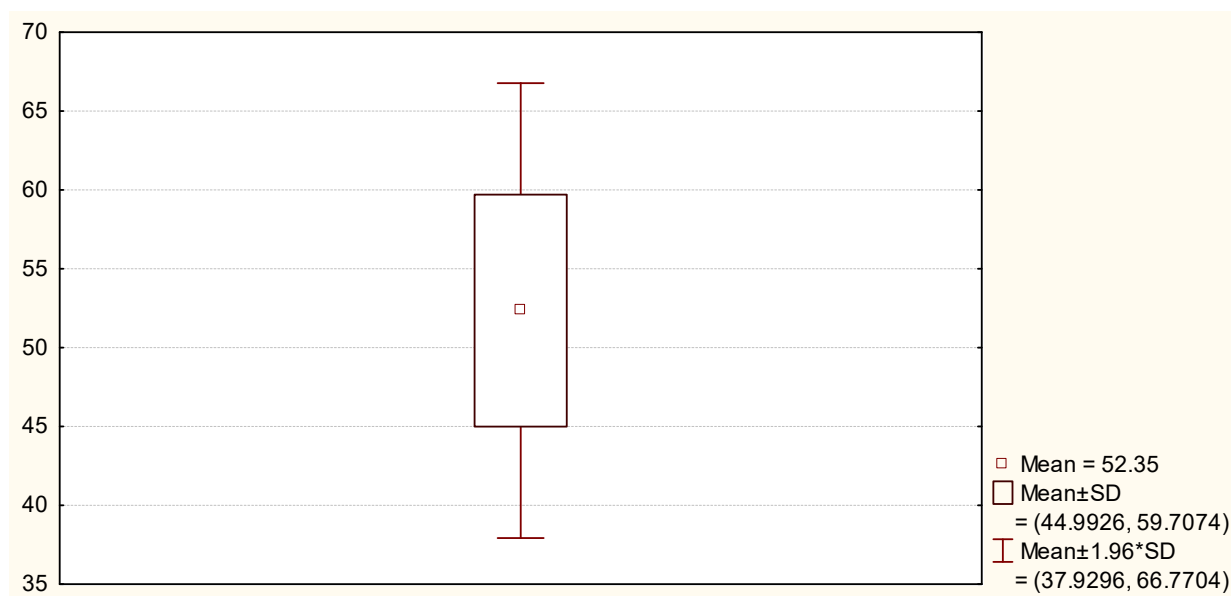
Графикон бр 1 Приказ на пациентите според полот



Табела бр 2 Приказ на просечната возраст на пациентите

број	просек	минимум	максимум	Стд.Дев.
40	52,35	35,0	63,0	7,357362

Графикон бр 2 Приказ на просечната возраст на пациентите

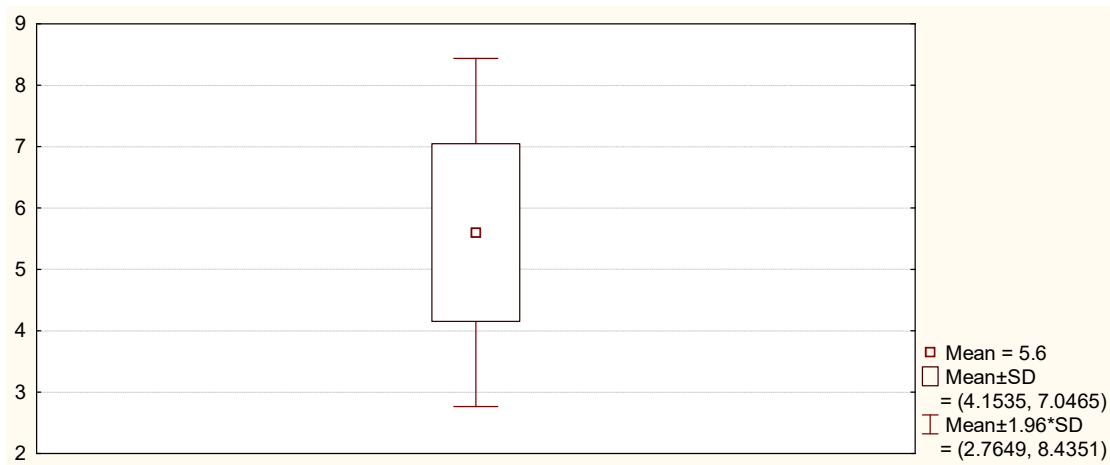


Просечната вредност на длабочина на пародонтален џеб кај пациентите изнесува $5.6 \pm 1.4 \text{ mm}$, минимум 4.0 mm , а максимум 9.0 mm (таб и граф 3).

Табела бр 3 Приказ на просечната вредност на длабочина на пародонтален џеб кај пациентите

број	просек	минимум	максимум	Стд.Дев.
40	5,6	4,0	9,0	1,446481

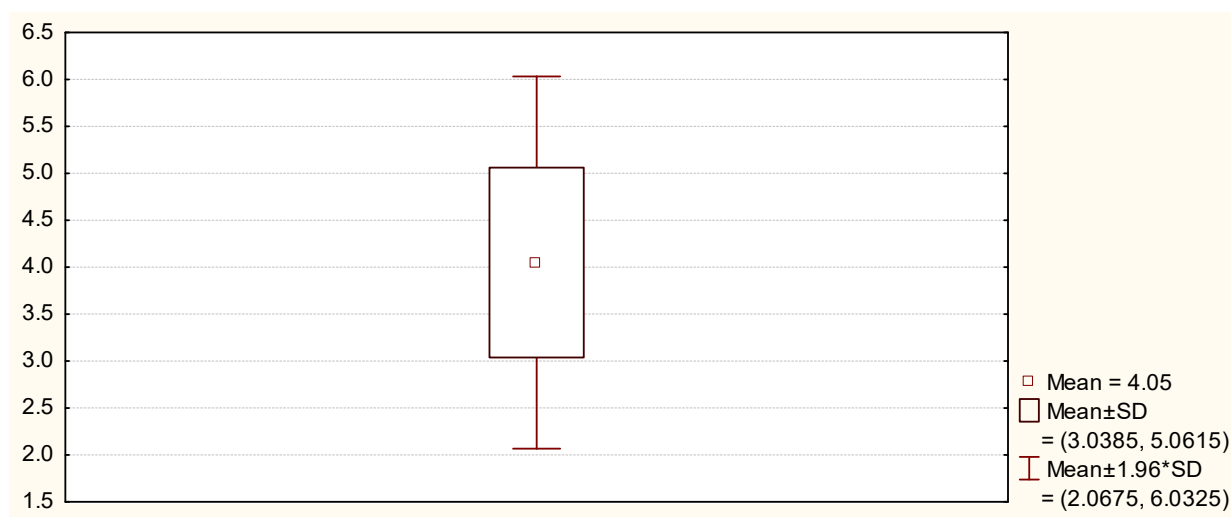
Графикон бр 3 Приказ на просечната вредност на длабочина на пародонтален џеб кај пациентите



Табела бр 4 Приказ на просечната вредност на клиничко губење на припојот кај пациентите

број	просек	минимум	максимум	Стд.Дев.
40	4,05	3,0	7,0	1,011473

Графикон бр 4 Приказ на просечната вредност на клиничко губење на припојот кај пациентите



Просечната вредност на клиничко губење на припојот кај пациентите изнесува $4.05 \pm 1.1 \text{ mm}$, минимум 3.0 mm , а максимум 7.0 mm (таб и граф 4).

Табела бр 5 Приказ на Индекс на дентален плак по Silness и Loe кај пациентите

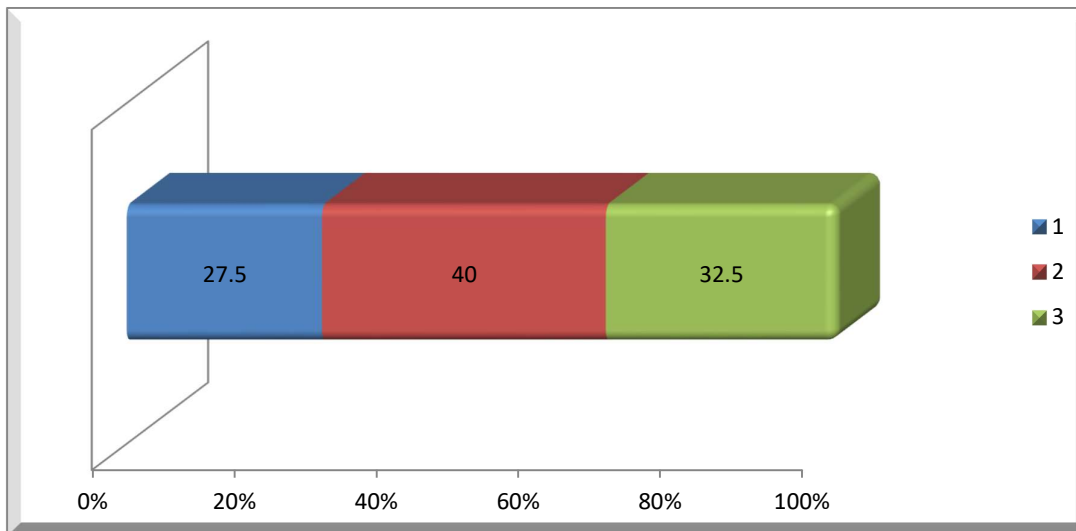
ИДП	број	%
1*	11	27,5
2*	16	40,0
3*	13	32,5
вкупно	40	100.0

*1-многу мала количина на плак,видлив само при внимателно сондирање

*2-умерена количина на плак по должината на гингивалниот раб,видлив со голо око,интерденталните простори се слободни

*3-голема количина на плак по должината на гингивалниот раб,со плак исполнети интердентални простори

Графикон бр 5 Приказ на Индекс на дентален плак по Silness и Loe кај пациентите



Многу мала количина на плак, видлив само при внимателно сондирање се регистрира кај 27.5% од пациентите со дијагноза хронична пародонтопатија; умерена количина на плак по должината на гингивалниот раб,видлив со голо око,интерденталните простори се слободни се регистрира кај 40.0%; и голема количина на плак по должината на гингивалниот раб, со плак исполнети интердентални простори се регистрира кај 32.5%(таб и граф5).

Процентуалната разлика помеѓу застапеноста на модалитетите на Индекс на дентален плак по Silness и Loe е статистички не сигнификантна (Difference test, $p > 0.05$)

Слаба инфламација, лесна промена на бојата, лесен оток на гингивата, не се јавува крварење при сондирање се регистрира кај 27.5% од пациентите со дијагноза хронична пародонтопатија; умерена инфламација, црвенило и оток на гингивата, крварење при сондирање се регистрира кај 35.0%; и силна инфламација, силно црвенило и оток на

гингивата, постои склоност кон спонтано крварење се регистрира кај 37.5%(таб и граф 6).

Процентуалната разлика помеѓу застапеноста на модалитетите на Гингивален индекс по Loe и Silness е статистички не сигнификантна (Difference test, $p > 0.05$)

Табела бр 6 Приказ на Гингивален индекс по Loe и Silness кај пациентите

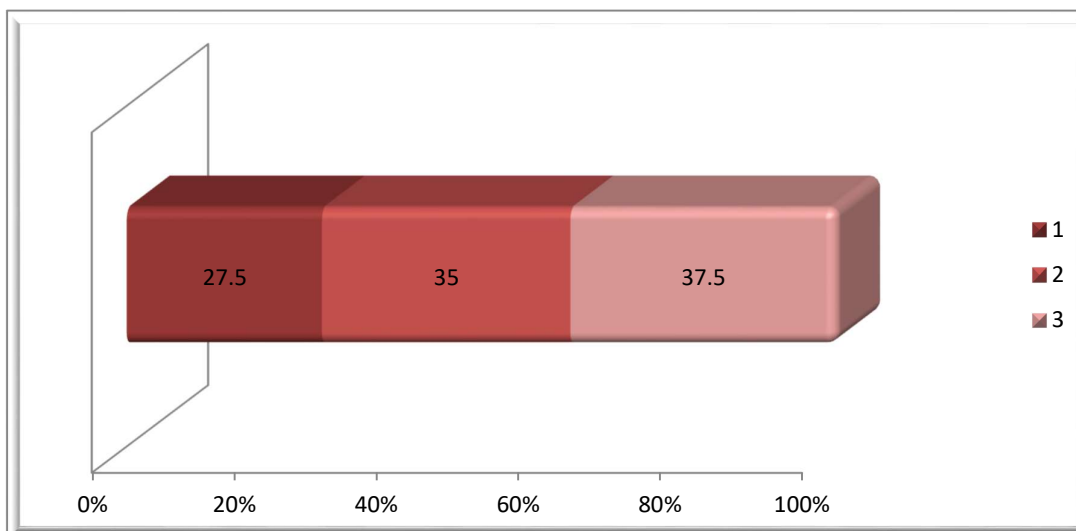
ИГИ	број	%
1*	11	27,5
2*	14	35,0
3*	15	37,5
вкупно	40	100.0

