

**Wpływ 0,5% jodowanego polimeru poliwinylowego
na bakterie w kieszonkach przyzębnych
u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia**

**Influence of 0,5% povidone iodine on bacterias in periodontal pockets
of patients with chronic periodontitis**

W świetle obecnej wiedzy przewlekłe zapalenie przyzębia jest chorobą infekcyjną. Podstawowym celem terapeutycznym jest usunięcie bakterii z kieszonek przyzębnych. Terapia polega na usunięciu nad- i poddziąsłowych złogów nazębnych (skaling) oraz polerowanie powierzchni zębów (polishing). Podczas skalingu i polishingu wykonywanych aparatem ultradźwiękowym chłodziwem jest najczęściej woda destylowana, jednakże zastosowanie w jej miejsce środków antyseptycznych powoduje korzystniejsze zmniejszenie liczby drobnoustrojów w kieszonkach przyzębnych.

Cel pracy: Wykazanie skuteczności przeciwbakteryjnej 0,5% jodowanego powidonu (0,5% PVP-J) stosowanego jako chłodziwa podczas zabiegu skalingu i polishingu ultradźwiękowego u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia.

Materiał i metody: Badanie wykonano u 30 pacjentów, w wieku od 25 do 78 lat, z przewlekłym zapaleniem przyzębia. Wykonano u nich skaling i polishing ultradźwiękowy, podczas którego chłodziwem był 0,5% jodowany powidon. Zabieg ten wykonano przy użyciu skalera ultradźwiękowego firmy Satelec. Materiał do badania mikrobiologicznego pobrano z 33 kieszonek przyzębnych o głębokości 4–7 mm. Badano w nich obecność następujących bakterii: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* oraz *Prevotella intermedia*. Do identyfikacji bakterii wykorzystano metodę PCR. Wyniki badania rejestrowano: przed podjęciem leczenia, 10 minut po zabiegu, tydzień i miesiąc po usunięciu złogów nazębnych.

Wyniki: Zastosowanie 0,5% PVP-J podczas zabiegu skalingu i polishingu ultradźwiękowego powodowało redukcję odsetka kieszonek przyzębnych, przy których wykryto bakterie *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Po zastosowaniu 0,5% PVP-J zanotowano również skuteczną redukcję odsetka kieszonek przyzębnych zainfekowanych *Prevotella intermedia* (z 75,76% do 33,33%). Jednakże po tygodniu wyniósł on już 45,45%, a po miesiącu powrócił do stanu pierwotnego.

Ze względu na niewielką detekcję bakterii *Porphyromonas gingivalis* zaniechano analizy statystycznej częstości występowania tych bakterii.

Wnioski: Jodowany polimer poliwinylowy, stosowany miejscowo podczas usuwania złogów nazębnych i polerowania zębów jest skutecznym preparatem przeciwbakteryjnym działającym przeciwko bakteriom bytującym w kieszonkach przyzębnych.

Słowa kluczowe: Jodowany powidon, skaling i polishing, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*.

ABSTRACT

Background: Nowadays periodontitis is regarded as an infectious disease. It is treated by elimination of its main causing factor: bacteria. Therapy involves the removal of supra- and subgingival deposits (scaling) and the polishing of teeth surfaces (polishing). During the ultrasonic scaling and polishing water is usually used as a coolant. However, replacing water with antiseptic agents reduces the number of microorganisms a great deal.

Objectives: To show the antimicrobial efficacy of treatment with 0,5% povidone iodine (0,5% PVP-J) applied as coolants during ultrasonic scaling and polishing.

Material and methods: The test group consisted of 30 patients, aged 25 to 78, with periodontitis. Ultrasonic scaling and polishing was carried out with 0,5% povidone- iodine as a coolant. It was made by device of Satelec company. Subgingival samples were obtained from 33, 4-7 mm periodontal pockets. It was estimated the presence of bacteria: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*. Identification of bacterias was performed using the multiplex PCR method. Examination results were recorded: before the treatment, as well as 10 minutes, one week and one month after treatment.

Results: Results demonstrate that the 0,5% PVP-J coolants used during ultrasonic scaling and polishing caused a reduction in the percentage of periodontal pockets with bacteria *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Application of 0,5% PVP-J during scaling and polishing was effective in reducing the percentage of periodontal pockets with the *Prevotella intermedia* (from 75,76% to 33,33%). After one week it was 45,45%, after month it return to primary state.

In spite of a low detection of *Porphyromonas gingivalis* bacterias it was relinquish of statistical analysis of frequency of the occurrence this bacteria.

Conclusions: Povidone iodine, topically applied during scaling and polishing is effective antiseptic agent, which influence on bacteria existing in periodontal pockets.

Keywords: Povidone-iodine, scaling and polishing, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*

Przewlekłe zapalenie przyzębia wiąże się z występowaniem różnorodnej flory bakteryjnej, jednakże są wśród nich bakterie, które mogą stanowić wskaźniki pozwalające na przewidywania dotyczące możliwości wystąpienia i progresji zapalenia przyzębia, ponieważ ze zdrowych miejsc wyizolować je można dużo rzadziej, niż z miejsc zmienionych chorobowo [1-4]. Należą do nich: *Prevotella intermedia* (P.i.), *Porphyromonas gingivalis* (P.g.) oraz *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.a.). Mechanizmy uruchamiane przez bakterie indukują u gospodarza odpowiedź zapalną w postaci zapalenia dziąseł. Nielezione zapalenie dziąseł może prowadzić do postępującej utraty przyczepu nabłonkowo-łącznotkankowego, kości wyrostka zębodołowego oraz ozębnej. Taka stopniowa aktywna destrukcja tkanek przyzębia świadczy o rozpoczynającym się zapaleniu przyzębia.

