

Az orális patogén mikroorganizmusok redukálásának lehetőségei, a klór-dioxid fogászati alkalmazhatósága

Doktori értekezés

Dr. Herczegh Anna

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Konzulensek: Dr. Lohinai Zsolt egyetemi docens, Ph.D.
Dr. Ghidán Ágoston tudományos munkatárs, Ph.D.

Hivatalos bírálók: Dr. Márton Krisztina egyetemi docens, Ph.D.
Dr. Tóth Ákos biológus főtanácsos, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke:
Dr. Hermann Péter egyetemi tanár, Ph.D.

Szigorlati bizottság tagjai:
Dr. Rózsa Noémi, egyetemi docens, Ph.D.
Dr. Csire Márta laborvezető, Ph.D.

Budapest

2014

Tartalomjegyzék

1	Rövidítések	5
2	Táblázatok és ábrák jegyzéke.....	8
3	Bevezetés	11
3.1	A klór-dioxid	12
3.1.1	A klór-dioxid felfedezése	12
3.1.2	A klór-dioxid szerkezete	12
3.1.3	A klór-dioxid tulajdonságai	14
3.1.4	A klór-dioxid előállítása	17
3.1.4.1	A klór-dioxid hagyományos előállítása	17
3.1.4.2	A „stabilizált klór-dioxid” előállítása	18
3.1.4.3	Az aktív klór-dioxid előállítása	18
3.1.4.4	Hipertiszta klór-dioxid előállítása.....	19
3.1.5	A klór-dioxid alkalmazási területei.....	19
3.1.5.1	A klór-dioxid ipari alkalmazása	19
3.1.5.2	A klór-dioxid humán gyógyászati alkalmazása.....	20
3.1.6	A klór-dioxid összehasonlítása fogászati antiszeptikus szerekkel.....	22
3.2	Fogászatban használatos antiszeptikus szerek.....	23
3.2.1	Fluoridok.....	24
3.2.1.1	Az ónfluorid antibakteriális hatása	24
3.2.1.2	Az amin-fluorid antibakteriális hatása	25
3.2.2	A tej, mint kariosztatikus hatású anyag	26
3.2.3	D-aminosavak	26
3.2.4	Antiszeptikus szájvizek	27
3.2.4.1	Klórhexidin.....	27

3.2.4.2	Listerine	28
3.2.5	Antiszeptikus endodonciai szerek.....	29
3.2.5.1	Nátrium-hipoklorit	29
3.2.5.2	Klórhexidin.....	30
3.2.5.3	Kalcium-hidroxid	30
3.3	A biofilm.....	31
3.3.1	A szájüreg normál flórája	34
3.3.2	A szájüreg patogén flórája.....	34
3.3.3	A fertőzött gyökércsatorna és a periapikális tér mikrobaflórája	35
4	Célkitűzések	37
5	Anyag és módszer.....	39
5.1	Amin-fluorid és SnF ₂ tartalmú fogpaszta és szájvíz hatásának vizsgálata a nyál egyes mikroorganizmusaira	39
5.2	A fluorozott tej hatásának vizsgálata az egyes mikroorganizmusokon	39
5.3	<i>S. mutans</i> törzsek genetikai rokonságának meghatározása	40
5.4	A D-aminosavak biofilm képződés gátló és biofilm bontó képességének vizsgálata ..	42
5.5	A klór-dioxid oldat orális patogén mikroorganizmusokon kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal	43
5.6	A klór-dioxid oldat biofilm oldó, elimináló képességének összehasonlítása antiszeptikumokkal	44
5.7	A klór-dioxid oldattal történő egyszeri öblítés hatásának vizsgálata a nyál összcsíraszámában és a <i>S. mutans</i> számban bekövetkező változáson	44
5.8	A klór-dioxid hatásának összehasonlítása standard gyökércsatorna irrigálószerekkel	45
5.9	A klór-dioxid antibakteriális hatásának változása dentinpor jelenlétében	46
5.10	A klór-dioxid szövetoldó hatásának vizsgálata	48
5.11	A klór-dioxid CHX-nel, illetve EDTA-val történő kombinált alkalmazásának vizsgálata	49
6	Eredmények	51

6.1	Amin-fluorid és SnF ₂ tartalmú fogpaszta és szájvíz hatásának eredményei a nyál egyes mikroorganizmusaira.....	51
6.2	A fluorozott tej hatásának eredményei az egyes mikroorganizmusokon.....	51
6.3	<i>S. mutans</i> törzs DNS mintázata és megbetegedést okozó képessége közötti összefüggés vizsgálatának eredményei.....	57
6.4	A D-aminosavak biofilm képződést gátló, illetve biofilm bontó képességének eredményei.....	60
6.5	A klór-dioxid oldat orális patogén mikroorganizmusokon kifejtett hatásának eredményei.....	61
6.6	A klór-dioxid oldat biofilm oldó, elimináló képességének eredményei <i>in vitro</i>	65
6.7	A klór-dioxid oldattal történő egyszeri öblítés hatásának eredménye <i>in vivo</i>	66
6.8	A klór-dioxid hatásának összehasonlítása standard gyökércsatorna irrigálószerrel.....	69
6.9	A klór-dioxid antibakteriális hatásának változása dentinpor jelenlétében.....	72
6.10	A ClO ₂ szövetoldó hatásának eredménye.....	77
6.11	A klór-dioxid interakciója CHX-nel , illetve EDTA-val.....	78
7	Megbeszélés.....	83
7.1	Amin-fluorid és SnF ₂ tartalmú fogpaszta és szájvíz hatása.....	83
7.2	A fluorozott tej hatása a kariogén flórára.....	83
7.3	<i>S. mutans</i> DNS struktúrájának jelentősége.....	84
7.4	A D-aminosavak hatása.....	85
7.5-7.6	A klór-dioxid oldat orális patogén mikroorganizmusokon és biofilmen kifejtett elimináló hatása <i>in vitro</i>	85
7.7	A klór-dioxid oldattal történő egyszeri öblítés hatása <i>in vivo</i>	89
7.8	A klór-dioxid hatásának összehasonlítása standard gyökércsatorna irrigálószerrel.....	89
7.9	A dentinpor jelentősége az antibakteriális hatás változásában.....	93
7.10	A klór-dioxid szövetoldó hatása.....	95
7.11	A klór-dioxid kombinált alkalmazása más endodonciai irrigálószerrel.....	96
8	Következtetések.....	98