*1-слаба инфламација,лесна промена на бојата,лесен оток на гингивата,не се јавува крварење при сондирање

*2-умерена инфламација, црвенило и оток на гингивата,крварење при сондирање

*3-силна инфламација, силно црвенило и оток на гингивата,постои склоност кон спонтано крварење;

Графикон бр 6 Приказ на Гингивален индекс по Loe и Silness кај пациентите

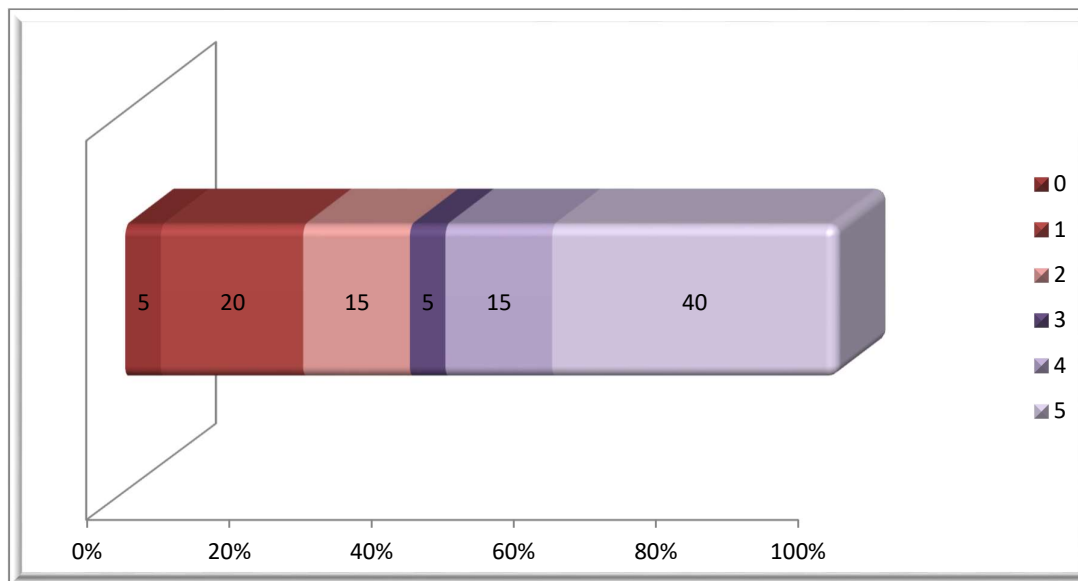


Табела бр 7 Приказ на Mulemann-Son-ов-индекс на крварење од сулкусот (SBI-Sulcus Bleeding Index)(ИГК) кај пациентите

ИГК	број	%
0*	2	5,0
1*	8	20,0
2*	6	15,0
3*	2	5,0
4*	6	15,0
5*	16	40,0
вкупно	40	100.0

- *0-нема крварење после сондирање на пародонталниот џеб, гингивата е со нормална боја облик
- *1-крварење после сондирање а гингивата е со непроменета боја и облик
- *2- крварење после сондирање а гингивата, присутно воспаление со промена на бојата на гингивата а обликот не е променет
- *3- крварење после сондирање, гингивата е со променета боја и благ едем
- *4- крварење после сондирање, гингивата е со променета боја и изразен едем
- *5-крварење на најмал допир и спонтано крварење од џебот, гингивата е со променета боја, многу изразен едем а можни се и улцерации на гингивата

Графикон бр 7 Приказ на Mulemann-Son-ов-индекс на крварење од сулкусот (SBI-Sulcus Bleeding Index)(ИГК) кај пациентите



Нема крварење после сондирање на пародонталниот џеб, гингивата е со нормална боја облик се регистрира кај 27.5% од пациентите со дијагноза хронична пародонтопатија; крварење после сондирање а гингивата е со непроменета боја и облик се регистрира кај 20.0%; крварење после сондирање а гингивата, присутно воспаление со промена на бојата на гингивата а обликот не е променет се регистрира кај 15.0%; крварење после сондирање, гингивата е со променета боја и благ едем се регистрира кај 5.0%; крварење

после сондирање, гингивата е со променета боја и изразен едем се регистрира кај 15.0%; и во најголем процент од 40.0% се регистрира крварење на најмал допир и спонтано крварење од џебот, гингивата е со променета боја, многу изразен едем а можни се и улцерации на гингивата (таб и граф 7).

Процентуалната разлика помеѓу застапеноста на модалитетите на Mulemann-Son-ов-индекс на крварење од сулкусот помеѓу регистрацијата на крварење на најмал допир и спонтано крварење од џебот, гингивата е со променета боја, многу изразен едем а можни се и улцерации на гингивата верзус останатите четири модалитети е статистички сигнификантна (Difference test, $p < 0.05$)

Табела бр 8 Приказ на BANA тестот во три временски интервали

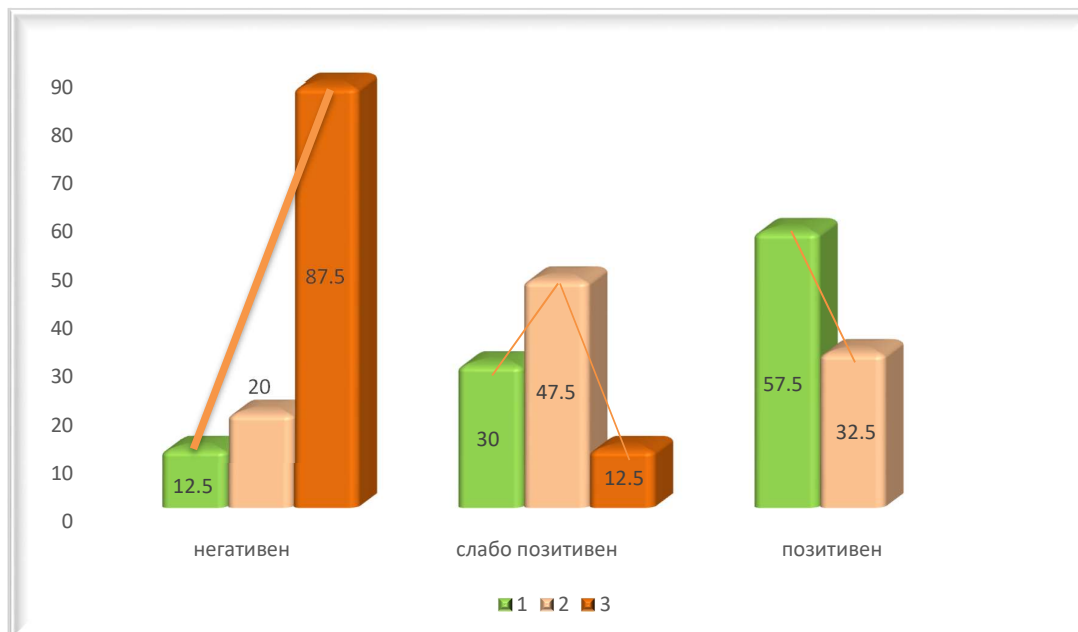
BANA/време	T1		T2		T3	
	број	%	број	%	број	%
негативен	5	12,5	8	20,0	35	87,5
слабо позитивен	12	30,0	19	47,5	5	12,5
позитивен	23	57,5	13	32,5		
вкупно	40	100.0	40	100.0	40	100.0

T1* веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности

T2* после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуконоот

T3* после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб

Графикон бр 8 Приказ на BANA тестот во три временски интервали



Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, BANA тестот кај 12,5% е *негативен*.

Во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглукононот, BANA тестот кај 20.0% е *негативен*.

Во T3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, BANA тестот кај 87,5% е *негативен*.

Според Индексот на динамика се регистрира темпо на пораст на *негативен* BANA тест помеѓу T1 и T2 време за 60.0%, а помеѓу второто и третото време за 337.5%.

Процентуалната застапеност на *негативен* BANA тест помеѓу T1 и T3(првото верзус третото) време е статистички сигнификантно за $p < 0.05$ (Difference test, $p = 0.0000$).

Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, BANA тестот кај 30.0% е *слабо позитивен*.

Во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглукононот, BANA тестот кај 47.5% е *слабо позитивен*.

Во T3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, BANA тестот кај 12.5% е *слабо позитивен*.

Според Индексот на динамика се регистрира темпо на пораст на *слабо позитивен* BANA тест помеѓу T1 и T2(првото и второто време) за 58.3%, а помеѓу T2 и T3(второто и третото) време се регистрира темпо на опаѓање за 73.7%.

Процентуалната застапеност на *слабо позитивен* BANA тест помеѓу T1 и T2 (првото верзус третото време) е статистички несигнификантна за $p > 0.05$ (Difference test, $p = 0.594$).

Процентуалната застапеност на *слабо позитивен* BANA тест помеѓу T2 и T3(второто верзус третото време) е статистички сигнификантна за $p < 0.05$ (Difference test, $p = 0.0010$).

Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, BANA тестот кај 57.5% е *позитивен*.

Во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглукононот, BANA тестот кај 32.5% е *позитивен*.

Во T3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, не се регистрира *позитивен* BANA тестот.

Според Индексот на динамика се регистрира темпо на опаѓање на *позитивен* BANA тест помеѓу T1 и T2(првото и второто време) за 43.5%.

Процентуалната застапеност на *позитивен* BANA тест помеѓу T1 и T2(првото верзус второто време) е статистички сигнификантно за $p < 0.05$ (Difference test, $p = 0.0274$).

Табела бр 9 Сензитивност на BANA тестот во првите два временски периоди
 А. Т1- веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности

Estimated Value	95% Confidence Interval		
		Lower Limit	Upper Limit
Prevalence	1	0.890876	1
Sensitivity	0.875	0.723966	0.953052
Specificity	NaN	NaN	NaN
For any particular test result, the probability that it will be:			
Positive	0.875	0.723966	0.953052
Negative	0.125	0.046948	0.276034
For any particular positive test result, the probability that it is:			
True Positive	1	0.876847	1
False Positive	0	0	0.123153
For any particular negative test result, the probability that it is:			
True Negative	0	0	0.537055
False Negative	1	0.462945	1
likelihood Ratios: [C] = conventional [W] = weighted by prevalence			
Positive [C]	NaN	NaN	NaN
Negative [C]	NaN	NaN	NaN
Positive [W]	Infinity	NaN	Infinity
Negative [W]	Infinity	NaN	Infinity

Б. Т2-после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуконоТ

Estimated Value	95% Confidence Interval		
		Lower Limit	Upper Limit
Prevalence	1	0.890876	1
Sensitivity	0.8	0.638626	0.903855
Specificity	NaN	NaN	NaN
For any particular test result, the probability that it will be:			
Positive	0.8	0.638626	0.903855
Negative	0.2	0.096145	0.361374
For any particular positive test result, the probability that it is:			

True Positive	1	0.866554	1
False Positive	0	0	0.133446
For any particular negative test result, the probability that it is:			
True Negative	0	0	0.402296
False Negative	1	0.597704	1
likelihood Ratios: [C] = conventional [W] = weighted by prevalence			
Positive [C]	0	0	0.402296
Negative [C]	1	0.597704	1
Positive [W]	0	0	0.402296
Negative [W]	1	0.597704	1

Сензитивноста на BANA тест е 87,5% во периодот веднаш по направените мерења и определување на индексните вредност (T1) (таб 9аб), 80.0% во периодот после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуконот (T2)(таб 9б).