Leczenie tego schorzenia polega na usunięciu złogów nazębnych oraz polerowaniu powierzchni zębów, co w znacznej mierze eliminuje bakterie. Jednakże całkowite ich usunięcie z kieszonek jest trudne do osiągnięcia. Dlatego dodatkowe wykorzystanie preparatów o działaniu bakteriobójczym i bakteriostatycznym podczas zabiegów powodujące znaczne zmniejszenie liczby drobnoustrojów daje możliwość łatwiejszego, skuteczniejszego i szybszego opanowania stanu zapalnego dziąseł i przyzębia, a tym samym decyduje o sukcesie leczenia.

Obecnie na rynku znajduje się wiele dostępnych substancji, które obniżają ilość mikroorganizmów lub hamują ich metabolizm [5]. Jednakże rzeczywista przydatność praktyczna większości z nich jest ograniczona. Badania potwierdzają korzystne działanie na tkanki przyzębia jodowanego polimeru poliwinylowego (PVP-J). Stanowi on kompleksowe połączenie poli 1-winylo2-pirolidonu z jodem [6]. Znany jest pod międzynarodową nazwą Povidone Iodine. w preparatach handlowych zwykle występuje w roztworze 10% (PVJod®, Povidone Iodine®, Betadine®, Betailsodona®, Polodina R®). Jodowany powodon (PVP-J) był odkryty w krajach anglo-amerykańskich pod koniec lat sześćdziesiątych, a dzięki swej skuteczności był stosowany również w Niemczech przez około 25 lat [7].

Jego działanie przeciwbakteryjne stwarza możliwość wykorzystania go również w zapobieganiu rozwojowi próchnicy [8]. Dowiedziono, że irygacje i/lub płukanie jamy ustnej PVP-J poprzez redukcję ilości bakterii w ślinie i szczelinach/kieszonkach dziąsłowych i przyzębnych powoduje zmniejszenie prawdopodobieństwa wystąpienia bakteriemii pozabiegowej [9, 10].

PVP-J działa na bakterie Gram+ i Gram-, spory, mykobakterie, grzyby, chlamydie, wirusy i pierwotniaki [11]. PVP-J inaktywuje w krótkim czasie takie wirusy, jak: adenowirusy, rotawirusy, rinowirusy, wirus świnki, choroby Heinego i Medina (typ 1 i 3), Coxackie, wirus opryszczki zwykłej, różyczki, odry, grypy i HIV. Podczas gdy glukonian chlorheksydyny jest całkowicie nieefektywny względem adenowirusów, rotawirusów, rinowirusów i wirusów choroby Heinego i Medina. Jego aktywność względem wirusów opryszczki zwykłej określono jako wątpliwą, natomiast bardzo dobrze inaktywował wirusy różyczki, odry, świnki, grypy i HIV [12]. Jest niezwykle skuteczny względem bakterii odpowiedzialnych za zakażenia wewnątrzszpitalne, takich jak methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (niszczy je po 0,5 min ekspozycji niezależnie od

stężenia), *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Bacillus cepacia* [13]. Już w stężeniu 1:20 000 zabija w ciągu kilku minut bakterie, grzyby, wirusy i pierwotniaki, a po upływie 15 minut również formy przetrwalnikowe drobnoustrojów i zarodniki, nie powodując powstawania form opornych.

PVP-J nie tylko niszczy drobnoustroje, ale także hamuje wytwarzanie i uwalnianie egzotoksyn bakteryjnych (α -hemolizyny, fosfolipazy C, lipazy), inaktywuje egzotoksyny bakteryjne, a także cytokiny (IL-8, TNF- α) i enzymy pochodzące z granulocytów (β -glukuronidaza, elastaza) [14].

Przeciwbakteryjne działanie PVP-J jest związane z silnym działaniem utleniającym na grupy aminowe (NH-), hydroksylowe (OH-) i tiolowe (SH-) aminokwasów i nukleotydów. Ponadto, jod silnie reaguje z podwójnymi wiązaniami nienasyconych kwasów tłuszczowych w ścianie komórkowej i błonie komórkowej organelli [15].

PVP-J oddziałując na ścianę komórkową mikroorganizmu, powoduje przejściowe lub trwałe formowanie porów. Poprzez utlenianie podwójnych wiązań frakcji lipidowej ściany komórkowej sprawia, że powstaje połączenie ciała stałego – cieczy na poziomie warstwy lipidowej błony komórkowej, co prowadzi do utraty cytoplazmy. Bezpośredni kontakt z jodem prowadzi również do denaturacji enzymów. To także jest spowodowane utleniającymi możliwościami jodu oraz jego szybką reakcją z aminokwasami i nienasyconymi kwasami tłuszczowymi [6].

To wyłącznie chemiczne oddziaływanie na ścianę komórkową drobnoustrojów uzasadnia wcześniejsze obserwacje, że PVP-J nigdy nie tworzy oporności wśród bakterii [13, 16, 17], w przeciwieństwie do antybiotyków, których działanie polega na zakłócaniu reakcji biochemicznych w komórkach bakteryjnych.

W związku ze stosowaniem PVP-J zaobserwowano kilka efektów ubocznych. Przy długotrwałym użyciu może powodować krótkotrwałe przebarwienia zębów i języka, jednakże osad nazębny jest łatwy do usunięcia podczas polishingu przy pomocy pumeksu lub wody utlenionej [18], natomiast osad na języku zanika w krótkim czasie po zaprzestaniu stosowania tego związku.

PVP-J jest uważany za lek bezpieczny, jeśli nie jest stosowany przewlekłe (wiele tygodni) [19]. w przeciwnym wypadku toksyczność jodu może doprowadzić do rozwoju takich objawów, jak: zapalenie spojówek, katar, bradykardia, nadciśnienie tętnicze, wzrost poziomu enzymów wątrobowych, dysfunkcja ośrodkowego układu nerwowego, kwasica metaboliczna spowodowana wzrostem poziomu wapnia we krwi oraz postępująca niewydolność nerek. Mimo że objawy te są rzadkie, wskazane jest dokładne monitorowanie pacjentów stosujących PVP-J w okresie dłuższym niż 2 tygodnie.