9	Összefoglalás	100
10	Irodalomjegyzék.....	102
11	Saját publikációk jegyzéke.....	116
11.1	Értekezéssel kapcsolatos közlemények	116
11.2	Értekezéssel nem kapcsolatos közlemények.....	116
12	Köszönetnyilvánítás.....	118

1 Rövidítések

AmF -- amin-fluorid

ANOVA -- analysis of variance

API rapid ID 32 Strep diagnostic teszt -- application programming interface rapid identification 32 Streptococcus diagnostic teszt

ATCC -- American Type Cultur Collection

BHI -- Brain Heart Infusion

C. albicans -- *Candida albicans*

Ca(OH)₂ -- kalcium-hidroxid

CHX -- klórhexidin

Cl₂ -- klór

ClO₂ -- klór-dioxid

Cl⁻ -- klorid

ClO₂⁻ -- klorit

ClO₃⁻ -- klorát

DMFT-- Decayed, Missing, Filled Teeth

D₂O -- nehézvíz

EPS -- extracelluláris poliszacharid

Fe²⁺ -- vas ion

F⁻ -- fluorid

GI -- gingivalis index

GSH -- glutation

HCl -- sósav

H₂O₂ -- hidrogén-peroxid

HClO -- hipoklórossav

H₂SO₃ – kénsav

HPLC /MS -- High Performance Liquid Chromatography/ Mass spectroscope

KClO₃ -- kálium-klorát

MFP -- monofluoro foszfát

Mn²⁺ -- mangán ion

MSA -- Mitis Salivarius Agar

MTAD -- mixture of tetraciklin, acid, detergent

NaCl – nátrium-klorid (konyhasó)

NaClO₂ -- nátrium-klorit

NaClO₃ -- nátrium-klorát

NaF -- nátrium-fluorid

NaOCl -- nátrium-hipoklorit

Na₂PO₄F -- nátrium-monofluorofoszfát

NMR -- Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy

O₃ -- ózon

PCA -- para-klóroanilin

PBS -- fosztát puffer

PFGE -- pulsed-field gel electrophoresis

ppm -- part per million

PSR index -- Periodontal Screening and Recording

RA -- Rogosa agar

SDA -- Sabouraud's Dextrose agar

SEM -- scanning electron microscopy

SH -- tiol

SnF₂ -- ónfluorid

THB -- Todd Hewitt Broth

2 Táblázatok és ábrák jegyzéke

1. táblázat A NaF és a Na ₂ PO ₄ F hatása a <i>Streptococcus mutans</i> csíraszám változásán pH 6,5 foszfát pufferban 2 órás behatás után.....	52
2. táblázat A NaF és a Na ₂ PO ₄ F hatása a <i>Streptococcus mutans</i> csíraszám változásán 1,5%-os UHT tejben 2 órás behatás után.	53
3. táblázat A NaF, a Na ₂ PO ₄ F és a fenol hatása a <i>Streptococcus mutans</i> 5 és 10 perces expozíció közötti túlélésére.....	54
4. táblázat Dezinficiáló szerek statisztikai kereszt táblája a különböző teszt periódusokban, dentinpor nélkül, dentinporral és egy órás dentinporral történő előinkubálás után.....	75-76
1. ábra A klór-dioxid szerkezeti képlete	13
2. ábra Cisztein szerkezeti képlete	15
3. ábra CHX szerkezeti képlete.....	27
4. ábra A biofilm képződés mechanizmusa	32
5. ábra <i>Streptococcus mutans</i> növekedési görbéje NaF különböző koncentrációinak jelenlétében	55
6. ábra <i>Candida albicans</i> növekedési görbéje NaF különböző koncentrációinak jelenlétében	56
7. ábra <i>Streptococcus mutans</i> növekedési görbéje MFP különböző koncentrációinak <i>Streptococcus mutans</i> jelenlétében	56
8. ábra <i>Candida albicans</i> növekedési görbéje MFP különböző koncentrációinak jelenlétében.....	57
9. ábra <i>Streptococcus mutans</i> filogenetikai mintázata káriesz aktív csoportban	58
10. ábra <i>Streptococcus mutans</i> filogenetikai mintázata káriesz mentes csoportban.....	58
11. ábra <i>Streptococcus mutans</i> filogenetikai mintázata gingivitiszes csoportban.....	59
12. ábra <i>Streptococcus mutans</i> filogenetikai mintázata a három csoport összevetésével.....	59
13. ábra Biofilm képződés gátlása.....	60

14.ábra A ClO ₂ oldat <i>S. mutans</i> -on kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal.....	61
15.ábra A ClO ₂ oldat <i>L. acidophilus</i> -on kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal.....	62
16.ábra A ClO ₂ oldat <i>E. faecalis</i> -on kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal.....	62
17.ábra A ClO ₂ <i>C. albicans</i> -on kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal.....	63
18. ábra A ClO ₂ <i>V. alcalescens</i> -en kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal.....	64
19. ábra. A ClO ₂ <i>E. corrodens</i> -en kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal.....	64
20. ábra. A ClO ₂ <i>A. odontolyticus</i> -on kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal.....	65
21. ábra A ClO ₂ , CHX és Listerine® biofilm oldó kapacitása.....	66
22. ábra A ClO ₂ , CHX és Listerine® biofilm oldó kapacitása.....	67
23. ábra Listerine Total Care hatása az összcsíraszám változásra.....	67
24. ábra Solumium Oral hatása a <i>S. mutans</i> számának változására.....	68
25. ábra Listerine Total Care hatása a <i>S. mutans</i> számának változására.....	68
26. ábra Irrigálószeres antibakteriális tulajdonsága mesterségesen fertőzött gyökérszatóknakban <i>in vitro</i>	70
27. ábra Gyökérszató felületének Scanning elektronmikroszkópos képei.....	71
28/A ábra Dentinpor hatása az antibakteriális szerekre.....	74
28/B ábra Dentinpor hatása az antibakteriális szerekre.....	74
29. ábra Szarvasmarha pulpa szövetoldódása.....	77
30. ábra A CHX UV spektruma.....	77
31. ábra A CHX UV referencia spektrumát hasonlítja össze a PCA UV spektrumával.....	78
32. ábra A CHX UV spektrumának vizsgálata 0, 20, 40 perc reakcióidő után hozzáadott ClO ₂ -dal a PCA referencia spektrumához viszonyítva.....	79
33. ábra A PCA UV spektrumának vizsgálata 10 perc és 4 óra elteltével hozzáadott 0,12% ClO ₂ hatására.....	80