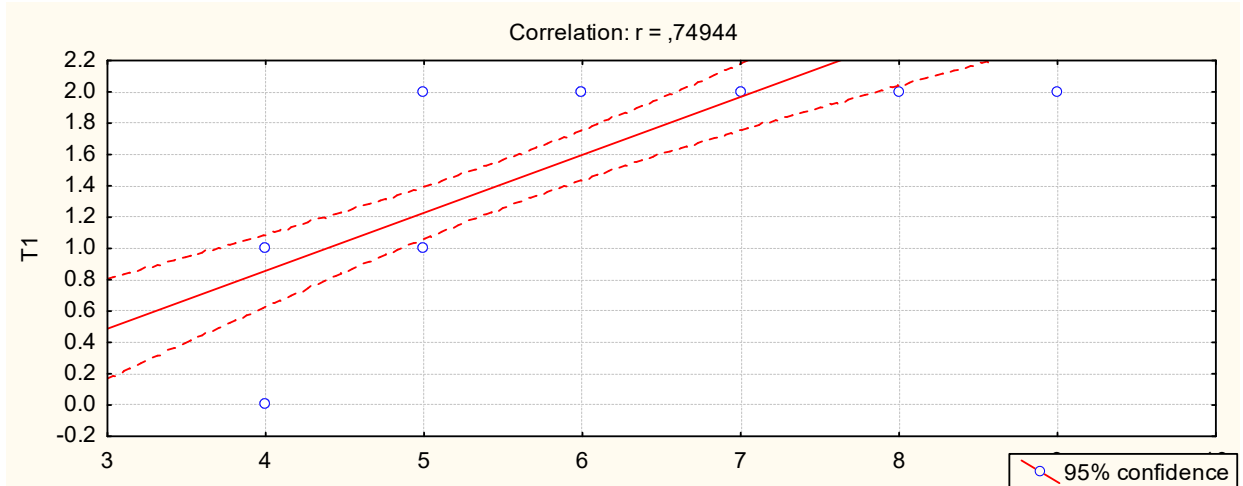
Ако претпоставиме дека има еднаква веројатност, ние би очекувале за секој тест(позитивен-негативен) да е $40/2 = 20$, значи, очекуваната фреквенција за секој одговор би била 20(за еден примерок). Во тој случај специфичноста на тестот би бил 50.0% во периодот веднаш по направените мерења и определување на индексните вредност (T1) и во периодот после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуконот (T2) .

Табела бр 10 Приказ на корелација помеѓу длабочината на пародонталните џебови и резултатите од BANA тест

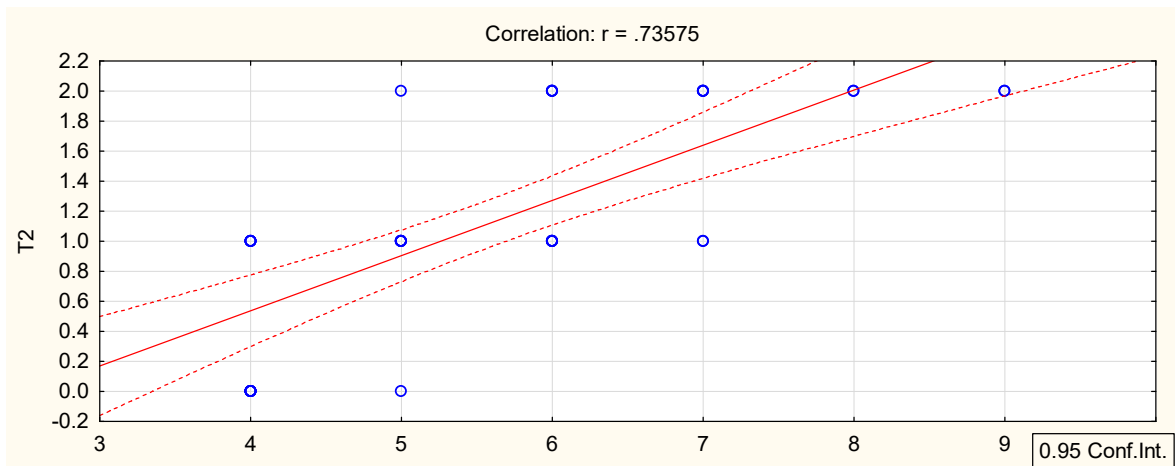
<i>длабочината на пародонталните џебови vs резултатите од BANA тест</i>	T1
	,7494
	p=, 000
	T2
	,7357
	p=, 000
	T3
	.4234
	p=. 006

Графикон бр 10 Приказ на корелација помеѓу длабочината на пародонталните џебови и резултатите од BANA тест

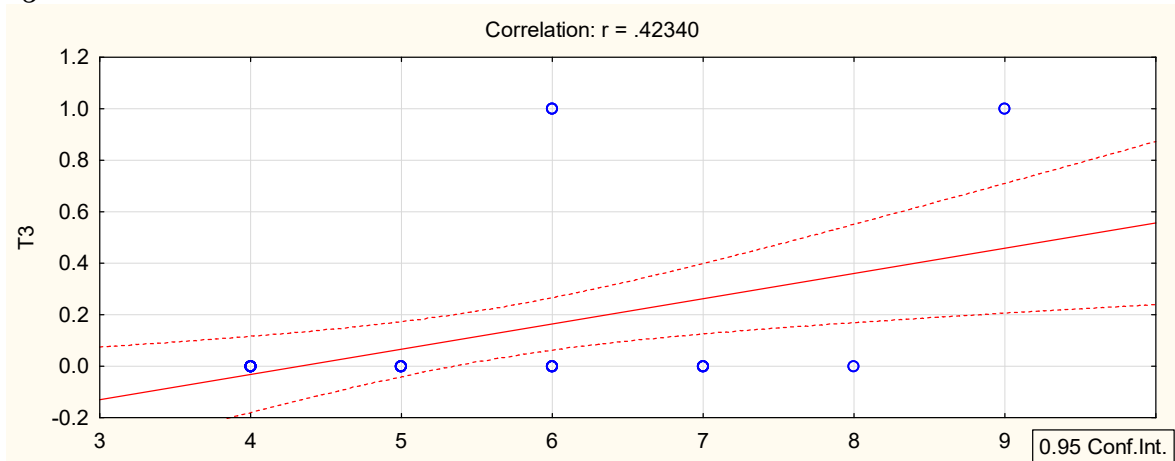
T1



T2



T3



Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, помеѓу длабочината на парадонталните џебови верзус BANA тестот се регистрира јака позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 10).

Во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуконоот, помеѓу длабочината на парадонталните џебови верзус BANA тестот се регистрира јака позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 10).

Во T3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, помеѓу длабочината на парадонталните џебови верзус BANA тестот се регистрира умерена позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 10).

Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, помеѓу клиничкото губење на припојот верзус BANA тестот се регистрира слаба позитивна статистички не сигнификантна корелација за $p > 0.05$ (таб 11).

Во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуконоот, помеѓу клиничкото губење на припојот верзус BANA тестот се регистрира слаба позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 11).

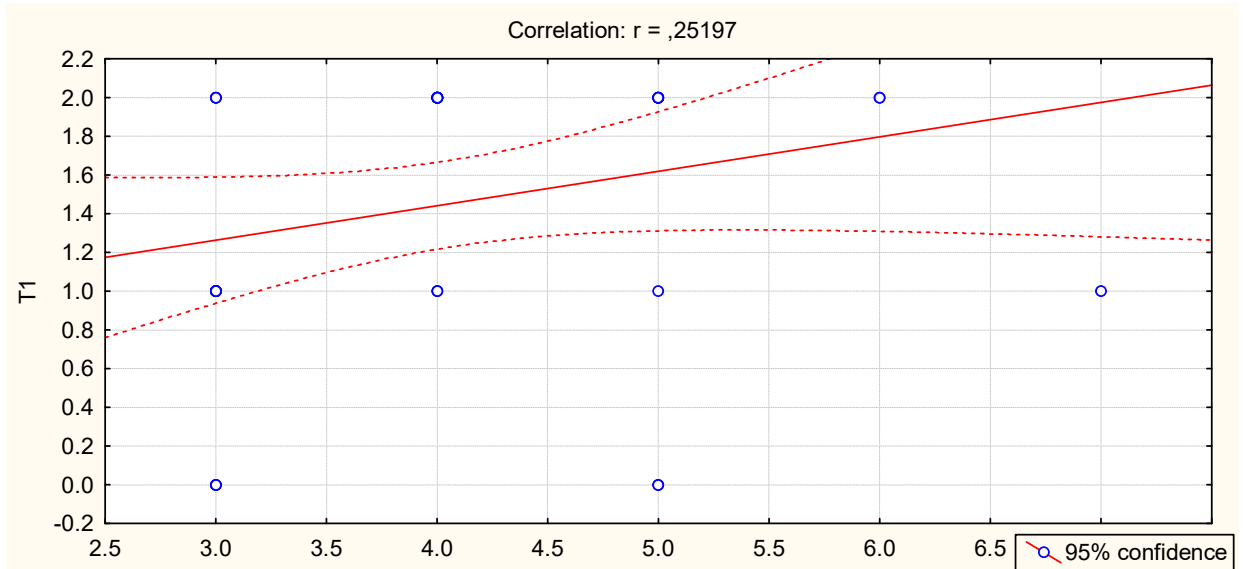
Во T3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, помеѓу клиничкото губење на припојот верзус BANA тестот се регистрира слаба позитивна статистички не сигнификантна корелација за $p > 0.05$ (таб 11).

Табела бр 11 Приказ на корелација помеѓу клиничко губење на припојот и резултатите од BANA тест

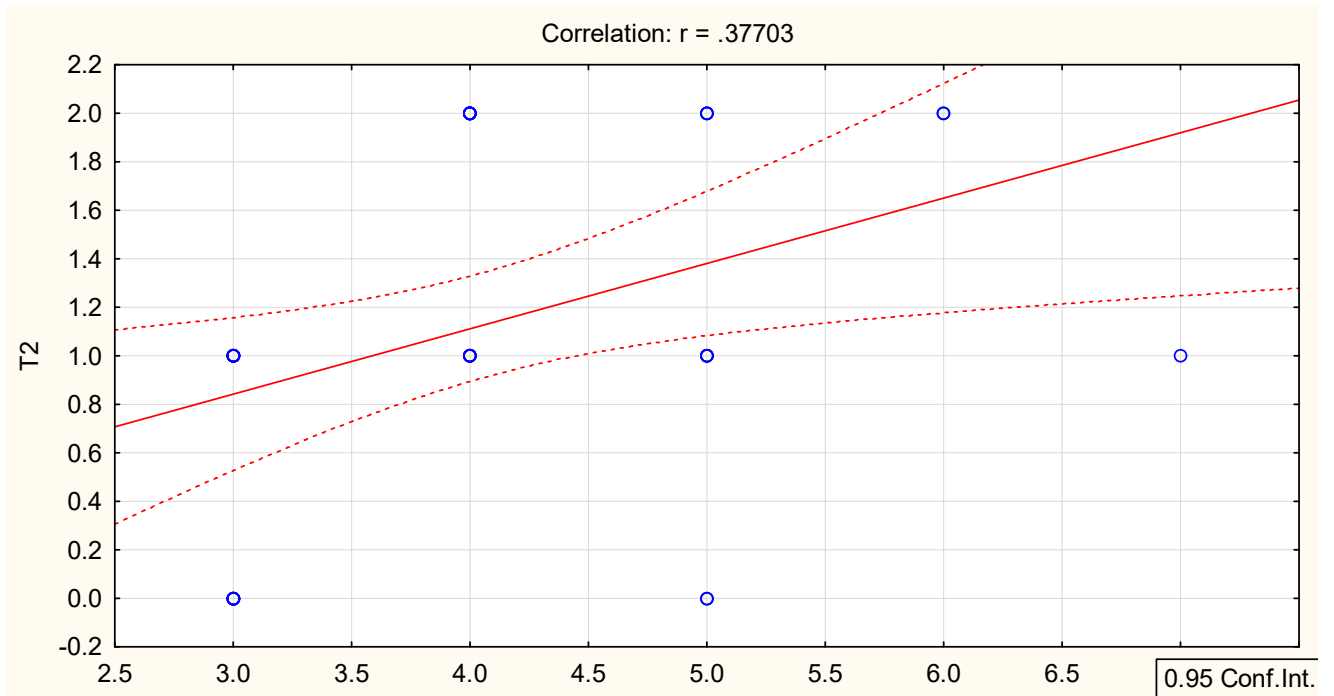
<i>клиничко губење на припојот vs резултатите од BANA тест</i>	T1
	.2520
	p=.117
	T2
	.3770
	p=.016
T3	
.2081	
p=.197	

Графикон бр 11 Приказ на корелација помеѓу клиничко губење на припојот и резултатите од BANA тест