PVP-J, stosowany prawidłowo, nie prowadzi do uszkodzenia komórek, nawet w stężeniu 10%. Jednak stosowany w połączeniu z detergentami (np. płynne mydła) może mieć działanie cytotoksyczne, lecz dotyczy to ran. Na nienaruszonej skórze takiego efektu nie dostrzeżono [20].

Przeciwwskazaniem do stosowania PVP-J jest stwierdzona wcześniej alergia na ten związek, ciąża, nie powinien być też stosowany u kobiet karmiących piersią.

CEL PRACY

Celem pracy była ocena skuteczności działania przeciwbakteryjnego 0,5% jodowanego powidonu stosowanego jako chłodziwa podczas zabiegu skalingu i polishingu ultradźwiękowego u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia.

MATERIAŁY I METODY

Przedmiotem badań było 30 pacjentów obojga płci, w wieku od 25 do 78 lat, śr wieku 58,3 lat. Byli to pacjenci ogólnie zdrowi, u których nie stwierdzono przeciwwskazań ogólnych i miejscowych do wykonania zabiegu skalingu (usunięcia złogów nazębnych) i polishingu (polerowania powierzchni zębów) ultradźwiękowego. w ciągu trzech miesięcy przed i w czasie badania nie mogli oni przyjmować leków wpływających na mikroflorę lub odpowiedź immunologiczno-zapalną. Kwalifikacja do zabiegu następowała na podstawie rozpoznania przewlekłego zapalenia przyzębia oraz obecności miękkich i twardych złogów nazębnych nad- i poddziąsłowych.

W fazie wstępnej leczenia u każdego z pacjentów wykonano skaling i polishing zarówno nad-, jak i poddziąsłowy. Do tego zabiegu zastosowano skaler ultradźwiękowy firmy Satelec, wyposażony w przetwornik z wkładem tytanowym, umożliwiający połączenie go z pompą perystaltyczną do zastosowania płynów antyseptycznych (jako chłodziwa) w leczeniu chorób przyzębia.

Instruktaż higieny odbywał się dwa tygodnie przed wykonaniem zabiegu. Proponowano pacjentom naukę szczotkowania metodą roll oraz zwrócono szczególną uwagę na stosowanie nici międzyzębowych oraz szczoteczek międzyzębowych.

Po wykonanym zabiegu pacjenci nie płukali jamy ustnej wodą.

Materiał do badania mikrobiologicznego pobierano z 33 kieszonek przyzębnych o głębokości 4-7 mm. Dokonano tego za pomocą systemu Perio-bac® firmy Densply Detrey. Po odizolowaniu od śliny badanej okolicy zęba tamponami ligniny wkładano pęsetą papierowy ćwiek do dna kieszonki i pozostawiano go na około 20 sekund, następnie wkładano go do fiolki transportowej wypełnionej PBS (zbuforowany fizjologiczny roztwór soli wraz z chlorkiem wapnia i chlorkiem magnezu o pH 7,4) (Biomed, Polska) i przesyłano do laboratorium w czasie do 2 godzin (przed transportem przechowywano w temp. 4°C). w laboratorium bakterie wykrywano metodą multiplex PCR (łańcuchowa reakcja polimeryzacji, używana do amplifikacji sekwencji DNA).

Pierwszym etapem badania była izolacja bakteryjnego DNA, której głównym celem jest uzyskanie z maksymalną wydajnością wysokocząsteczkowego DNA, przy jednoczesnym oczyszczeniu go z białek i inhibitorów enzymów, które mogą utrudniać kolejne etapy procedury PCR. Używano do tego zestawu QIA amp® DNA Mini Kit (Qiagen, Niemcy). Przed

przystąpieniem do izolacji próby wytrząsano przy użyciu wytrząsarki przez ok. 60 sekund, następnie 1 ml płynu z zawiesiną bakteryjną przenoszono do 1,5 ml czystych probówek Eppendorfa. Następnie dodawano 180 µl buforu ATL oraz 20 µl proteinazy K. Zawiesinę mieszano, po czym pozostawiano w 56°C do inkubacji na 1–3 godziny (podczas inkubacji worteksowano 2–3 razy na godzinę). Następnie dodawano 200 µl buforu AL, inkubowano 10 minut w 70°C, po czym dodawano 200 µl 96% etanolu, mieszano i całość przenoszono na kolumnę, którą wirowano 8000 rpm. Kolumnę przemywano 500 µl AW1 oraz 500 µl AW2. Pozostałe na kolumnie DNA rozpuszczano w 200 µl buforu AE.

Kolejnym etapem było przeprowadzenie identyfikacji bakterii: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* i *Prevotella intermedia* metodą multiplex PCR. w tym celu sporządzano mieszaninę reakcyjną w skład której wchodziły startery zawierające sekwencje specyficzne dla tych trzech drobnoustrojów.

Dla *A.a.* był to starter AA2 (5' CTT TGC ACA TCA GCG TCA GTA CAT CCC CAA GG 3'), którego produktami są odcinki 253 par zasad (bp) [21].

Starter BINT (5'TCC GCA TAC GTT GCG TGC ACT CAA G 3') jest specyficzny dla *P. intermedia*, jego produkty to odcinki 163 par zasad [21].

Starter BGING (5' TAC ATA GAA GCC CCG AAG GAA GAC G 3') jest charakterystyczny dla *P. gingivalis*, a jego produktami są fragmenty o długości 527 par zasad (tab. VIII.) [21].