34. ábra ^1H NMR vizsgálat az EDTA degenerálódását mutatja 0,12%-os ClO_2 hatására oldatban.....81

3 Bevezetés

A fogászat minden területén folyamatos az igény, az új, hatékony, szervezetre nem káros antiszeptikus szerek mindennapi gyakorlatban való alkalmazására. Születéskor a száj sterilnek tekinthető, de pár óra múlva már aerob baktériumok és gombák is megjelennek benne. Később anaerob baktériumok, protozoonok, mycoplazmák is részét képezik a szájüreg normál flórájának. Ezen összetevők állandóan változó egyensúlya képezi a szájüreg mikroflóráját. A fogszuvasodás, az ínygyulladás és a fogágybetegség, olyan orális fertőző betegségek, amelyek a gazdaszervezet és az orális mikroflóra közötti egyensúly felborulása következtében lépnek fel.

Az orális betegségek megelőzése és kezelése fő feladata a mindennapi fogorvosi gyakorlatnak. A fogkefével történő fogmosás a legáltalánosabb és leelterjedtebb módja a szájhigiéné fenntartásának, bár a nehezen hozzáférhető helyeken az orális plakk, más néven biofilm elleni prevenció, illetve a már kialakult biofilm eliminálása szükségessé teszi a fogkrémek használata mellett egyéb, antibakteriális hatással bíró anyagok alkalmazását is. Számos kutatás eredménye vezetett ahhoz, hogy a fogkrémek összetétele folyamatosan tökéletesedjen, hogy a megfelelő abrazív-, felületaktív-, stabilizáló-, ízesítő-, és illatosító anyagok mellett hatékony antiszeptikus gyógyszereket is tartalmazzon. Ugyanígy kutatók sokasága keresi azt az ideális antiszeptikus szájöblítő oldatot, ami hatékony a kórokozókkal szemben, ugyanakkor tartós használata nem káros a szervezet számára.

Az endodonciai kezelés sikere függ a hatékony kézi vagy gépi forgóműszerek mellett alkalmazott gyökércsatorna öblítőszerkelet használatától, hogy a megfelelő alakú, jól tömhető csatorna a lehető legnagyobb mértékben mentes legyen a mikroorganizmusoktól. Igazolt tény, hogy a gyökértömések hosszú távú eredményességét növeli, ha a csatornák mechanikai tisztítását kémiai anyagok használatával egészítjük ki, úgynevezett kemo-mechanikai preparálást végzünk (1). A káros patogén mikroorganizmusok eliminálása a gyökércsatornából és a dentintubulusokból az endodonciai beavatkozás során önmagában nem biztosítja a sikeres gyökérkezelést. A gyökércsatornában elérhető legalacsonyabb csíraszám

megőrzése, azaz a gyökércsatorna kívülről történő felülfertőződésének megakadályozása és a csatornában maradt alacsony csíraszámú történő visszafertőződés problémája kritikus pontjai az endodonciai kezeléseknél. Míg a mechanikai tisztítás szignifikáns mennyiségű mikroorganizmust távolít el a gyökércsatornákból, addig az endodonciai kézi és gépi eszközök számára elérhetetlen helyeken maradt kórokozók a periodontális szövetek gyulladását tarthatják fenn, illetve idézhetik elő. Ezért az antimikrobiális irrigálószer használata kiemelkedő szerepe van a mikroorganizmusok olyan mértékre történő csökkentésében, amely lehetővé teszi a periapikális szövetek gyógyulását.

Az antibakteriális anyagoktól elvárjuk, hogy megakadályozzák a mikroorganizmusok adhézióját, kolonizációját, anyagcseréjét és ekképpen gátolják azok növekedését. Az antiszeptikus anyagok hatásossága függhet azok koncentrációjától, illetve a kezelés időtartalmától.

Doktori értekezésemben a klór-dioxid hatásának vizsgálata mellett kitérek korábbi vizsgálatainkra is, amelyek a fogkrémekben és szájvizekben található fluoridok jótékony antiszeptikus hatása mellett, a kariogén mikroorganizmusok mennyiségének csökkentésével és az egyes kariogén speciestek virulenciájának jelentőségével foglalkoznak.

3.1 A klór-dioxid

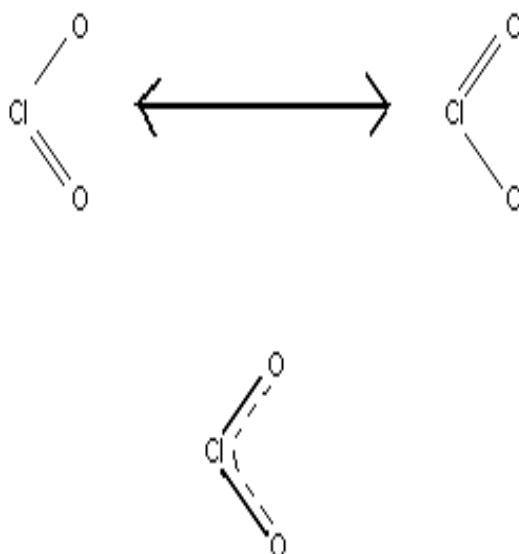
3.1.1 A klór-dioxid felfedezése

A klór-dioxidot Sir Humphrey Davy 1814-ben fedezte fel. Kénessavat (H_2SO_3) és kálium-klorátot ($KClO_3$) kevert össze, majd a kénessavat kicserélte hipoklórossavval ($HClO$). Nagymennyiségű klór-dioxid előállításához a mai napig ezt a módszert használják némi változtatással (2).