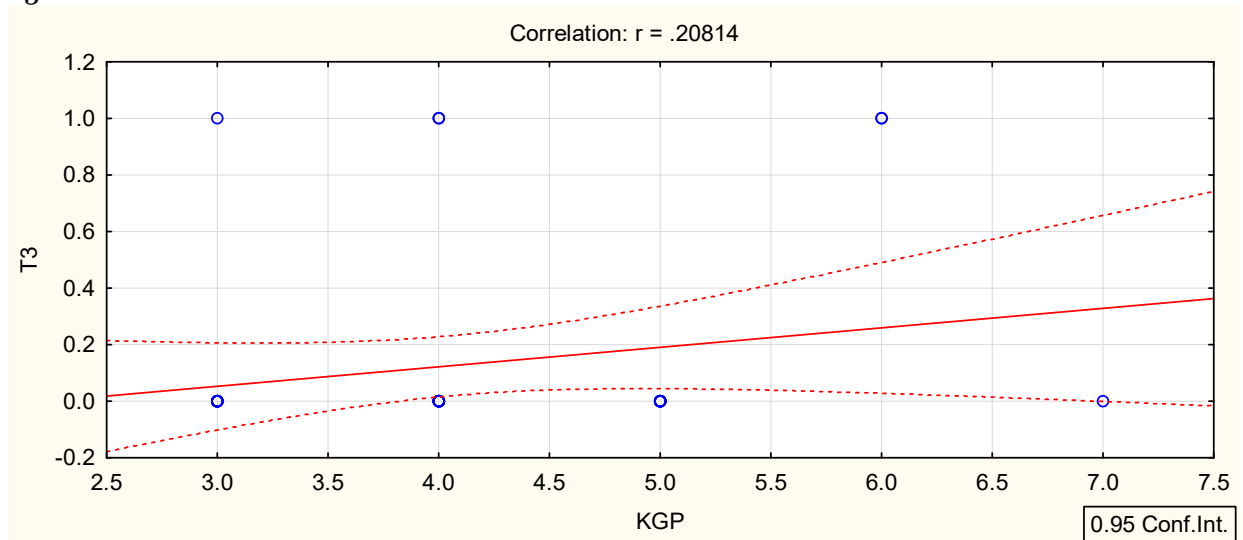
T1



T2



T3

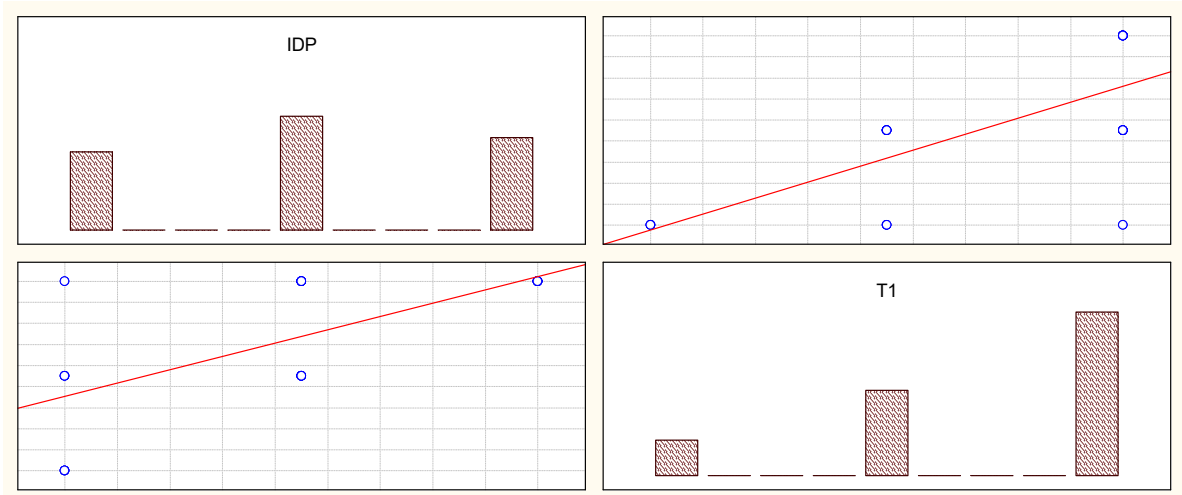


Табела бр 12 Приказ на Spearman Rank Order корелација помеѓу индекс на дентален плак(количество на дентален плак) и резултатите од BANA тест

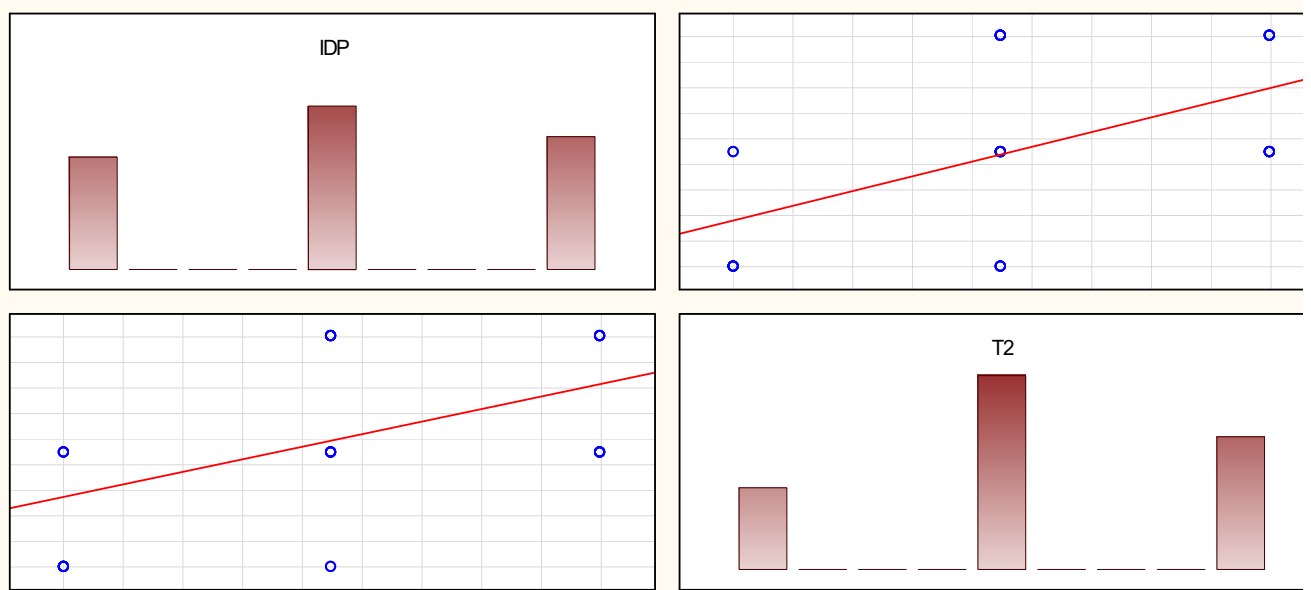
	T1	T2	T3
IDP	0.687242	0.516757	0.369684

Графикон бр 12 Приказ на Spearman Rank Order корелација помеѓу индекс на дентален плак(количество на дентален плак) и резултатите од BANA тест

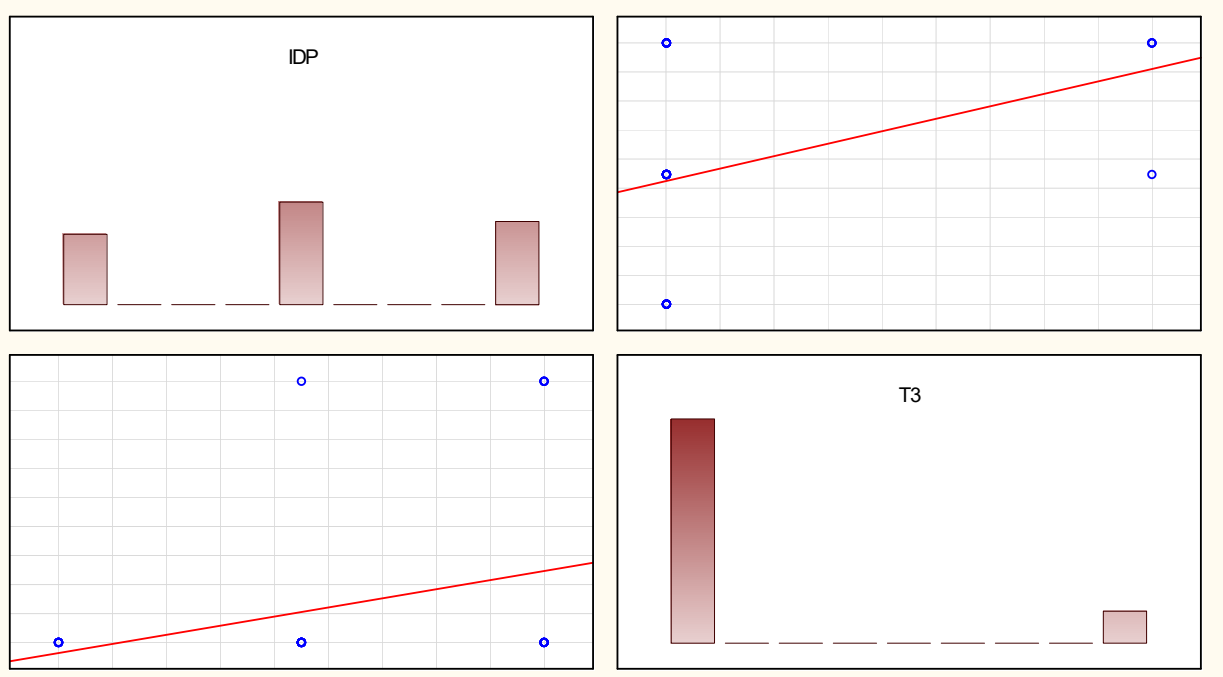
T1



T2.



T3



Во текот на истражувањето се регистрираше статистички сигнификантна поврзаност помеѓу IDP(количество на дентален плак) и BANA тестот во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, за $p < 0.05$ (Pearson Chi-square: 26,5613, $p = ,000024$).

Во текот на истражувањето се регистрираше статистички сигнификантна поврзаност помеѓу IDP(количество на дентален плак) и BANA тестот во T2 време, после длабоко

испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуколот, за $p < 0.05$ (Pearson Chi-square: 14.7247, $p = .005308$).

Во текот на истражувањето се регистрираше статистички сигнификантна поврзаност помеѓу IDP (количество на дентален плак) и BANA тестот во Т3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, за $p < 0.05$ (Pearson Chi-square: 6.10989, $p = .047125$).

Во Т1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, помеѓу количината на дентален плак верзус BANA тестот се регистрира јака позитивна статистички сигнификантна ранг корелација за $p < 0.05$ (таб 12).

Во Т2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуколот, помеѓу количината на дентален плак верзус BANA тестот се регистрира умерена јака позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 12).

Во Т3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, помеѓу количината на дентален плак верзус BANA тестот се регистрира умерена позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 12).

Во текот на истражувањето се регистрираше статистички сигнификантна поврзаност помеѓу IGI (гингивална инфламација) и BANA тестот во Т1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, за $p < 0.05$ (Pearson Chi-square: 31,6996, $p = .000002$).

Во текот на истражувањето се регистрираше статистички сигнификантна поврзаност помеѓу IGI (гингивална инфламација) и BANA тестот во Т2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуколот, за $p < 0.05$ (Pearson Chi-square: 23.0570, $p = .000123$).

Во текот на истражувањето се регистрираше статистички несигнификантна поврзаност помеѓу IGI (гингивална инфламација) и BANA тестот во Т3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, за $p > 0.05$ (Pearson Chi-square: 2.38367, $df = 2$, $p = .303663$).

Во Т1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, помеѓу IGI (гингивална инфламација) верзус BANA тестот се регистрира јака позитивна статистички сигнификантна ранг корелација за $p < 0.05$ (таб 13).

Во Т2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуколот, помеѓу IGI (гингивална инфламација) верзус BANA тестот се регистрира умерена јака позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 13).

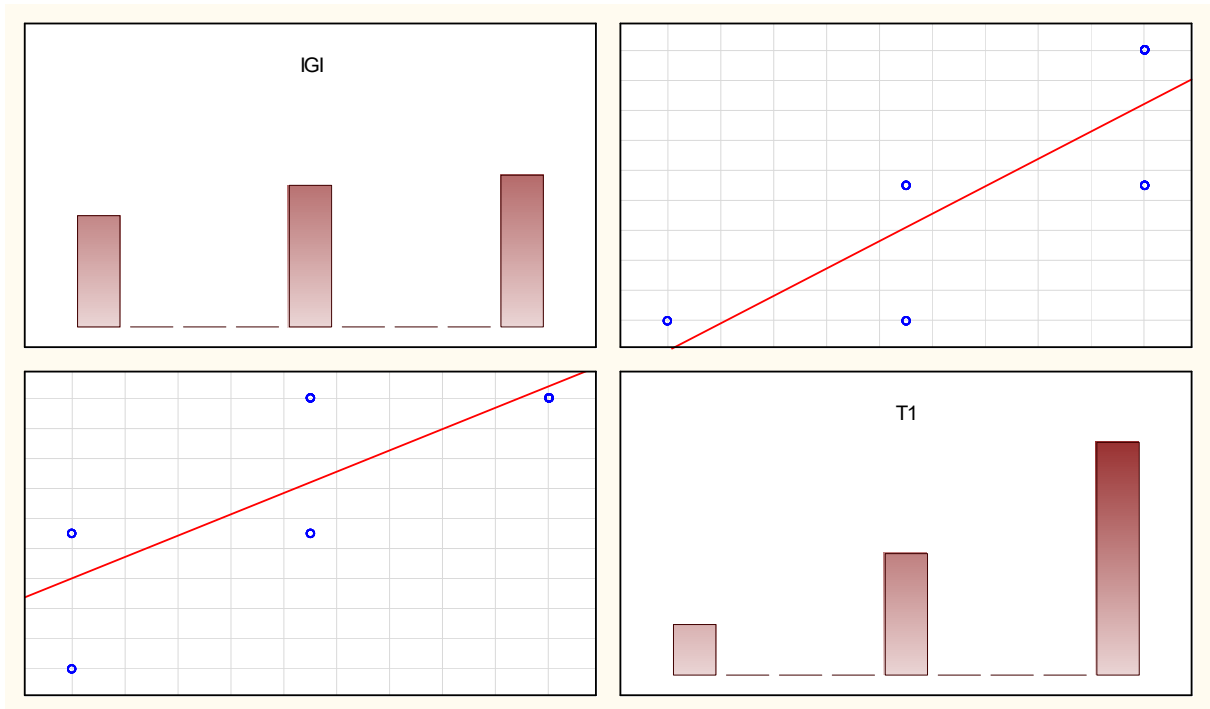
Во Т3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, помеѓу IGI(гингивална инфламација) верзус BANA тестот не се регистрира статистички сигнификантна корелација за $p > 0.05$ (таб 13).