W mieszaninie PCR występował jeszcze jeden składnik – starter E (5' CGT GCC AGC AGC CGC GGT AAT ACG 3'), zawierający wspólne sekwencje dla wszystkich trzech bakterii [21]. Mieszanina PCR zawierała 100 mM Tris-HCl (pH 8,3), 1,5 mM MgCl₂, 0,3 mM każdego nukleotydu (dNTP), 10 pM E, 10 pM AA2, 10 pM BINT, 10 pM BGING, 2,5 u polimerazy Taq (Eppendorf, Niemcy) oraz 20 ng DNA. w sumie w każdej próbówce (o pojemności 0,2 ml) znajdowało się 50 µl mieszaniny reakcyjnej. Profil termiczny procesu przeprowadzono w termocyklerze Mastercycler gradient (Eppendorf, Niemcy) (ryc.15.). Obejmował on proces denaturacji — 94°C/1 min, przyłączania starterów — 70°C/1 min oraz elongacji — 72°C/1 min. Cykle były powtarzane 30 razy. Podczas pierwszego cyklu etap denaturacji trwał 10 minut, natomiast podczas ostatniego cyklu do 10 minut przedłużono etap polimeryzacji.

Efektywność izolacji DNA oceniano elektroforetycznie w 2% żelu agarozowym, pod wpływem stałego pola elektrycznego o napięciu 80 V, w czasie 90 minut.

Kolejnym etapem była wizualizacja wyników. Do tego celu zastosowano urządzenie Gel Doc 2000 (Bio-Rad, USA). Fragmenty DNA porównywano z markerem M 100–1000 (DNA – Gdańsk, Polska).

Materiał do badania mikrobiologicznego pobierano: przed podjęciem leczenia, 10 minut po zabiegu, 7 i 30 dni po usunięciu złogów nazębnych.

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą programu STATISTICA 6.0. Do oceny zmian w detekcji poszczególnych rodzajów bakterii przy kieszonkach przyzębnych zastosowano test Q Cochra. Dopuszczalne prawdopodobieństwo błędu pierwszego rodzaju (poziom istotności testu) przyjęto równe 0,05.

WYNIKI

Tabele 1, 2 i 3 przedstawiają liczbę i procent kieszonek przyzębnych, w których zidentyfikowano bakterie *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* oraz *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Ze względu na niewielką detekcję bakterii *Porphyromonas gingivalis* (tab. 1) zaniechano analizy statystycznej częstości występowania tej bakterii.

Bakterie *Prevotella intermedia* (tab. 2) przed rozpoczęciem leczenia izolowano w 75,76% badanych kieszonek. Związek ten spowodowało zmniejszenie odsetka kieszonek przyzębnych, w których zidentyfikowano te bakterie tuż po wykonanym skalingu i polishingu o ponad połowę - bakterie te zidentyfikowano w 33,33% ($p < 0,001$). Odsetek kieszonek przyzębnych, w których zidentyfikowano *Prevotella intermedia* zmniejszył się również istotnie statystycznie po tygodniu od zastosowania skalingu i polishingu w porównaniu ze stanem pierwotnym (45,45%), ($p < 0,01$). Po miesiącu od wykonania zabiegu procent wyżej wymienionych kieszonek wzrósł na tyle, że różnica w stosunku do wartości wyjściowej stała się nieistotna statystycznie.

Bakterie *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (tab. 3) przed wykonaniem zabiegu wykryto w 27,27% badanych kieszonkach przyzębnych. Bezpośrednio po wykonaniu skalingu i polishingu ultradźwiękowego z 0,5% PVP-J odsetek tych kieszonek zmniejszył się do 15,15%. Jednakże w tydzień po zabiegu mikroorganizmy te wyizolowano z 30,30%, a miesiąc po zabiegu - z 21,21% badanych kieszonek przyzębnych. Oceny istotności statystycznej różnic dokonano przy założeniu prawdopodobieństwa popełnienia błędu pierwszego rodzaju na poziomie istotności $p < 0,05$.

OMÓWIENIE

Pierwsze wzmianki dotyczące skuteczności jodowanego powidonu używanego w jamie ustnej pojawiły się w piśmiennictwie w drugiej połowie lat 80-tych. Wszystkie te badania potwierdzają korzystne działanie PVP-J na przyzębie.

W badaniach Rosling'a i wsp. [22] metodą immunofluorescencji po 12 miesiącach obok głębokości kieszonek oraz stopnia uzysku przyczepu łącznotkankowego badano również obecność w kieszonkach przyzębnych bakterii *Actinobacillus actinomycetemcomitans* i *Porphyromonas gingivalis*. Wykryto je w 5 z 8 kieszonek o początkowej głębokości większej lub równej 7 mm, w których zanotowano postępujące zapalenie przyzębia oraz w 8 z 28 kieszonek nie wykazujących zmian w położeniu przyczepu łącznotkankowego. Nie wykryto ich w żadnej z kieszonek, w których zaobserwowano uzysk przyczepu łącznotkankowego. Wyniki badań własnych, które obejmowały ocenę występowania bakterii w kieszonkach przyzębnych płytszych od 7 mm, wykazały obecność bakterii *Actinobacillus actinomycetemcomitans* po miesiącu od wykonania zabiegów w 14 spośród 64 badanych kieszonek przyzębnych. Dla porównania przed zabiegami wykryto je w 15 kieszonkach.

O korzystnym spłycaniu kieszonek przyzębnych oraz uzysku przyczepu łącznotkankowego po zastosowaniu jodowanego powidonu podczas skaningu i polishingu świadczą również prace Christerssona i wsp. [23].

Forbasco i wsp. [24] i Rosling i wsp. [22] wykazali, że skaling i root planing z PVP-J daje podobne efekty lecznicze jak leczenie chirurgiczne.

O wpływie PVP-J na poprawę stanu klinicznego przyzębia u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia może świadczyć fakt, że może on być z powodzeniem stosowany u osób z zapaleniem przyzębia opornym na leczenie. Badania mikrobiologiczne przeprowadzone przez Collinsa i wsp. [25] wykonane u 30 pacjentów przed rozpoczęciem leczenia z zastosowaniem PVP-J wykazały u 11 z nich obecność w kieszonkach *Porphyromonas gingivalis*, podczas gdy po 6 tygodniach – tylko u 1.