3.1.2 A klór-dioxid szerkezete

A klór-dioxid (ClO_2) az elemi klórtól kémiai szerkezetében és viselkedésében is teljesen eltér. Páratlan számú elektronja miatt szabad gyökként viselkedik. Különleges elektron szerkezete sokáig vita tárgya volt. A klór-dioxid meglepően stabil, míg a szabad gyökök általában instabilak és gyorsan elbomlanak.

Szerkezete a rezonanciaelméletnek köszönhetően vált értelmezhetővé. A molekula két mezomer határszerkezettel írható fel, és a valós állapota a kettő között van. A köztes, valós szerkezetben egy elektron delokalizálódik. Szélső esetben az egyik oxigén atom kettős kötéssel kapcsolódik a központi klór atomhoz, míg a másik egy közönséges kételektronos és egy szokatlan háromelektronos kötéssel. A két oxigénatom szerepcseréjével kapjuk a másik szélső esetet. A rezonanciaszerkezet a két szélső eset keveréke, és ezért a két oxigénatom végül is egyenértékű. A háromelektronos kötésben lévő párosítatlan elektron adja a klór-dioxid specifikus reakcióképességét (1. ábra). A ClO_2 ezekben a reakciókban oxidálószer, vagyis elektront vesz fel a molekulákból, miközben önmaga redukálódik (3).



1. ábra

A klór-dioxid szerkezeti képlete

3.1.3 A klór-dioxid tulajdonságai

A ClO_2 szintetikus, zöldes-sárga színű klór-szerű, irritáló szagú illékony gáz, amelynek erős oxidáló hatása van, és vizes oldatban fordul elő. A ClO_2 egyik legfontosabb tulajdonsága, hogy jól oldódik vízben, különösen hideg vízben, abban nem hidrolizál, oldott gáz marad (4). Körülbelül, tízszer oldékonyabb a vízben, mint a klór.

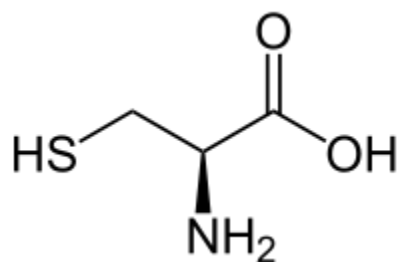
A ClO_2 minden szempontból megfelel azoknak a követelményeknek, amit a lokális antiszeptikumoktól elvárunk. Nevezetesen: csak helyileg hat, elkerülvén a szisztémás mérgezés lehetőségét, nem lassítja a gyógyulást, nem toxikus, alacsony koncentrációban is hatásos, nem alakul ki vele szemben rezisztencia.

A klór-dioxidnak, mint ideális oxidáló biocidnak számos előnyös tulajdonságát használhatjuk ki.

1. Hatását baktériumokon, vírusokon, gombákon és protozoonokon is kifejti. Pontos hatásmechanizmusa nem ismert. Amikor a baktériumok reagálnak a ClO_2 -dal, a celluláris folyamatok leállnak. A ClO_2 akadályozza baktériumok sejt falán keresztüli anyagcsere transzportot, megváltoztatja a membrán fehérjéit és akadályozza a légzési láncot. A vírusokat oly módon semmisíti meg, hogy akadályozza a fehérje képződést (2).

2. A gyakori és súlyos bakteriális fertőzéseket antibiotikumokkal kezeljük. Ezek túl gyakori vagy nem megfelelő használata antibiotikum rezisztens fajok kifejlődéséhez vezetett, melyek eliminációja az egyik legnehezebb feladata a mai orvostudománynak. Manapság nem csak a kórházi rezisztens törzsek okoznak gondot. A környezeti hatások, azaz stresszorok okozta ingerek hatására olyan úgynevezett superkórokozók fejlődnek ki, amelyek adaptálódva a környezethez, számos speciális biokémiai mechanizmust fejlesztenek ki. Ezért nagyon fontos és előnyös tulajdonsága a klór-dioxidnak, hogy a mikrobák nem válnak rezisztensé vele szemben. A ClO_2 szelektív oxidálószer, a szervezet számos organikus összetevőjével nem reagál, de a 20 aminosav közül, a szervezet számára nélkülözhetetlen ciszteinnel (2. ábra), metioninnal, tirozinnal, és triptofánnal gyorsan reagál (5-8). Ennek a 4 aminosavval történő reakciónak tulajdonítják többek között a ClO_2 antimikrobiális hatását. Az ismert, hogy a

cisztein a legreaktívabb aminosav a benne lévő tiol (SH) csoportnak köszönhetően. Körülbelül 50-szer gyorsabban reagál a ClO₂-dal, mint például a tirozin. Így, amíg bármilyen mennyiségű tiol csoport szabadon van, addig ezek a ClO₂-dal reagálnak, védve a többi aminosav oxidációját (5). Az SH csoporttal a ClO₂ könnyen és gyorsan reagál, az ATP szintézis leáll, a baktériumok elpusztulnak. A ClO₂ által körbevett baktériumok redukív kapacitása előbb-utóbb kimerül, és a baktériumok elpusztulnak. Az aminosavak szabad formájával gyorsan játszódik le a reakció, kötött állapotban ez a folyamat lassabban megy végbe.



2. ábra

Cisztein szerkezeti képlete (5)

3. A klór-dioxid emberre nem, vagy csak kis mértékben veszélyes. Az Atlantai Toxikológiai Központ jelentése szerint a klór-dioxid 3000 ppm-ig nem rákkeltő és allergiát sem okoz. Ennél magasabb koncentrációban történő alkalmazása tüdővizényőt okozhat (9, 10). A gyakorlatban széleskörű alkalmazása az időigényes előállításán kívül azért nem terjedt el, mert az előállítás során keletkező melléktermékek; klorid, klorit, klorát (Cl⁻, ClO₂⁻, ClO₃⁻) toxikusak. Állatkísérletekben (elsősorban patkány) igazolták, hogy a ClO₂ emlősökre meghatározott dózisban veszélytelen. Az egyik kísérletben patkányokkal kilencven napon át itattak klór-dioxidos vizet, és ez még akkor sem okozott kimutatható elváltozást az állatokban, ha az ivóvizük tartalma 200 ppm volt. A '80-as évek elején humán kísérletet végeztek Ohio-ban, ahol hatvan (21 és 35 év közötti) vizsgálati személy ivott meg egy liter klór-dioxidot tartalmazó vizet, (a kiindulási klór-dioxid koncentrációját nem adták meg) majd négy napon át teljes körűen kivizsgálták őket. Miután nem találtak elváltozást a víz klór-dioxid koncentrációját fokozatosan 24 mg/l-ig emelték. Az ismételt vizsgálatok sem mutattak ki eltérést, így megállapították, hogy 24 mg/l ClO₂ elfogyasztása egészséges felnőttek esetében

semmilyen mérhető károsodást és allergiát nem okoz. A ClO_2 mennyiségét azért nem emelték tovább, mert az ivóvízben ennél magasabb koncentráció nem fordul elő. Ezeket a kísérleteket a klór-dioxidos ivóvíz fertőtlenítés, kockázatának feltárása indokolta (9, 10).