Табела бр 13 Приказ на Spearman Rank Order корелација помеѓу индекс на гингивална инфламација и резултатите од BANA тест

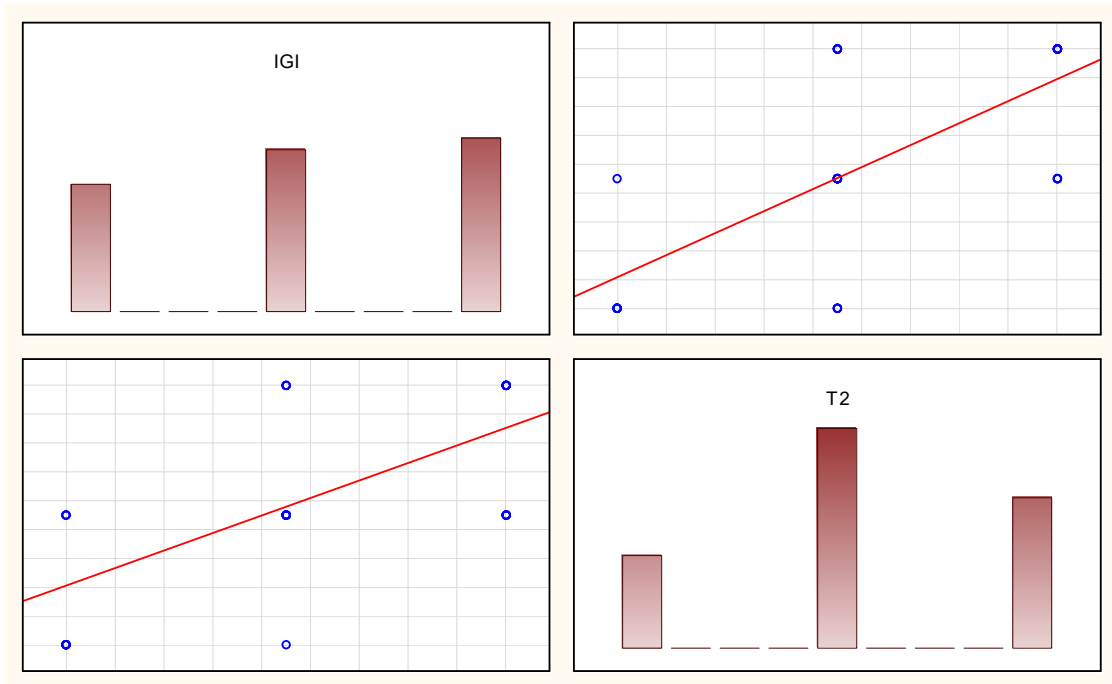
	T1	T2	T3
IGI	0.816536	0.663850	0.233308

Графикон бр 13 Приказ на Spearman Rank Order корелација помеѓу индекс на гингивална инфламација и резултатите од BANA тест

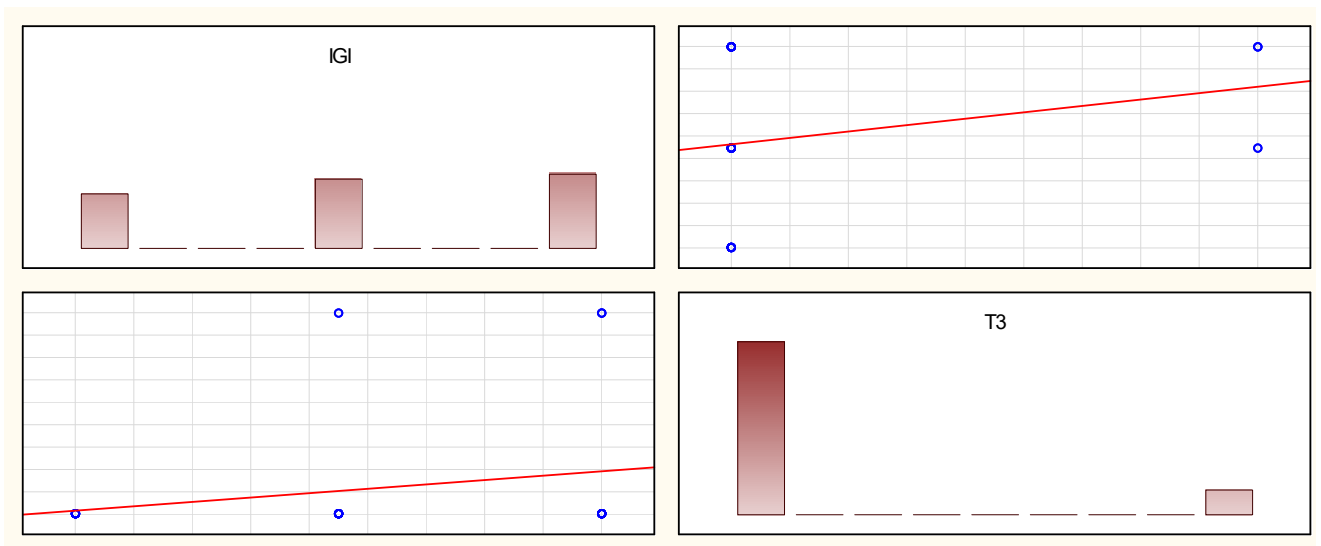
T1



T2



T3



Во текот на истражувањето се регистрираше статистички сигнификантна поврзаност помеѓу степенот на гингиворагија и BANA тестот во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности за $p < 0.05$ (Pearson Chi-square: 54.5229, $p = .000000$).

Во текот на истражувањето се регистрираше статистички сигнификантна поврзаност помеѓу степенот на гингиворагија и BANA тестот во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуконоат за $p < 0.05$ (Pearson Chi-square: 42.1356, $p = .000007$).

Во текот на истражувањето се регистрираше статистички несигнификантна поврзаност помеѓу степенот на гингиворагија и BANA тестот во T3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб за $p > 0.05$ (Pearson Chi-square: 8.57143, $p = .127429$).

Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, помеѓу степенот на гингиворагија верзус BANA тестот се регистрира јака позитивна статистички сигнификантна ранг корелација за $p < 0.05$ (таб 14).

Во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуконоот, помеѓу степенот на гингиворагија верзус BANA тестот се регистрира јака позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 14).

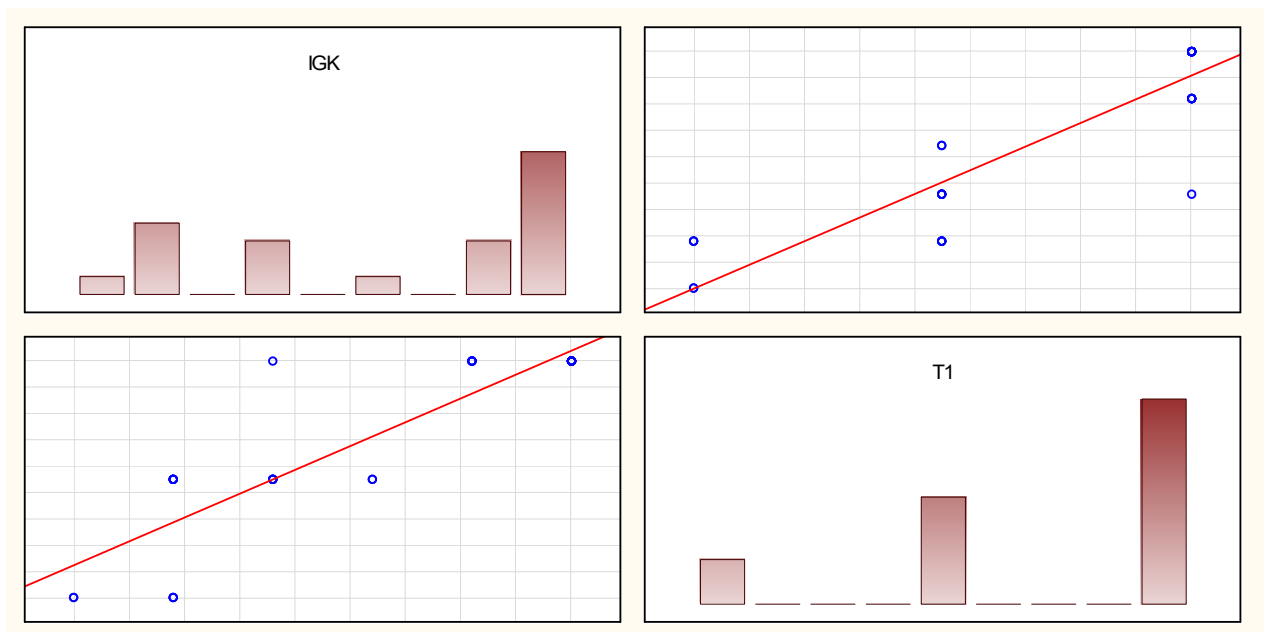
Во T3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, помеѓу степенот на гингиворагија верзус BANA тестот се регистрира умерена позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 14).

Табела бр 14 Приказ на Spearman Rank Order корелација помеѓу индекс на гингивално крварење и резултатите од BANA тест

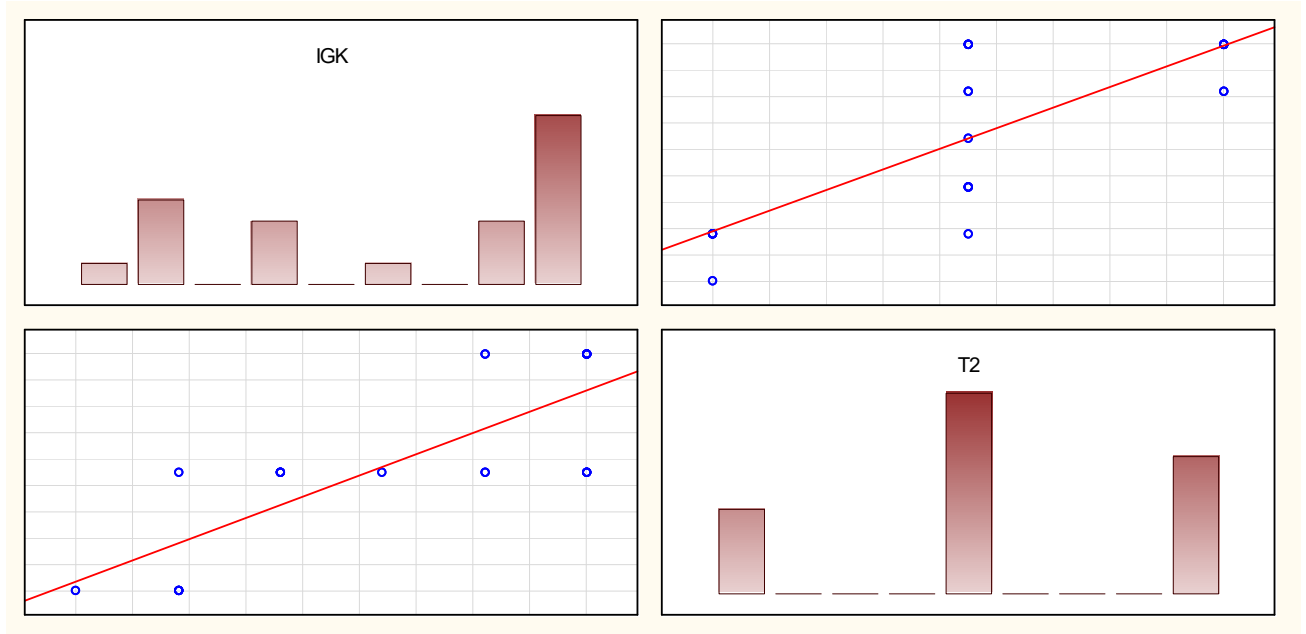
	T1	T2	T3
IGK	0.889323	0.765848	0.409292