Godną uwagi cechą PVP-J jest wąski zakres stężeń, przy którym zanotowano najwyższą aktywność. Wzrost działania przeciwbakteryjnego wcale nie rośnie bowiem ze wzrostem stężenia. Minimalne stężenie hamujące (MICs) PVP-J znajduje się w zakresie 2,5 a 5,0 g/l, natomiast minimalne stężenie bakteriobójcze (MBCs) — pomiędzy 2,5 a 10,0 g/l.

Maksymalne działanie przeciwbakteryjne PVP-J obejmuje jego stężenie w zakresie pomiędzy 10,0 a 25,0 mg/l [26]. Potwierdzają to badania Gocke'go i wsp. [16], w których inaktywacja gronkowców paradoksalnie wzrasta przy 0,1% stężeniu PVP-J, maleje natomiast przy stężeniu 10,0%. w tym badaniu wszystkie bakterie ginęły po 120 sekundach ekspozycji na 10 % PVP-J. Dlatego czas pracy końcówką ultradźwiękową w kieszonce przyzębnej podczas skaningu i polishingu z użyciem PVP-J i związany z tym całkowity czas przeznaczony na usunięcie złogów nazębnych u danego pacjenta nie pozostaje bez wpływu na skuteczność leczenia.

Również Berkelman i wsp. [27] wykazali, że rozcieńczenie 10% PVP-J w stosunku 1:2, 1:4, 1:10, 1:50 i 1:100 i w większości przypadków 1:1000 niszczyło *Staphylococcus aureus* i *Mycobacter chelonae* skuteczniej niż roztwór 10%. Natomiast przeciwko *Pseudomonas cepacia*, *Klebsiella pneumoniae* i *Streptococcus mitis* działał zarówno 10% PVP-J, jak i jego rozcieńczenia w stosunku 1:2, 1:4, 1:10, 1:50, 1:100 oraz 1:1000 po ekspozycji 30 s. Jedną z hipotez wyjaśniających to zjawisko mówi o tym, że rozcieńczenie PVP-J osłabia wiązania pomiędzy jodem a poliwinylpirolidonem, co skutkuje zwiększeniem stężenia wolnego jodu w roztworze, przez co zwiększa się aktywność przeciwbakteryjna roztworu [28].

W badaniach Rosling'a i wsp. [22], Christersson'a i wsp. [23], Grossi'ego i wsp. [29] oraz Forbasco i wsp. [24] PVP-J był używany w stężeniu 0,5%, natomiast w pracy Rosling'a i wsp. [30] zastosowano PVP-J o stężeniu 0,1%. Zarówno w stężeniu 0,1%, jak i 0,5% związek ten charakteryzował się skutecznością przeciwbakteryjną przeciwko *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* i *Porphyromonas gingivalis* [31].

Rzadkim skutkiem ubocznym związanym ze stosowaniem PVP-J jest uczulenie na ten związek (a właściwie na zawarty w nim jod), którego obawiają się zarówno lekarze, jak i pacjenci. Jednakże spośród 6050 pacjentów poddanych badaniom za pomocą testu skórno-plasterkowego,

jedynie 0,73% wykazało wrażliwość naskórkową [32]. Badania Lachapelle [33] obejmujące 500 pacjentów wykazały taką wrażliwość u 14 (2,8%) osób, lecz po zastosowaniu u nich celowanego testu opóźnionego (ROAT), okazało się, że prawdziwą skórą alergię kontaktową zanotowano tylko u 2 (0,4%) pacjentów. Dla porównania ryzyko reakcji anafilaktycznej zależnej od chlorheksydyny szacuje się na 1–2,5% [34-37].

Prawdopodobnie pierwszy przypadek wystąpienia u dziecka reakcji anafilaktycznej spowodowanej roztworem PVP-J (Betadine) został opisany przez Pedrosa i wsp. w 2005 roku [38]. Tak rzadko pojawiające się alergie na PVP-J wynikają z występowania jodu w postaci jodoforu [39]. Większość niepożądanych reakcji po zastosowaniu PVP-J jest związana z zawartym w nim jodem, o wiele rzadziej zdarzają się alergie na wielkocząsteczkowy poliwinylpyrolidon [40].

W naszych badaniach u 30 osób podczas leczenia nie stwierdzono ani jednego przypadku alergii na ten antyseptyk.

Skuteczność płynu antyseptycznego stosowanego jako chłodziwa podczas skalingu i polishingu ultradźwiękowego zależy nie tylko od właściwego działania „in vitro”, możliwości przyłączania się do struktur nabłonka wewnętrznego kieszonek i stopniowego uwalniania, ale także od zdolności penetracji do głębszych warstw płytki nazębnej.

Wyniki badań Fine i wsp. [41] wykazały, że różne środki antyseptyczne mogą niszczyć niemal wszystkie bakterie w postaci planktonowej, jednak działanie bakteriobójcze skierowane przeciwko mikroorganizmom znajdującym się w biofilmie może być zróżnicowane. Należałoby przeprowadzić badania pozwalające wyjaśnić problem, czy PVP-J działa tylko na formy planktonowe, czy również na bakterie bytujące w błonach biologicznych.