4. A klór-dioxid előnyös tulajdonsága, hogy csak kevés anyaggal reagál. Nem lép reakcióba az ammóniával (2) nem klórozza a szerveget. Nem hidrolizál vízben, így nem keletkezik hidroklor sav (2, 4). A már előbb említett négy aminosavon kívül, lassan reagál az alkoholokkal, aldehidekkel, az egyszerűen telítetlen szénhidrogénekkal valamint a DNS-sel. A Fe^{2+} -t és a Mn^{2+} -t oxidálja (11).

Szelektív reakcióképességének köszönhető, hogy a szöveteket nem roncsolja. Nem okoz kellemetlen maró érzést a bőrön és a nyálkahártyán, nem okoz elszíneződést (12).

5. A klór-dioxid egyaránt jól oldódik poláros anyagokban, mint a víz, vagy az etil-alkohol és az apoláros anyagokban is, mint a benzin, az aceton, a ciklohexánok és a szilikon gumi (13). A sejteket egy foszfolipid kettős réteg veszi körül, amelyben fehérjék vannak beágyazva. A sejtmembránon való átjutás vagy az apoláros lipid rétegen keresztül valósulhat meg, vagy a karrier fehérjéken keresztül energia befektetés hatására. A klór-dioxid energia felhasználás nélkül tud az apoláros fázison átjutni, így a belsőbb részekre való penetrációval mélyeségi fertőtlenítést tud végezni. Mivel vízzoldékony és a biofilm extracelluláris poliszacharidjával nem reagál, ezért könnyen és gyorsan képes a biofilm mélyebb rétegeibe is bepenetrálni (2). Ez a tulajdonsága a biofilmek eliminációjához létfontosságú.

6. A klór-dioxid illékonyága nagyfokú, ezért tárolóedényét használaton kívül mindig zárva kell tartani. Illékonyága a fertőtlenítés során nagy előny, mert csak addig marad a tisztítandó területen, amíg szükség van rá. A kórokozók elpusztítása után nem hagy vissza semmilyen felesleges anyagot. A visszamaradó anyagok feleslegesek, akár károsíthatják is a szöveteket és lassíthatják a gyógyulás folyamatát (11). Melléktermék hiányában használatát követően szükségtelen további beavatkozást, mint például más szerrel történő semlegesítést, öblítést végezni.

7. A klór-dioxid hatásos halitózis ellen, mivel a kén tartalmú vegyületeket oxidálja (14, 15).

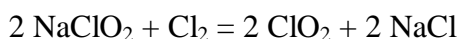
8. Gázfázisának köszönhető, hogy tenziója van, mely segíti a gyökércsatornák mellék ágainak és a dentintubulusoknak a hatékonyabb fertőtlenítését.

3.1.4 A klór-dioxid előállítása

3.1.4.1 A klór-dioxid hagyományos előállítása

A klór-dioxid hagyományos előállítása többféle módon lehetséges,

nátrium-klorit/ klór eljárással:



nátrium-klorit/ sósav eljárással:



nátrium-klorit/ sósav/ nátrium-hipoklorit eljárással:



A sósav használatával előállított ClO_2 csak ipari alkalmazásra használható. A sósav a mennyiségi és gyorsasági termelés eléréséhez nélkülözhetetlen (16). Az ipari alkalmazásánál az előállítás nehézségét az okozza, hogy a gáz robbanásveszélyes, nem tárolható és nem szállítható, ezért a felhasználás helyén közvetlenül kell előállítani. Humán felhasználásnál a sósavat szerves savval, leggyakrabban citromsavval helyettesítik. Ennek hátránya, hogy a ClO_2 előállítása így jelentősen lelassul és nagyon nagy mennyiségű NaClO_2 szükséges a mennyiségi előállításhoz. Sok elreagálatlan ClO_2^- és ClO_3^- keletkezik (12, 17).

A kereskedelemben kapható, különböző néven elnevezett ClO_2 készítmények megnevezése nem egyértelmű.

3.1.4.2 A „stabilizált klór-dioxid” előállítása

A „stabilizált klór-dioxid” néven gyártott oldatokban valójában a NaClO_2 -ot stabilizáltak. A „stabilizált klór-dioxidot” a NaClO_2 karbonáttal, vagy foszfáttal és hidrogén peroxiddal történő pufferolásával állítják elő. A stabilizált klór-dioxid tulajdonságai nem azonosak a tiszta ClO_2 -ével. Oxidáló képessége sokkal gyengébb, só formájában fordul elő, és csak vízben oldódik, ahol alkotó részeire bomlik szét. Ezzel szemben, a ClO_2 intakt molekula (18, 19). A mennyiségi és gyors ClO_2 előállításához, nagy mennyiségű erős sav (pH 3) hozzáadása szükséges (20). Sokszor még a publikációkban is helytelenül használják nátrium- klorit helyett a klór-dioxid elnevezést, amelyből például olyan féltevértések adódhatnak, hogy 2%-os ClO_2 alkalmazását írják le, ami 20000 ppm-nek felel meg. Ez már jóval a toxikus mennyiség felett van (21).