Графикон бр 14 Приказ на Spearman Rank Order корелација помеѓу индекс на гингивално крварење и резултатите од BANA тест

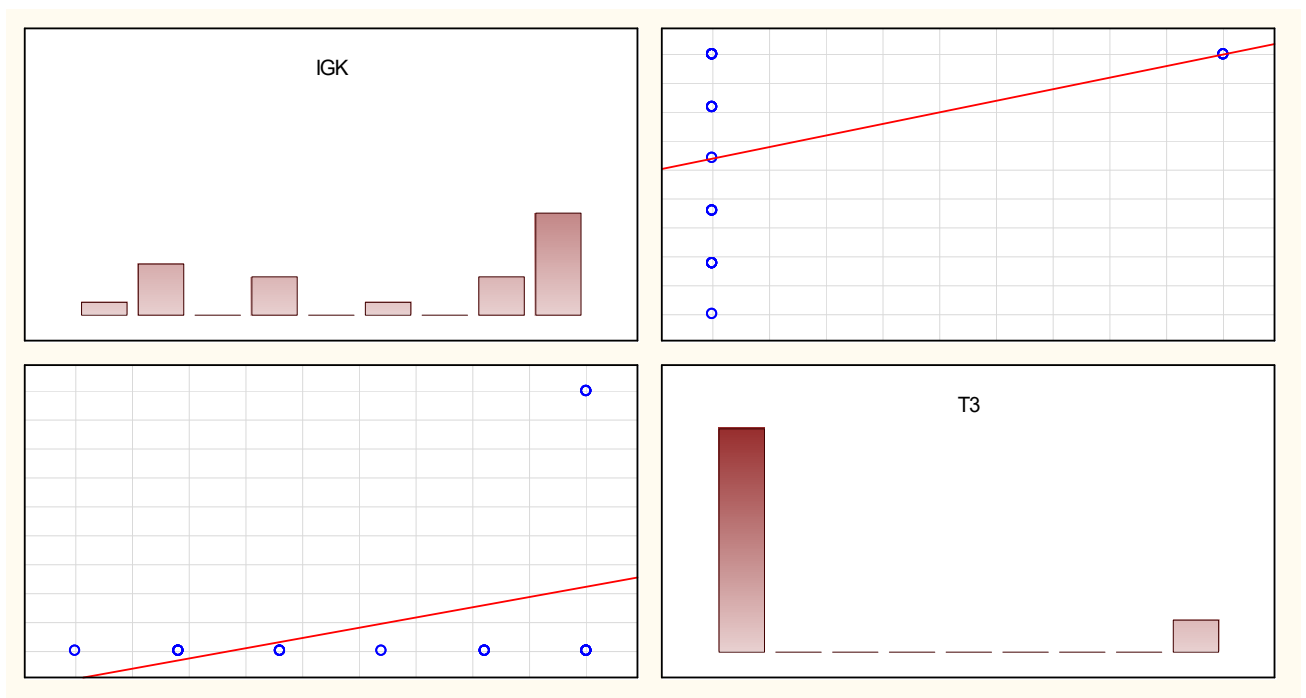
T1



T2



T3



ДИСКУСИЈА

Во 1870, Robert Koch (51, 52, 53), го развил класичниот критериум за идентификација според кој микроорганизмите можат да се проценат како предизвикувачи на инфекции. Овој критериум, опфаќа четири постулати познати како Кохови постулати, кои бараат од агенсот:

1. Рутински да се изолира од заболените лица;
2. Да се одгледува во чиста култура во лабораторија;
3. Да предизвика слична болест кога е накалемен во лабораториски животни и;
4. Да се изолира од лезии на заболени животни во лабораториски услови.

Меѓутоа постојат тешкотии во примената на овие критериуми кај другите видови на болести. Во случаите со пародонталната болест, три основни проблеми кои се појавуваат се: неспособноста да се изолира култура на сите организми кои се поврзани со болеста, тешкотиите во дефинирањето и култивирањето на бактериите од места со активни процеси, како и недостатокот на добри анимални модел како системи за изучување на пародонтитите.

Поради одредените недостатоци на овој модел Socransky (54), истражувач од „Forsyth Dental Center“ во Бостон, предложил критериуми со кои пародонталните микроорганизми можат да бидат оценети како потенцијални патогени. Според овие критериуми, секој потенцијален патоген мора:

1. Да биде поврзан со болеста, за што сведочи зголемениот број на микроорганизми во заболените места;
2. Да се елиминира или намали во места кои покажуваат клиничка резолуција на болеста со третман;
3. Да стимулира демонстрација на одговор во форма на измена на клеточениот или хуморалниот имунолошки одговор на домаќинот;
4. Да биде способен да предизвика болест кај експерименталните животни и;
5. Да се докажат вирулентни фактори кои се одговорни за уништувањето на пародонталното ткиво.

Денеска потенцијалните пародонтопатогени микроорганизми се испитуваат преку овие критериуми и со нивна помош дефинитивно се одредени нивните фактори на вируленција и е потврдена нивната корелација со клиничките форми на пародонталната болест.

Многубројните истражувања кои се направени во областа на пародонталната болест резултирале со дефинитивно одредување на *A. Actinomycetemcomitans*, *P.*

Gingivalis и *B. forsythus* како дефинитивни парадонтопатогени микроорганизми. За нив е постигнат официјален консензус во 1996 година на состанокот на светската пародонтолошка работна група. Поради тоа потребен е посебен осврт кон овие три микроорганизми.

Actinobacillus actinomycetemcomitans е мал, неподвижен, Грам негативен, сахаролитичен, капнофилен, бацил чии краеви се тркалезно обликувани (7). Во текот на последните две децении, се покажало дека *A. actinomycetemcomitans* може да се смета како еден од главните парадонтопатогени микроорганизми во деструктивните типови на пародонталната болест. Овој вид е претставен со шест серотипови (A-F). Серотипот B е најчесто детектиран и во голем број откриен во активните пародонтални лезии, додека серотипови A и C имаат поголема асоцијација со здравиот пародонт.

Докажано е дека дел од субгингивалната микрофлора која во голем дел се состои од *A. actinomycetemcomitans* се зголемува значително, со зголемување на длабочината на пародонталната лезија. Исто така, *A. actinomycetemcomitans* е откриен четири пати почесто кај пародонталните лезии со коса отколку со хоризонтална алвеоларна коскена загуба (55).

Porphyromonas gingivalis е вториот интензивно проучуван потенцијален парадонто-патоген микроорганизам. Изолатите од овој вид се грам негативни, анаеробни, неподвижни, асахаролитични бацили и обично покажуваат форми кои варираат од коки до кратки стапчиња. *P. gingivalis* е член на многу истражуваната црно пигментирана *Bacteroides* група и карактеристично за него е што гради црни пигментирани колонии. *P. gingivalis* е доминантен микроорганизам во хроничниот пародонтитис и генерализираната јувенилна парадонтопатија и може да се претпостави неговата патогенетска значајност за текот на болеста.

Неколку студии сугерираат дека исходот од пародонталниот третман е позитивен доколку специфичните патогени, како *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans*, повеќе не може да се детектираат по превземената терапија.

Bacteroides forsythus, вториот член на црвениот комплекс на Socransky (19) е *Bacteroides forsythus*. Оригиналниот изолат е идентификуван како "вретенаст *Bacteroides*", и бил опишан во литературата од Taner и соработниците во 1979 година. *Bacteroides forsythus* е грам негативен, плеоморфен анаероб, вретенаст по форма кој е изолиран во усната шуплина. Поради своите специфични потреби за раст (присуство на хемин, менадион, L-цистеин, и N-ацетилневраминска киселина) и фактот дека поради тоа е тешко да се култивира, неговата прецизна улога во коскените и ткивните оштетувања останува да се утврди. Забележано е дека растот на оваа бактерија е

потпомогнат со кокултивацијата на *F. nucleatum* и овие две бактерии многу често се наоѓаат заедно во субгингивалните подрачја. Микроорганизмот е често изолиран заедно со *P. gingivalis* во случаите на активни хронични пародонтити, и е често поврзан со тешките случаи на пародонталната болест.

Научниот напредок на крајот на 20-ти век, особено во областа на молекуларната биологија, доведе до напредок во нашиот пристап кон проучувањето на пародонталната болест. Од концептот на неспецифичната плак хипотеза се премина на специфична плак хипотеза што дефинитивно го потврди постоењето на одредени парадонтопатогени микроорганизми како причинители на парадонталните промени.

Денеска ДНК - базираната методологија за идентификација и за откривање на одредени бактерии и вируси претставува извонредна предност во однос на потрошеното време и трошоците во споредба со култивациските техники кои се применувале. Таа ни овозможува точно определување на составот на микробната флора кај различните форми на болеста и драматично зголемување на бројот на микроорганизми кои можат да се испитаат.

Анализите на повеќе од 40 субгингивални микроорганизми во 13.000 примероци на плак со користење на ДНК - хибридациската методологија дефинирале таканаречени „комплекси“ на парадонтопатогени микроорганизми. Составот на различните комплекси се базира на фреквенција со која микроорганизмите се наоѓаат заедно. Интересно да се напомене е тоа дека раните колонизатори се или независни или се дефинирани во комплекси (*A. naeslundii*, *A. viscosus*) или се членови на жолтиот (*Streptococcus* spp.) или виолетовиот комплекс (*A. odontolyticus*). Микроорганизми за кои првенствено се смета дека се секундарни колонизатори спаѓаат во зелениот, портокаловиот или црвениот комплекс. Зелениот комплекс ги вклучува *E. corrodens*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* серотип а, и *Campylobacter* spp. Портокаловиот комплекс ги вклучува *Fusobacterium*, *Prevotella*, и *Campylobacter* spp. Во зелениот и портокаловиот комплекс се сместени видови кои се признати како патогени во пародонталните и непародонталните инфекции. Црвениот комплекс е од особен интерес, бидејќи е асоциран со крварење при сондирање што е важен клинички параметар за деструктивните пародонтални болести, а го сочинуваат *P. gingivalis*, *B. forsythus*, и *T. denticola*. Постоењето на комплекси на бактерии во плакот е уште еден одраз на комплексната меѓузависност на бактериите во средината на биофилмот.

Идејата на ова истражување беше можноста за докажување на пародонталните микробни комплекси со помош на BANA-тестот и утврдување на корелацијата помеѓу клиничките показатели на хроничната пародонтална болест и резултатите од тестот.

Во студијата земаа учество 40 пациенти со дијагноза хронична пародонтопатија. Од нив 60.0% беа од машкиот пол, а 40.0% од женскиот пол (табела и графикон 1). Процентуалната разлика помеѓу половите е статистички не сигнификантна.

Тоа укажува дека станува збор за хомогена група во однос на полот (Difference test, $p=0.0736$).

Просечната возраст на пациентите изнесува 52.35 ± 7.4 г., минимум 35г. и максимум 63г. (таб и граф 2). Карактеристика на хроничната пародонтална болест е дека полната клиничка манифестација ја достигнува негде по четиресетата година од животот. Нашите резултати го потврдуваат тоа, но и еден од критериумите за селекцијата на пациентите кои ги вклучувавме во студијата беше да имаат пародонтални џебови подлабоки од 4 милметри.

Просечната вредност на длабочина на пародонтален џеб кај пациентите изнесуваше 5.6 ± 1.4 mm, минимум 4.0mm, а максимум 9.0mm (табелеа и графикон 3). Просечната вредност на клиничко губење на припојот кај пациентите изнесуваше 4.05 ± 1.1 mm, минимум 3.0mm, а максимум 7.0mm (табела и графикон 4).

Од интерес во нашето истражување беше да ги определиме и вредностите на индексите на дентален плак, индекс на гингивална инфламација и индексот на крварење при сондирање, а се со цел да ги корелираме со резултатите од BANA тестот.

Процентуалната разлика која ја регистриравме помеѓу застапеноста на модалитетите на Индекс на дентален плак според Silness и Loe, кај нашите испитаници беше статистички не сигнификантна (Difference test, $p>0.05$) табела и графикон 5). Аналогно на овие резултати се и резултатите за застапеноста на различните индексни вредности на гингивална инфламација. Имено, и процентуалната разлика помеѓу застапеноста на модалитетите на гингивалниот индекс по Loe и Silness е статистички не сигнификантна (Difference test, $p>0.05$) (табела и графикон 6).

Но, кај индексот на гингиворагија, според Mühlemann-Son, регистриравме сигнификантно поголем број на пациенти со индекс на крварење 5 во споредба со пациентите кои имаат други индексни вредности на овој индекс (табела и графикон 7). Крварењето е значаен клинички параметар при определување на состојбата на пародонтот и назначеноста на инфламаторните промени во него.