W świetle badań mikrobiologicznych, eradykacja bakterii z głębokich kieszonek przyzębnych nie jest możliwa po wykonaniu jedynie mechanicznego usunięcia złogów nazębnych. Konieczna jest dodatkowa terapia przeciwbakteryjna [42]. Taką terapię, przeprowadzoną poprzez przepłukiwanie kieszonek przyzębnych bez użycia dodatkowych narzędzi służących do mechanicznego usunięcia złogów nazębnych i polerowania zębów przeprowadził von Ohler i wsp. [43]. Wykonywali oni jednorazowo irygacje poddąślowe z 0,2% CHX i 0,05% PVP-J i oceniali redukcję liczby żywych bakterii (VF w %). w obu przypadkach była ona znaczna po tygodniu, ale spadek odsetka tych bakterii utrzymywał się po miesiącu tylko po irygacji PVP-J. Oba związki powodowały zmniejszenie ilości żywej flory poddąślowej, lecz PVP-J charakteryzował się dłuższym utrzymywaniem się tego efektu.

Charakterystyczna dla wyników uzyskanych w badaniach własnych jest bardzo rzadka wykrywalność bakterii *Porphyromonas gingivalis* (w 1 kieszonce przyzębnej spośród 33, co stanowi 3,03 %). Wiadomo, że występują one w większych liczbach nawet u osób zdrowych. Tran i Rudney [45] wykrywali je z prób naddąślowych w ilości 11/20 prób, natomiast z poddąślowych — 13/20. Wśród pacjentów z periodontitis wykrywalność wyniosła 7/10 kieszonek przyzębnych.

W pracy Tran'a i Rudney'a [44] wykrywalność bakterii *Actinobacillus*

actinomycescomitans wyniosła 6/20 u osób ze zdrowym przyzęciem naddziąsłowo, co stanowi 30%, poddziąsłowo — 4/20, co stanowi 20%, natomiast u osób z przewlekłym zapaleniem przyzębia — 7/10, czyli 70%. Detekcja tych mikroorganizmów w naszych badaniach wyniosła 27,27%. Oczywiście badań tych nie można porównywać bezpośrednio, gdyż bakterie w badaniach własnych były izolowane tylko z kieszonek przyzębnych o głębokości 4–7 mm.

W badaniach Bon-Kyu i wsp. [45] bakterie *Porphyromonas gingivalis* były obecne w 116 kieszonkach przyzębnych u 29 pacjentów, czyli w ponad 96% u osób z przewlekłym zapaleniem przyzębia, *Actinobacillus actinomycescomitans* wykryto zaś u 74%, natomiast *Prevotella intermedia* u 71% pacjentów. Autorzy, badając szczeliny dziąsłowe, uzyskali odpowiednio wyniki: 18%, 1% i 2%. w badaniach własnych u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia odpowiednio dla wyżej wymienionych bakterii detekcja wyniosła 3,03%, 27,27% i 75,76%.

W każdej z wyżej wymienionych prac, spośród trzech gatunków bakterii uznawanych za tzw. Wielką Trójkę Rataitschaka najczęściej izolowano właśnie *Porphyromonas gingivalis*. Trudno określić przyczynę tak niskiej wykrywalności tej bakterii w badaniach własnych. Być może przyczyny należałoby szukać w metodzie identyfikacji bakterii lub w różnicy głębokości badanych kieszonek przyzębnych. Różnice w otrzymanych wynikach mogą mieć również związek z odmiennymi technikami pobierania próbek płytki podczas wprowadzania ćwieków bibuły filtracyjnej do kieszonki (liczba silnie przyczepiających się organizmów jest niewielka), transportem, różnymi miejscami pobrania materiału lub różnymi metodami identyfikacji, różnicą badanych populacji lub różnicą w składzie odczynników stosowanych do izolacji bakteryjnego DNA. Pierwszą hipotezę obala fakt, że metoda PCR pozwala jednak na wykrycie nawet jednego drobnoustroju. Ostatniej nie można jednoznacznie potwierdzić, gdyż dokładny skład większości odczynników jest strzeżony tajemnicą producenta.

Należy pamiętać o tym, że środki antyseptyczne stosowane w jamie ustnej stanowią jedynie uzupełnienie zasadniczej terapii. Podstawę leczenia zapalenia przyzębia oraz utrzymywania wyników leczenia stanowi przede wszystkim redukcja ilości nad- i poddziąsłowej płytki bakteryjnej. Jednakże nawet po dokładnym usunięciu złogów nazębnych w kieszonkach mogą pozostać bakterie w ilościach resztkowych. Wówczas chore miejsca znów zostają szybko zasiedlone przez mikroorganizmy, co doprowadza do dalszej destrukcji tkanek. Pewną ilość środków przeciwbakteryjnych zawartych w pastach do zębów i płynach do płukania jamy ustnej pacjent jest w stanie aplikować sam, jednak ze względu na zbyt niskie stężenie preparatów docierających do głębokich kieszonek przyzębnych, nie są one skuteczne w zaawansowanej chorobie przyzębia.

Stanowią one efektywny, bezpieczny, praktyczny i przystępny środek służący do kontroli poddziąsłowej płytki nazębnej [46]. Jednak nie można stosować tych związków w każdym przypadku, bez uprzedniego prawidłowego zdiagnozowania pacjenta [47]. Zrozumienie ograniczeń i korzyści związanych z użyciem antyseptyków pozwoli zoptymalizować ich przydatność w zwalczaniu infekcji kieszonek przyzębnych [48].

Tab. 1. Liczba i procent kieszonek przyzębnych, w których zidentyfikowano bakterie *Porphyromonas gingivalis*.