3.1.4.3 Az aktív klór-dioxid előállítása

Az aktív klór-dioxid előállításával megpróbálták kiküszöbölni a stabilizált ClO_2 előnytelen tulajdonságait. A két komponenst, a savat és a kloritot, közvetlenül a használat előtt keverik csak össze közel semleges pH-n. A keletkező gáz oldatba, vagy gélbe kötődik. A két összetevő keveredése után a lejátszódó reakció nagyon lassú. Ahhoz, hogy gyorsabban nagyobb mennyiségű ClO_2 -ot kapjunk, emelni kell a sav koncentrációját.

Az így nyert oldat alkalmazása szájvízként, a magas sav tartalom miatt előnytelen hatást fejt ki a fogak felszínére. Bár ugyanez a hatás a gyökérkezelésnél, tehát az oldat irrigálószerként történő alkalmazásakor előny lehet. Az aktív ClO_2 élettartalma limitált, rövidebb idejű, mint a „stabilizált klór-dioxid”-é (NaClO_2) (18, 19).

3.1.4.4 Hipertiszta klór-dioxid előállítása

Hipertiszta vagy más néven nagy tisztaságú klór-dioxid kiküszöböli a stabilizált, és az aktív ClO_2 azon rossz tulajdonságait, hogy melléktermékként toxikus szennyező részecskéket tartalmaznak, gyorsan bomlanak és csak erősen savas környezetben lehet előállítani. A hipertiszta klór-dioxid abban különbözik más ClO_2 tartalmú oldatoktól, hogy egy speciális membrán-technológiával állítják elő, amely biztosítja, hogy szennyező anyagoktól, toxikus melléktermékektől abszolút mentes legyen. Az előállítás során a molekula stabilitása is fokozódott.

Noszticzius Zoltán és munkatársai erre az eljárásra 2006-ban tettek találmányi bejelentést. 2008-óta a kereskedelemben elérhető és szabadalmazás alatt áll a világ több országában is (22, 23).

A fenti technológiával előállított nagy tisztaságú klór-dioxid Magyarországon Solumium Oral (0,03%), Solumium Dental (0,12%) és Salvocid (0,3%) márkanéven érhető el.

Kiváló tulajdonságai ellenére eddig nem alkalmazták a klór-dioxidot a humán gyógyászatban, mert nem állt rendelkezésre olyan módszer, amivel egyszerűen és gyorsan szennyezőanyagoktól mentes, stabil oldatát tudták volna előállítani.

3.1.5 A klór-dioxid alkalmazási területei

3.1.5.1 A klór-dioxid ipari alkalmazása

A klór-dioxidot a legnagyobb mennyiségben a papíripar alkalmazza, a cellulóz fehéritőjeként. A klór használatát szorította ki, mert a klórt alkalmazó technológia veszélyes mennyiségű karcinogén dioxin képződésével járt.

További alkalmazási területe az ivóvíz fertőtlenítése, ahol a korábban használt klórozási eljárást váltotta fel. A klór-dioxid fertőtlenítő hatása erősebb, és független a víz pH-értékétől. A ClO_2 nem hidrolizál a vízben, oldott gázként a folyadékban marad, így nem klórozza a vizet (24).

A klórral ellentétben a vízrendszerekben kialakuló biofilmet is bontja, így akadályozza meg például a Legionella megjelenését. Először 1944-ben a Niagara vízesés melletti Niagara Falls városában alkalmazták a klór-dioxidot. Bár az ottani vízben lévő fenolt klór-fenollá alakította, ami kellemetlen ízt okozott, hamar elterjedt a használata az egész világban. A nagy városok közül először Brüsszel tért át használatára, 1956-ban (12).

A klór-dioxid felhasználási lehetősége nem merül ki a papírgyártásban és ivóvíz fertőtlenítésben, részt vesz az élelmiszergyártási folyamatokban is. Sörfőzdekben, borászatokban, üdítőitalok gyártásánál, tejtermékek, hús, hal, zöldség és gyümölcs feldolgozó üzemekben is jól használható fertőtlenítőszer (12).

3.1.5.2 A klór-dioxid humán gyógyászati alkalmazása

Kiváló tulajdonságai ellenére a nagy tisztaságú forma megjelenéséig nem alkalmazták a ClO_2 -t a humán gyógyászatban, mert nem állt rendelkezésre olyan módszer, amivel egyszerűen és gyorsan szennyezőanyagoktól mentes oldatát tudták volna előállítani. Mivel robbanásveszélyes anyag ezért helyszíni előállításának biztosítása volt javasolt, ami körülményessé tette használatát.

Feltételezték, hogy a molekula vizes oldata igen bomlékony, de a tapasztalatok azt mutatják, hogy szobahőmérsékleten hosszabb ideig eltartható és fénytől elzárva stabilitását hosszabban megőrzi. Biocid hatása a pH-tól független (25). Alacsonyabb hőmérsékleten tárolva a folyadék tenziója csökkenthető.

A ClO_2 előnytelen tulajdonsága, hogy a gáz nagy koncentrációban alkalmazva tüdővizenyőt okozhat.

Háttérbe szorulásának további oka, hogy maga a molekula már régóta ismert volt és így nem szabadalmaztatható. A gyógyszergyárak a kisebb profit miatt nem voltak érdekeltek a klór-dioxid felhasználási területeinek kutatásában (11).

Jogosan merülhet fel a kérdés, hogy ha egy anyag olyan hevesen és hatásosan reagál a mikroorganizmusokkal, akkor miért nem káros az állati (26) és a humán (27) szervezetre. Ennek magyarázatát a ClO_2 kémiai tulajdonságaival foglalkozó kutatók abban látják, hogy a ClO_2 -nak a mikroorganizmus, illetve más élő sejt közötti

szelektivitása nem egy eltérő biokémiai viselkedésnek, hanem a sejtek közötti méretbeli különbségnek köszönhető. A ClO_2 -nak ezt az úgynevezett „size selective” tulajdonságát, a fehérje membránon történő transzportjához szükséges idő, és a baktériumok eliminálásához szükséges idő megfigyelésével bizonyították. 300 ppm-es ClO_2 oldat használatakor egy baktérium eliminálásához, amelynek mérete körülbelül 1 μm , már néhány milliszekundum idő is elegendő. Az előléshez szükséges idő négyzetesen nő a sejtek méretéhez viszonyítva. Ez alapján, egy 1 mm-es sejtbe, organizmusba történő penetrációhoz, már néhány millió szekundumra lenne az oldatnak szüksége (28). Mivel a ClO_2 , hatása illékonyága miatt néhány percre korlátozódik, ezért a szövetekbe csak néhány tized milliméterre képes behatolni (11).