За прецизна дијагностика на воспалението на гингивата се препорачуваат индекси кои подразбираат определување на крварење при сондирање на сулкусот. Индекси кои што најчесто се користат се: MÜHLEMANN-SONN-ов индекс на крварење од сулкусот (SBI-SLCUS BLEEDING INDEX) MÜHLEMANN-ов индекс на крварење од интерденталната гингива (PBI PAPILA BLEEDING INDEX).

Тешко е да се разграничи состојбата помеѓу здрава гингива и раните форми на гингивит. Гингивата која што клинички изгледа здраво, хистолошки речиси секогаш содржи мало количество на воспалителен инфилтрат. Со напредувањето на инфламацијата се појавува и латерална пролиферација на припојниот епител. Заради воспалителните и едематозни промени на гингивата се создава гингивален џеб.

Најзначајни клинички симптоми на гингивитите се крварењето, црвенилото на гингивата, едематозното и хиперпластичното отекување на гингивата, и улцерации.

Првиот значаен клинички симптом на гингивитот (блага и умерена форма) е **крварењето** кое се јавува по внимателно сондирање. Крварењето е предизвикано заради навлегување на тапата пародонтална сонда низ разлабавениот и непрокрвен припоен епител во прокрвеното субепително сврзно ткиво. Притоа, во овој стадиум на развој на гингивитот **црвенилото на гингивата** се уште не може клинички да се регистрира. Симптомите на напреднатата форма на гингивит се силно крварење при сондирање, клинички манифестно црвенило и едем. Кај најтешките случаи можно е присуство на спонтано крварење и евентуално присуство на улцерации. Опишаните хронични облици (формите на гингивит) не се карактеризираат со болка. Болката се јавува само кај акутниот гингивит (улцеро-некротичниот гингивит).

Дури и напреднатата форма на гингивит не поминува задолжително во пародонтопатија. Со примена на соодветна терапија инфламаторниот процес е реверзибилен.

Како што веќе беше истакнато црвениот комплекс е од особен интерес, бидејќи е асоциран со крварење при сондирање што е важен клинички параметар за деструктивните пародонтални болести, а го сочинуваат *P. gingivalis*, *B. forsythus*, и *T. denticola*.

Значително повисоките вредности на индексот на гингиворагија кај нашите испитаници укажува на присуство на микроорганизми од црвениот микробен комплекс. Нашите резултати се во согласност наодите на [\(19.36\)](#).

Кај секој испитаник, земањето на брис од пародонталниот џеб беше направено во три временски интервали, и тоа:

- T1-прв пат, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности,
- T2-втор пат, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуколот,
- T3-трет пат, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб.

Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, BANA тестот кај 12,5% е *негативен*. Во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуколот, BANA тестот кај 20.0% е *негативен*. После маханичкот (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб во T3 времето, BANA тестот кај 87,5% е *негативен*.

Според Индексот на динамика се регистрира темпо на пораст на *негативен* BANA тест помеѓу T1 и T2 време за 60.0%, а помеѓу второто и третото време за 37.5%. Процентуалната застапеност на *негативен* BANA тест помеѓу T1 и T3(првото верзус третото) време е статистички сигнификантно за $p < 0.05$ (Difference test, $p = 0.0000$). Овој податок, уште еднаш го потврдува фактот дека само по соодветно механичко, рачно и ултразвучно манипулирање можно е да се отстранат пародонталните микробни комплекси од длабочината на пародонталниот џеб.

Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, BANA тестот кај 30.0% е *слабо позитивен*. Во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуколот, BANA тестот кај 47.5% е *слабо позитивен*. Во T3 време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, BANA тестот кај 12.5% е *слабо позитивен*.

Според Индексот на динамика се регистрира темпо на пораст на *слабо позитивен* BANA тест помеѓу T1 и T2(првото и второто време) за 58.3%, а помеѓу T2 и T3(второто и третото) време се регистрира темпо на опаѓање за 73.7%. Процентуалната застапеност на *слабо позитивен* BANA тест помеѓу T1 и T2 (првото верзус третото време) е статистички несигнификантна за $p > 0.05$ (Difference test, $p = 0.594$). Процентуалната застапеност на *слабо позитивен* BANA тест помеѓу T2 и T3(второто верзус третото време) е статистички сигнификантна за $p < 0.05$ (Difference test, $p = 0.0010$) (табела и графикон 8).

Резултатите кои ги добивме укажуваат дека само со хемиска плак контрола не е можна комплетна елиминација на микроорганизмите од пародонталниот џеб. Имено, во вториот временски интервал, по испирање на џебот се зголемува бројот на слабо позитивните резултати како резултат на намалување на бројот на микроорганизмите

во оние цбови, кои во првиот интервал биле со позитивен резултат. Дека механичката плак контрола е најефикасна, се потврдува со значителното намалување на слабо позитивните резултати од BANA тестот во третиот испитуван интервал во споредба со слабо позитивните резултати од BANA тестот во вториот интервал.

Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, BANA тестот кај 57.5% беше *позитивен*, додека пак во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуколат, BANA тестот кај 32.5% беше *позитивен*. После маханичкото (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, не се регистрира *позитивен* BANA тестот.

Според Индексот на динамика се регистрира темпо на опаѓање на *позитивен* BANA тест помеѓу T1 и T2(првото и второто време) за 43.5%. Процентуалната застапеност на *позитивен* BANA тест помеѓу T1 и T2(првото верзус второто време) е статистички сигнификантно за $p < 0.05$ (Difference test, $p = 0.0274$).

Нашите резултати за индексот на динамика на темпото на опаѓање на *позитивен* BANA тест помеѓу првиот период на анализа и анализата направена после механичката киретажа на џебот е во согласност со резултатите **Kanapathy (P3)**.

Сензитивноста на BANA тест е 87,5% во периодот веднаш по направените мерења и определување на индексните вредност (T1) (таб 9аб), 80.0% во периодот после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуколат (T2)(таб 9б).

Наште резултати се во согласност со резултатите кој ги добиле **José и сораб (39)**, во слична студија, во која сакале да ја испитиат сензитивноста и специфичноста на BANA тестот. Авторите ги споредувале резултатите во добиени од BANA тестот со резултатите добиени од тестот на DNA хибридизација на трите микроорганизми присутни во црвениот комплекс. Најголема сензитивност на тестот, која изнесувала 95,54%, авторите добиле во нултиот период на испитување, односно пред прземање на било која терапевска процедура. Иако помала сензитивност 87,5%, сепак и во нашето испитување, таа беше највисока во периодот веднаш по направените мерења и определување на индексните вредност (T1). Во периодот после длабокото испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуколат (T2), сензитивноста на BANA тестот се намали на 80%. Сепак и вој скор на сензитивност, покажува дека тестот со голема вероватност ги открива присутните микроорганизми од црвениот комплекс.

Зацртана цел во нашето испитување беше и да се да се утврди корелацијата помеѓу клиничките показатели на хроничната пародонтална болест и резултатите од тестот.

Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, и во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглукононот помеѓу длабочината на пародонталните џебови и BANA тестот се регистрира јака позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 10). Во T3 време, после механичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, помеѓу длабочината на пародонталните џебови верзус BANA тестот се регистрира умерена позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 10). Резултатите кои ги добивме во нашето истражување ја докажуваат тезата дека со зголемување на длабочината на пародонталниот џеб се зголемува бројот на жителите во портокаловиот и црвениот комплекс. (56) во своето истражување дошле до слични резултати како во нашето истражување. Имено и во нивното микробиолошко преследување на длабочината на пародонталните џебови, ја откриле позитивната корелација помеѓу длабочината на џебот и позитивните резултати од тестот.

Во сите три испитувани временски интервали помеѓу клиничкото губење на припојот верзус BANA тестот се регистрира слаба позитивна статистички не сигнификантна корелација за $p > 0.05$ (таб 11). Клиничкото губење на припојот е златен стандард за определување на напреднатоста на пародонталната болест и повеќе е показател за активноста болеста во минатото отколку во моментот на самиот пародонтолошки преглед. Тоа се потврдува и со резултатите од нашето испитување, бидејќи помеѓу BANA тестот и клиничкото губење на припојот се добива умерена корелација наспроти јаката позитивна корелација помеѓу BANA тестот и длабочината на пародонталниот џеб.

На табела и графикон 12 се регистрира дека во текот на истражувањето забележавме статистички сигнификантна поврзаност помеѓу IDP и BANA тестот во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, за $p < 0.05$ (Pearson Chi-square: 26,5613, $p = 0.00024$). Помала статистички сигнификантна поврзаност помеѓу IDP и BANA тестот се регистрира и во останатите два испитувани периоди.

Во T1 време, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, помеѓу IGI (гингивална инфламација) и BANA тестот се регистрира јака позитивна статистички сигнификантна ранг корелација за $p < 0.05$ (таб 13).

Во T2 време, после длабоко испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглукононот, помеѓу IGI (гингивална инфламација) и BANA тестот се регистрира умерена јака позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$ (таб 13).

Во ТЗ време, после маханичко (ултразвучно) чистење на пародонталниот џеб, помеѓу IGI(гингивална инфламација) верзус BANA тестот не се регистрира статистички сигнификантна корелација за $p > 0.05$ (таб 13).

Инфламацијата на гингивата е поврзана со присуството на микробите од денталниот биофилм, локализирани супрагингивално, но и субгингивално. Нашите резултати го покажуваат тоа. По напврвеното испирање со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглуколот сеуште постои корелација (која е умерена) помеѓу индексните вредности на инфламацијата на гингивата и резултатите од тестот, затоа што во тој испитуван период сеуште има и позитвни резултати од тестот. Непостоењето на поврзаност помеѓу резултатите од тестот и индексните вредности на инфламацијата на гингивата во третиот испитуван период, покажува дека иако се елиминирани микробите од пародонталниот џеб сепак не настанува веднаш смирување на инфламаторниот процес.

Слични се резултатите кои ги добивме во текот на нашето испитување, и за корелацијата помеѓу Бана тестот и индексот на гингиворагија.

Од спроведеното истражување, кое е прво од овој вид во нашата држава, утврдивме дека со помош на Бана тестот може, брзо лесно и ефикасно да се определат жителите на црвениот комплекс кој се поврзува со пародонталната болест, особено со клиничката презентација на крварење од гингивата. Самоиот процесор е мал апарат, може да биде присутен во секоја стоматолошка ординација а со него лесно може да манипулира и стоматологот и помошниот персонал во ординацијата. Резултатите се добиваат веднаш, што претставува предност во однос на другите микробиолошки тестови.

Денеска постои се поголема злоупотреба на земање на антибиотици. Често пати стоматолозите се одлучуваат да ординираат антибиотик, не само кај пациенти со пародонтопатија туку и кај пациенти кои немаат пародонтопатија, а инфламаторниот процес е локализиран само на гингивалното ткиво. Тоа се грешки кои се случуваат и водат кон се поголема резистентност на различни микробни соеви. Потребно е стриктно поставување на индикации, кога кај пациентите со пародонтопатија е потребно давање на антибиотици. Токму во таа насока, може да послужи и Бана тестот. Позитивните корелации кои се добиени помеѓу Бана тестот и активноста на болеста, презентирани преку индексните вредности на инфламација и крварење, укажуваат дека тој може да послужи како дополнителна алатка, покрај клиничкиот пародонтолошки преглед, за определување на потребата од ординирање на антибиотска терапија.

Една од целите во нашето истражување беше да се спореди ефикасноста на хемиската со механичката елиминација на микробните пародонтални комплекси. Истражувањето, преку резултатите добиени од Бана тестот, ја потврди тезата дека

механичката елиминација на микроорганизмите од длабочината на пародонталните џебови е неприкосновена метода и далеку поефикасна од хемиската елиминација.