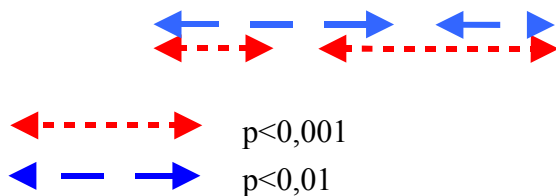
Tab. 1. The number and percent periodontal pockets with *Porphyromonas gingivalis*.

grupa/ group	liczba kieszonek/ numbers of pockets	przed zabiegiem/ before the operation	10 minut po zabiegu/ 10 minuts after the operation	7 dni po zabiegu/ 7 days after the operation	30 dni po zabiegu/ 30 days after the operation	badanie 0-1/ examination 0-1	badanie 0-2/ examination 0-2	badanie 0-3/ examination 0-3	badanie 1-2/ examination 1-2	badanie 1-3/ examination 1-3	badanie 2-3/ examination 2-3	test Q Cochran/ test Q Cochran
0,5% PVP-J	33	1 3,03%	2 6,06%	2 6,06%	0 0,00%	0,563703	0,317311	0,317311	1,000000	0,157300	0,157300	0,391627

Tab. 2. Liczba i procent kieszonek przyzębnych, w których zidentyfikowano bakterie *Prevotella intermedia*.

Tab. 2. The number and percent periodontal pockets with *Prevotella intermedia*.

grupa/ group	liczba kieszonek/ numbers of pockets	przed zabiegiem/ before the operation	10 minut po zabiegu/ 10 minuts after the operation	7 dni po zabiegu/ 7 days after the operation	30 dni po zabiegu/ 30 days after the operation	badanie 0-1/ examination 0-1	badanie 0-2/ examination 0-2	badanie 0-3/ examination 0-3	badanie 1-2/ examination 1-2	badanie 1-3/ examination 1-3	badanie 2-3/ examination2-3	Q Cochran's test test Q Cochrana/
0,5% PVP-J	33	25 75,76%	11 33,33%	15 45,45%	25 75,76%	0,000465	0,007527	1,000000	0,102471	0,000183	0,007527	0,000009



Tab. 3. Liczba i procent kieszonek przyzębnych, w których zidentyfikowano bakterie *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Tab. 3. The number and percent periodontal pockets with *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

grupa/ group	liczba kieszonek/ numbers of pockets	przed zabiegiem/ before the operation	10 minut po zabiegu/ 10 minutes after the operation	7 dni po zabiegu/ 7 days after the operation	30 dni po zabiegu/ 30 days after the operation	badanie 0-1/ examination 0-1	badanie 0-2/ examination 0-2	badanie 0-3/ examination 0-3	badanie 1-2/ examination 1-2	badanie 1-3/ examination 1-3	badanie 2-3/ examination 2-3	Q Cochran's test test Q Cochran's
0,5% PVP-J	33	9 27,27%	5 15,15%	10 30,30%	7 21,21%	0,157300	0,781511	0,527090	0,131669	0,414217	0,405381	0,407042

PIŚMIENNICTWO

1. Slots J., Braad L., Wikstrom M., Dahlen G.: The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J. Clin. Periodontol* 1986, 13, 570–577.
2. Zambon J.J., Microbiology of periodontal disease. In: Genco R.J., Goldman H.M., Cohen D.W., ed. *Contemporary periodontics*. St. Louis: Mosby, 1990, 147–160.
3. Zambon J.J., Nisengard R.J. Black-pigmenting bacteria. In: Nisengard R.J., Newman M.G., ed. *Oral microbiology and immunology*. Philadelphia: Saunders, 1994, 212–217.
4. Zambon J.J.: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. *J Clin. Periodontol*, 1985, 12, 1–20.
5. Baehni P.C., Takeuchi Y.: Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Dis*. 2003, 9, 23–29.
6. Schreier H., Erdos G., Reimer K., König W., Fleischer W.: Molecular effects of povidone-iodine on relevant microorganisms: An electron-microscopic and biochemical study. *Dermatol* 1997, 195, 111–117.
7. Fleischer W., Reimer K.: Povidone-iodine in antiseptics— state of the art. *Dermatol*, 1997, 195, 3–9.
8. Amin M.S., Harrison R.L., Benton T.S., Roberts M., Weinstein P.: Effect of povidone-iodine on *Streptococcus mutans* in children with extensive dental caries. *Pediatr Dent*. 2004, 26, 5–10.
9. Rahn R., Schneider S., Diehl O., Schafer V., Shan P.M.: Preventing post-treatment bacteremia: comparing topical povidone-iodine and chlorhexidine. *J Am Dent Assoc* 1995, 126, 1145–1148.
10. Rahn R.: Review presentation on povidone-iodine antiseptics in the oral cavity. *Postgrad Med J* 1993, 69, 84–89.
11. Hierholzer G., Reimer K., Weissenbacher E.R.(eds): *Topische Infektionstherapie und Prophylaxe. Aktueller Stellenwert von PVP-Iod*. Stuttgart, Thieme, 1996.
12. Kawana R., Kitamura T., Nakagomi O., Matsumoto I., Arita M., Yoshihara N., Yanagi K., Yamada A., Morita O., Yoshida Y., Furuncja Y., Chiba S.: Inactivation of human viruses by povidone-iodine in comparison with other antiseptics. *Dermatol* 1997, 195, 29–35.
13. Kunisada T., Yamada K., Oda S., Hara O.: Investigation of the efficacy of povidone-iodine against antiseptic-resistant species. *Dermatol* 1997, 195, 14–18.
14. König B., Reimer K., Fleischer W., König W: Effect of Betaisodona® on parameters of host defense. *Dermatol* 1997, 195, 42–48.
15. Gottardi W.: Iodine iodine compounds; In Block SS (ed): *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1983, 183–196.
16. Gocke D.J., Ponticas S., Pollack W.: In vitro studies of the killing of clinical isolates by povidone-iodine solutions. *J Hosp Infect* 1985, 6, 59–66.