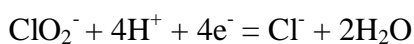
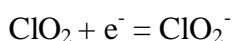
Az élő szervezet képes a ClO_2 -dal szemben védekezni, a benne zajló véráramlás és a sejtek közötti diffúziós folyamatok segítségével. A glutation (GSH) a szervezetben antioxidánsként működik, tiol csoportja miatt redukáló szer. Védi a sejtalkotókat az olyan reaktív oxidáló intermedierektől, mint a szabad gyökök és a hidrogén-peroxid. Az oxidált glutation enzimatis úton, glutation-reduktázzal alakulhat vissza redukált formájává, így biztosítva a redukált és oxidált forma normális arányát a szervezetben. A folyamat a szervezet természetes revitalizációjának tekinthető. Az egysejtűekben, mivel a glutationnak nincsen utánpótlása, nem valósulhat meg ez a természetes védekezés (28).

A fogászatban korábban a ClO_2 összetevőjű termékeket első sorban fogfehérítésre és a halitózis leküzdésére használták. A hipertiszta ClO_2 megjelenésével a kör szélesedett. Szájöblítőként alkalmazva hatásos a patogén kórokozók és a biofilm eliminálásában, így preventív és terápiás célból is használható. Segíti a szájüregi fertőzések, az íny és a parodontális gyulladások gyógyulását. A kén tartalmú vegyületek mennyiségének csökkentésével hatékonyan veszi fel a versenyt a halitózissal szemben (15, 29). Ez a tulajdonsága azért jelentős, mert a szájvizet nem csak antiszeptikus tulajdonsága miatt, hanem a kellemes lehelet céljából is alkalmazzuk. Az endodonciában a gyökércsatorna átöblítésre használhatjuk, a mikroorganizmusok minél tökéletesebb eliminálása céljából.

Torokgyulladásnál öblögetésre, orrdugulásnál orrcseppként való alkalmazása javasolt. Emellett sebek fertőtlenítésére is alkalmasnak tartják (11).

3.1.6 A klór-dioxid összehasonlítása fogászati antiszeptikus szerekkel

A klórdioxid gyengébb oxidáló szer az ózonnál (O_3), a hidrogén-peroxidnál (H_2O_2) és a hipoklórossavnál ($HClO$) is. Amikor a ClO_2 reakcióba lép, először felvesz egy elektront és klorittá (ClO_2^-) alakul, majd miközben a ClO_2^- tovább redukálódik klorid ionná (Cl^-), a leadott oxigénből víz keletkezik. A ClO_2 összesen 5 elektron felvételére képes (25).



Amikor a klór-dioxid molekula aktív klór tartalmát vizsgáljuk, kiderül, hogy annak oxidációs kapacitása nagyobb, mint a Cl^- -nak, tehát sokkal kevesebb mennyiség elegendő belőle a hatásos dezinficiáláshoz. (4, 30).

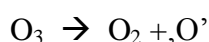
A dezinficiáló szerek aktív összetevőjük alapján történő összehasonlításakor (mg/l) a klór-dioxid bizonyul a második legerősebb biocid anyagnak az ózon után. Tanner 11 dezinficiáló szer aktív összetevőinek mennyiségét figyelembe véve tette ezt a megállapítást. A ClO_2 -ot többek között a $NaOCl$ -dal, H_2O_2 -dal és más a fogászatban nem alkalmazott dezinficiáló szerekkel, mint például a fenollal, a glutáraldehiddel is összehasonlította (30).

A $HClO$ -val szemben a baktériumok a ClO_2 -hoz hasonlóan nem tudnak rezisztenciát kifejleszteni, mert a neutrofil granulociták működéséhez a $HClO$ nélkülözhetetlen.

A neutrofil granulociták a fagocitózis során a fagocitotikus vakuolumban hipokloritot termelnek a mikroorganizmusok lebontására (31, 32). A $HClO$ azonban kevésbé specifikusan reagál a különböző anyagokkal. Gyorsan reagál a ciszteinnel, a metioninnal, a tirozinnal és a triptofánnal de emellett más aminosavakkal, fehérjék közötti kötésekkkel, szénhidrátokkal, lipidekkel, nukleobákkal, aminokkal is reagál (33). Amíg azonban a ClO_2 gyorsan elpárolog, addig ez a $HClO$ -ról nem mondható el. A behatási területen, mivel elég drasztikus reagens, gyulladást, irreverzibilis károsodást tud okozni (34).

A H_2O_2 -ot erős oxidáló hatása miatt fertőtlenítésre és fehéritésre (fogfehéritésre) használják. Erősen bomlékony és roncsoló hatású anyag (35), ennek ellenére sok baktérium képes hatásának ellenállni, mert kataláz enzimükkel képesek szétbontani (36).

Az ózon a legerősebb oxidáló szer. Már kis koncentrációban is veszélyes az élő szervezetekre, beleértve a magasabb rendű élőlényeket, így az embert is. Rendkívül erős oxidáló hatása a felszabaduló naszcens oxigénnek köszönhető.



Az ózonnal szemben semmilyen mikroorganizmus nem tud rezisztenciát kifejteni. Kiválóan redukálja a biofilmeket is. Az ózon az extracelluláris poliszacharidot veszi célba, és a biofilm vázát teszi tönkre. Az ózon könnyen bomlik oxigénre, így nem hagy semmilyen káros mellékterméket. Hátránya azonban, hogy a vízben gyorsan elbomlik, így másodlagos fertőtlenítőszer alkalmazása szükséges az ozonizálást követően. Fertőtlenítő hatása függ a pH értékétől. Enyhén savas közegben az ózon viszonylag lassan, de szelektív módon oxidál. A mikroorganizmusok elpusztítása szempontjából az enyhén savas közegben lejátszódó oxidáció a kedvezőbb folyamat (37). Az ózon dezinficiáló és oxidáló képessége 8,5 pH érték felett azonban megszűnik (38).