ЗАКЛУЧОЦИ

1. Бана тестот е погоден за докажување на пародонталните микробни комплекси, кај пациенти со различна длабочина на пародонтален џеб. Тоа се потврдува со сензитивноста на тестот која ја добивме во текот на нашето испитување, а изнесуваше 87,5 %
2. Помеѓу длабочината на пародонталните џебови и резултатите од BANA тестот се регистрира јака позитивна статистички сигнификантна корелација за $p < 0.05$
3. Во сите три испитувани временски интервали помеѓу клиничкото губење на припојот и резултатите од BANA тестот се регистрира слаба позитивна статистички не сигнификантна корелација.
4. Помеѓу IGI (гингивална инфламација) и резултатите од BANA тестот се регистрира јака позитивна статистички сигнификантна корелација, веднаш по направените клинички испитувања. После длабокото испирање на пародонталниот џеб со 0,2% раствор на Хлорхексидин диглукононот, помеѓу IGI (гингивална инфламација) и BANA тестот се регистрира умерена јака позитивна статистички сигнификантна корелација, додека пак по механичката елиминација на денталниот плак не се регистрира значајна корелација помеѓу овие параметри.
5. Помеѓу степенот на гинворагија и резултатите од BANA тестот се регистрира јака позитивна статистички сигнификантна корелација, веднаш по направените клинички испитувања.
6. регистрира статистички сигнификантна поврзаност помеѓу IDP и BANA тестот, веднаш по направените мерења и определување на индексните вредности, за $p < 0.05$ (Pearson Chi-square: 26,5613, $p = ,000024$). Помала статистички сигнификантна поврзаност помеѓу IDP и BANA тестот се регистрира и во останатите два испитувани периоди.
7. Присуството на пародонталните микробни комплекси, откриени со BANA тестот се намалува по испирањето на пародонталниот џеб со хлорхексидин, но намалувањето е уште позначително по механичкото отстранување на денталниот плак од пародонталните џебови.
8. со помош на Бана тестот може, брзо лесно и ефикасно да се определат жителите на црвениот комплекс кој се поврзува со пародонталната болест, особено со клиничката презентација на крварење од гингивата. Самоиот процесор е мал апарат, може да биде присутен во секоја стоматолошка ординација а со него лесно може да манипулира и стоматологот и помошниот персонал во ординацијата. Резултатите се добиваат веднаш, што претставува предност во однос на другите микробиолошки тестови.

КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

1. Williams, R.C. Periodontal disease. (1990). *New England Journal of Medicine*, Vol.322(No.6):373-382. -1
2. Nonnenmacher C, Mutters R, Flored de Jacoby L. Microbiological characteristics of subgingival microbiota in adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and rapidly progressive periodontal subjects. *Clin Microbiol Infect* 2001;7:213-217 - 2
3. Ивановски К. Претклиничка пародонтологија: интерна скрипта од предавања. Стоматолошки факултет, Скопје, 2013.
4. Herbert F.W. et all. Parodontologija, stomatoloski atlas. Naklada Slap, Zagreb 2009: 67-74.
5. Richard J. Lamont., Howard F. Jenkinson., Oral microbiology at a glance Richard J. Lamont., Howard F. Jenkinson., Oral microbiology at a glance 2010; - 3
6. Van Winkelhoff AJ, Loss BG, Van der Reijden WA, Van der Velden U P. Gingivalis, B. Forsythus and other periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *J Clin Periodontol* 2002;29:1023-1028 - 4
7. Haffje AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1994a; 5:78-111 - 5
8. Ready D, D' Aivto F, Spratt DA, Suvan J, Tonetti MS, Wilson M. Disease severity associated with presence in subgingival plaque of P. gingivalis, A.a, and T forsythia, singly or in combination as detected by multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2008;13:143-8 - 6
9. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998;25:134-44 - 7
10. Tanner AC, Izard J. Tannerela Forsythia, a periodontal pathogen entering the genomic era. *Periodontol* 2000. 2006;42:88-113 - 8
11. Dzink JK, Socransky SS, Haffajee AD. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1988;15:316-23 - 9
12. Gomes SC, Piccinin FB, Oppermann RV, Susin C, Nonnenmacher CI, Mutters R, Cantonio RA. Periodontal status in smokers and never-smokers: clinical findings and real-time PCR quantification of putative periodontal pathogens. *J Periodontol.* 2006;77:1483-90 - 10
13. Van Dalen PJ, van Steenberg TJM, Cowan MM, Busschee HJ, de Graaff J. Description of two morphotypes of P. micros. *Int J Syst Bacteriol.* 1993;43:787-93 - 11
14. Kremer BH, van Steenberg TJ. P micros coaggregates with Fusobacterium nucleatum and noncapsulated P. gingivalis. *FEMS Microbiol Lett.* 2000;182:57-62 - 12
15. Ивановски К., Пандилова М., Орално здравје, Стоматолошки факултет, Скопје, 2008 - 13

16. Thilo B.E., Baehni P.C. 1987 Effect of ultrasonic instrumentation on dental plaque microflora in vitro. *J. Periodontol. Res.* 22:518-522 - 14
17. K. Schwach-Abdellaoui, N. Vivien-Castioni, R. Gurny. Local delivery of antimicrobial agents for the treatment of periodontal diseases. *E. J. Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 50 (2000) 83-99 - 15
18. Darveau, R.P., Tanner, A. & Page, R.C. (1997). The microbial challenge in periodontitis. *Periodontology 2000*, Vol.14(No. 1): 12-32. - 16
19. Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Cugini, M.A., Smith, C. & Kent, R.L. Jr. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol.25(No.2):134-144. - 17
20. Akihiro Y, Toshihiro A. Microbiological Diagnosis for Periodontal Diseases. Chapter from the book *Periodontal Diseases - A Clinician's Guide*, Intech, 2012: 55-64 - 18
21. Yoshida, A., Tachibana, M., Ansai, T. & Takehara, T. (2005b). Multiplex polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of black-pigmented *Prevotella* species in oral specimens. *Oral Microbiology and Immunology*, Vol.20(No.1):43-46. - 19
22. Escribano M, Matesanz P, Vascones A (2005). Pasado, presente y futuro de la microbiología de la periodontitis. *Av Periodon Implantol.* 17(2):79-87. Escribano M, Matesanz P, Vascones A (2005). Pasado, presente y futuro de la microbiología de la periodontitis. *Av Periodon Implantol.* 17(2):79-87. - 20
23. Marsh PD, Devine DA (2011). How is the development of dental biofilms influenced by the host? *J. Clin. Periodontol.* 38(Suppl. 11): 28-35. - 21
24. Contreras A, Moreno S, Jaramillo A, Pelaez M (2000). Periodontal microbiology in Latin America. *Periodontology* 67(1):58-86. - 22
25. Ling L, Ho C, Wu C, Chen Y, Hung S (2004) Association between human herpesvirus and the severity of periodontitis. *J. Periodontol.* 75:1479-1485 Ling L, Ho C, Wu C, Chen Y, Hung S (2004) Association between human herpesvirus and the severity of periodontitis. *J. Periodontol.* 75:1479-1485. - 23
26. Colombo AP, Boches SK, Cotton SL, Goodson JM, Kent R, Haffajee AD, Socransky SS, Hasturk H, Van Dyke TE, Dewhirst F, Paster BJ. (2009). Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis, and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. *J. Periodontol.* 80:1421-1432. - 24
27. Lamont RJ, Hajishengallis GM, Jenkinson HF (2013). *Oral Microbiology and Immunology*. Washington, DC, USA: ASM Press. Lamont RJ, Hajishengallis GM, Jenkinson HF (2013). *Oral Microbiology and Immunology*. Washington, DC, USA: ASM Press. - 25

28. Kawada, M., Yoshida, A., Suzuki, N., Nakano, Y., Saito, T., Oho, T. & Koga, T. (2004). Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* in relation to periodontal status assessed by real-time PCR. *Oral Microbiology and Immunology*, Vol.19(No.5):289-292. - 26
29. Yoshida, A., Kawada, M., Suzuki, N., Nakano, Y., Oho, T., Saito, T. & Yamashita, Y. (2004). TaqMan real-time polymerase chain reaction assay for the correlation of *Treponema denticola* numbers with the severity of periodontal disease. *Oral Microbiology and Immunology*, Vol.19(No.3):196-200. - 27
30. Schmidt, E.F., Bretz, W.A., Hutchinson, R.A. & Loesche, W.J. (1988). Correlation of the hydrolysis of benzoyl-arginine naphthylamide (BANA) by plaque with clinical parameters and subgingival levels of spirochetes in periodontal patients. *Journal of Dental Research*, Vol.67(No.12):1505-1509. - 28
31. Yoshida, A., Yoshimura, M., Ohara, N., Yoshimura, S., Nagashima, S., Takehara, T. & Nakayama, K. (2009). Hydrogen sulfide production from cysteine and homocysteine by periodontal and oral bacteria. *Journal of Periodontology*, Vol.80(No.11):1845-1851 - 29
32. Suzuki, N., Nakano, Y., Yoshida, A., Yamashita, Y. & Kiyoura, Y. (2004a). Real-time TaqMan PCR for quantifying oral bacteria during biofilm formation. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol.42(No.8):3827-3830. - 30
33. Suzuki, N., Yoshida, A. & Nakano, Y. (2005). Quantitative analysis of multi-species oral biofilms by TaqMan Real-Time PCR. *Clinical Medical Research*, Vol.3(No.3):176-185. - 31
34. Kato, H., Yoshida, A., Awano, S., Ansai, T. & Takehara, T. (2005). Quantitative detection of volatile sulfur compound-producing microorganisms in oral specimens using realtime PCR. *Oral Diseases*, Vol.11 (No.11, Suppl 1):67-71. - 32
35. Nagashima, S., Yoshida, A., Ansai, T., Watari, H., Notomi, T., Maki, K. & Takehara T. (2007). Rapid detection of the cariogenic pathogens *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* using loop-mediated isothermal amplification. *Oral Microbiology and Immunology*, Vol.22(No.6):361-368. -33
36. Yoshida, A., Suzuki, N., Nakano, Y., Oho, T., Kawada, M. & Koga, T. (2003a). Development of a 5' fluorogenic nuclease-based real-time PCR assay for quantitative detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol.41(No.2):863-866. - 34
37. Slots, J., Research, Science and Therapy Committee. (2004). Systemic antibiotics in periodontics. *Journal of Periodontology*, Vol.75(No.11): 1553-1565. - 35
38. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal Microbial ecology *Periodontology* 2000, 2005; 38:135-87. -36

39. José A., et al. The ability of the BANA Test to detect different levels of *P. gingivalis*, *T. denticola* and *T. forsythia*. *Braz Oral Res.* 2010;24(2):224-30. - 37
40. Loesche WJ, Bretz WA, Kerschensteiner D, Stoll J, Socransky SS, Hujoel P, et al. Development of a diagnostic test for anaerobic periodontal infection based on plaque hydrolysis of Benzoyl-DL-Arginine-Naphthylamide. *J Clin Microbiol.* 1990 Jul;28(7):1551-9. - 38
41. Matarazzo F, Figueiredo LC, Cruz SE, Faveri M, Feres M. Clinical and microbiological benefits of systemic metronidazole and amoxicillin in the treatment of smokers with chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol.* 2008 Oct;35(10):885-96. - 39
42. Takaishi Y, Morri H, Miki T. The benzoyl-DL argininanaphthylamide (BANA) test and polymerase chain reaction measurement of pathogenic bacteria can assess the severity of periodontal disease. *Int J Tissue React.* 2003;25(1):19-24. - 40
43. Grisi MF. et al. Relationship between the presence or absence of gingival bleeding and the enzymatic BANA test. *Braz Dent J.* 2001;12(1):23-6. - 41
44. Grisi MF. et al. Relationship between clinical probing depth and reactivity to the BANA test of samples of subgingival microbiota from patients with periodontitis. *Braz Dent J.* 1998;9(2):77-84. -42
45. Wetzel AC, Neuenschwander-Schüpbach A, Lopatin DE, Lang NP. Use of BANA hydrolysis as a diagnostic test for identifying periodontopathic environments. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 1991;101(9):1127-32. 43
46. Kanaparthi et al. BANA Hydrolysis as a Comparative Tool in the Evaluation of Amoxicillin and Azithromycin in the Treatment of Chronic Periodontitis. *Journal of Periodontology & Implant Dentistry* 2012;4(2):43-47. 44
47. Miguel A. et al. Presence of bacterial enzymatic activity in patients with periodontal pockets in the city of Corrientes (Argentina). *Revista Odontológica Mexicana* 2011, 15(3):152-157. - 45
48. Silness J, Loe index H. Periodontal disease in Pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontologica Scandinavica.* 1964;22:121-35.
49. Loe H, Silness J. Periodontal diseases in pregnancy .I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand.* 1963;21:533-51.
50. Mühlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta.* 1971 Oct;15(2):107-13.
51. Koch, R. 1884. Die Aetiologie der Tuberkulose. *Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte.* 2:1-88.

52. Koch, R. 1942. The aetiology of tuberculosis (translation of Die Aetiologie der Tuberculose [1882]), p. 392–406. In D. H. Clark (ed.), Source book of medical history. Dover Publications, Inc., New York.
53. Koch, R. 1891. Über bakteriologische Forschung Verhandlung des X Internationalen Medicinischen Congresses, Berlin, 1890, 1, 35.
54. Socransky SS. Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. J Dent Res. 1970 Mar-Apr;49(2):203-22.
55. Slots, J. and Ting, M. (1999) Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in human periodontal disease: Occurrence and treatment. Periodontology 2000, 20, 82-121.
56. Acuña M et al. Enzymatic activity in periodontal pockets in Corrientes City (Argentina) patients. Odontológica Mexicana 2011;15 (3): 152-157.