17. Lanker-Klossner B., Widmem H.R., Frey F.: Nondevelopment of resistance by bacteria during hospital use of povidone-iodine. *Dermatol* 1997, 195, 10–13.
18. Clark W.B., Magnusson I., Walker C.B., Marks R.G.: Efficacy of Perimed® antibacterial system on established gingivitis (1). Clinical results. *J. Clin. Periodontol.* 1989, 16, 630–635.
19. Andrews L.W.: Commentary: The perils of povidone-iodine use. *Ostomy/ Wound Management* 1994, 40, 68–73.
20. Neider R.: Cytotoxicity and sensitization of povidone-iodine and other frequently used anti-infective agents. *Dermatol* 1997, 195, 89–92.
21. Garcia L., Tercero J.C., Legido B., Ramos J.A., Alemany J., Sanz M.: Rapid detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* and *Porphyromonas gingivalis* by multiplex PCR. *J. Periodont. Res.* 1998, 33, 59–64.
22. Rosling B.G., Slots J., Christersson L.A., Gröndahl H.G., Genco R.J.: Topical antimicrobial therapy and diagnosis of subgingival bacteria in the management of inflammatory periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 1986, 13, 975–981.
23. Christersson L.A., Rosling B.G., Dunford R., Wikesjö U.M., Zambon J.J., Genco R.J.: Monitoring of subgingival *Bacteroides gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the management of advanced periodontitis. *Adv. Dent. Res.* 1988, 2, 382–388.
24. Forbasco A., Galetti R., Spinato S., Colao P., Casolari Ch.: a comparative study of a surgical method and scaling and root planing using the Odontoson. *J Clin Periodontol* 1996, 23, 611–614.
25. Collins J.G., Offenbacher S., Arnold R.R.: Effects of combination therapy to eliminate *Porphyromonas gingivalis* in refractory periodontitis. *J. Periodontol.* 1993, 64, 998–1007.
26. Lacey R.W.: Antibacterial activity of povidone-iodine towards non-sporing bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 1979, 46, 443–449.
27. Berkelman R.L., Holland B.W., Anderson R.L.: Increased bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions. *J Clin Microbiol* 1982, 15, 635–639.
28. Truman J.R.: The halogens. p. 171–183. In W.B.Hugo (ed.) *Inhibition and destruction of the microbial cell.* Academic Press, Inc., London, 1971, 171-183.
29. Grossi G., Skrepcinsky F.B., De Caro T., Robertson D.C., Ho A.N., Dunford R.G., Genco R.J.: Treatment of periodontal diseases reduces glycated hemoglobin. *J. Periodontol.* 1997, 68, 713–719.
30. Rosling B., Hellström M.K., Ramberg P., Socransky S.S., Lindhe J.: The use of PVP-iodine as an adjunct to non-surgical treatment of chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 2001, 28, 1023–1031.
31. Caufield P.W., Allen D.N., Childers N.K.: In vitro susceptibilities of suspected periodontopathic anaerobes as determined by membrane transfer assay. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1987, 31, 1989–1993.
32. Pohl-Markl H, Neumann R.: Polyvinylpyrrolidon-Jod (PVP-Jod) – seine Bedeutung für die

- Dermatologie. z Hautkr 1988, 63, 1009–1015.
33. Lachapelle J.M.: Allergic contact dermatitis from povidone-iodine: a re-evaluation study. *Contact Dermat* 2005, 52, 9–10.
 34. Bechgaard E., Ploug E., Hjorth N.: Contact sensitivity to chlorhexidine? *Contact Dermatitis* 1985, 13, 53–55.
 35. Lasthein A.B., Brandrup F.: Contact dermatitis from chlorhexidine. *Contact Dermat* 1985, 13, 307–309.
 36. Osmundsen P.E.: Contact dermatitis to chlorhexidine. *Contact Dermat* 1982, 8, 81–83.
 37. Perrenoud D., Bircher A., Hunziker T, Suter H., Bruckner- Tuderman L., Stager J., Thurlimann W., Schmid P., Suerd A., Hunziker N.: Frequency of sensitization to 13 common preservatives in Switzerland. *Contact Dermat* 1994, 30, 276–279.
 38. Pedrosa C., Costa H., Oliveira G., Romariz J., Praca F.: Anaphylaxis to povidone in a child. *Pediatr Allergy Immunol.* 2005, 16, 361–362.
 39. S.K., Zhai H., Maibach H.I.: Allergic contact dermatitis from iodine preparations: a conundrum. *Contact Dermat* 2005, 52, 184–187.
 40. Adachi A., Fukunaga A., Hayashi K., Kunisada M., Horikawa T.: Anaphylaxis to polyvinylpyrrolidone after vaginal application of povidone-iodine. *Contact Dermat* 2003, 48, 133–136.
 41. Fine D.H., Furgang D., Burnett M.L.: Comparative antimicrobial activities of antiseptic mouthrinses against isogenic planctonic and biofilm forms of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Periodontol* 2001, 28, 697–700.
 42. Slots J.: Update on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease. *J Int Acad Periodontol* 1999, 1, 121–126.
 43. Ohler C., Weiger R., Decker E., Schlagenhauf U., Brex M.: The efficacy of a single pocket irrigation on subgingival microbial vitality. *Clin Oral Investig.* 1998, 2, 84–90.
 44. Tran S.D., Rudney J.D.: Improved multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA gene primers for simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, and *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Microbiol* 1999, 37, 3504–3508.
 45. Bon-Kyu Ch., Seong-Hee P., Yun-Jung Y., Seong-Ho Ch., Jung-Kiu Ch., Kyoo-Sung Ch., Chong-Kwan K.: Detection of major putative periodontopathogens in Korean advanced adult periodontitis patient using a nucleic acid-based approach. *J Periodontol* 2000, 71, 1387–1394.
 46. Slots J.: Selection of antimicrobial agents in periodontal therapy. *J Periodontal Res.* 2002, 37, 389–398.
 47. Addy M., Llewelyn J.: Use of chlorhexidine gluconate and povidone iodine mouthwashes in the treatment of acute ulcerative gingivitis. *J. Clin. Periodontol* 1978, 5, 272–277.
 48. Jorgensen M.G., Slots J.: Responsible use of antimicrobials in periodontics. *J Calif Dent Assoc.* 2000, 28, 185–193.