3.2 Fogászatban használatos antiszeptikus szerek

A kórokozó baktériumok, és a baktériumok közösségéből kialakult biofilm csökkentése fontos szempont a szájüreg egészségének megőrzésében. A kezeletlen kariesz a pulpa elhalásához, a periapikális tér gyulladásához vezethet. A gingivitisz az arra hajlamos, illetve a legyengült szervezetben súlyos parodontális gyulladásos folyamatokat indíthat meg. Az antimikrobiális hatással rendelkező anyagok használata ezért nélkülözhetetlen a megfelelő szájhygiéné megőrzésében. A fogkrémekben, a szájvizekben és a gyökércsatorna átöblítésre használt oldatokban nagyon sokféle antiszeptikus hatással bíró anyagot találhatunk. Dolgozatomban csak azokra térek ki, amelyekkel vizsgálatokat végeztünk.

3.2.1 Fluoridok

Fluorid tartalmú fogkrémek és szájvizek kariogén flórára kifejtett hatásának vizsgálatával a Semmelweis Egyetem Konzerváló Fogászati Klinikáján is számos kutatás folyt, hiszen ezek használata világszerte széles körben elterjedt (39, 40).

A fluor a halogének csoportjába tartozó kémiai elem. Az elemi fluor erősen maró, halványsárga színű gáz, erős oxidálószer. A fluor egyik vegyületét a fluoridot már 1540-ben megemlítik, de mint kémiai elemet csak 1886-ban állította elő Henri Moissan. Rendkívüli reakcióképessége nehezítette az előállítását. A jelenlevő anyagokkal azonnal reagál. Az elemi fluor, a fluor-hidrogén és a vízben oldódó szervesetlen fluoridok toxikusak és maró hatásúak (41).

A szervesetlen fluoridok közül a nátrium-fluorid (NaF) az egyik leggyakrabban alkalmazott fluoridforrás a fogkrémekben és szájvizekben, de ónfluorid (SnF_2), és nátrium- monofluorofoszfát ($\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$) szintén megtalálható sok készítményekben. Az SnF_2 és a $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ a fogkrémekben található abrazív anyagokkal kompatibilisek. Az SnF_2 -ről kimutatták, hogy kariesz és gingivitisz csökkentő képessége felülmúlja a NaF-ét (42, 43).

A fluoridok és így a NaF fogszuvasodást gátló hatását annak tulajdoníthatjuk, hogy a zománc szerkezetét annak fejlődése közben módosítani képes, mely így ellenállóbb a savakkal szemben (gyermekek fogfejlődése során). Képes beépülni a hydroxilapatitba a remineralizáció folyamán. A zománc felületét úgy módosítja, hogy egy erősebb zománc szerkezet alakul ki. A baktériumok savképző képességét, pedig csökkenti.

3.2.1.1 Az ónfluorid antibakteriális hatása

Az ónfluorid használata sokáig vitatott volt. Vizes közegben nem stabil, a fogakat átmenetileg elszínezi. Stabilizációját amin-fluoriddal történő kombinált alkalmazásával oldották meg.

- Az ónfluorid, ónfluorid-foszfát komplexet hoz létre a zománc felszínén, mellyel a plakk tapadását csökkenti.

- A baktériumok szénhidrát metabolizmusában szerepet játszó tiol csoportot oxidálja, így a baktériumok savtermelését zavarja.
- Megváltoztatja a baktériumoknak a zománchoz, illetve egymáshoz történő tapadását (44).
- Alacsonyabb pH-n antibakteriális hatása a többi fluoridnál erőteljesebb, mert a belőle keletkező HF a F⁻-nál hatásosabb (45, 46).
- A *S. mutans* extracelluláris poliszacharidjával interakcióba lép, így azt szelektíven redukálja (47).

3.2.1.2 Az amin-fluorid antibakteriális hatása

Az amin-fluorid különleges molekulaszervezetének köszönheti egyedi tulajdonságát. A fluorid ion egy szerves zsírsav amin részéhez kapcsolódik. Az amin rész csökkenti a felületi feszültséget, ezáltal homogén réteget alkot a szájüregben található felszíneken. Ez a réteg akadályozza meg, hogy a nyál gyorsan lemossa a felületeket, így az amin-fluorid hosszabb ideig marad aktív a szájüregben. A homogén réteg elősegíti a fluoridok tapadását és eloszlását a fog felszínén. Az amin-fluorid enyhén savas kémhatású, ezért a fluorid ion gyorsan összekapcsolódik a fogzománcban lévő kalciummal és kalciumfluoridot alkot. Ezáltal tartós, úgynevezett fluorid raktárt hoz létre (48).

Az amin-fluorid

- Gátolja a baktériumok intracelluláris metabolizmusát.
- Csökkenti a baktériumok sejtfalának ellenálló képességét.
- Megzavarja a fog felszínén a baktériumok kolonizációját (49).

3.2.2 A tej, mint kariosztatikus hatású anyag

A tej szervezetre gyakorolt pozitív hatásai miatt, mint vivőanyag kiegészítheti a fluoridok kariosztatikus hatását. A tej a *Streptococcusok* zománchoz történő adhézióját képes csökkenteni (50). A tej és a fluorid között lejátszódó reakció során kalcium-fluorid keletkezik ezért szerepe, mint a fluorid vivőanyaga sokáig megkérdőjelezhető volt. Vizsgálatok szerint azonban, a tejhez adagolt 2-5 ppm F⁻ esetében, a fluorid kalciumhoz és tejfehérjékhez való kötődése reverzibilis folyamat. Így elegendő szabad fluorid ion áll rendelkezésre, és a fluor hatékonysága nem csökken (51). A tej előnyös tulajdonsága, hogy a benne lévő tejcukor lassabban fermentálódik más cukrokhoz képest, a tejfehérjék és zsírok, pedig kariosztatikus hatásúak (52). A fluorozott tej folyamatosan alacsony szinten tartja az ionizált fluorid mennyiségét, elősegítve ezzel a remineralizációt. Ez a mechanizmus az, ami leginkább hozzájárul a tej kariosztatikus hatásához. A dentális plakk mikroflórájában jelentős változást nem okoz a fluorozott tej, bár jelenlétében az *Actinomyces* speciesek enyhe fokú szaporodását mutatták ki (53).

3.2.3 D-aminosavak

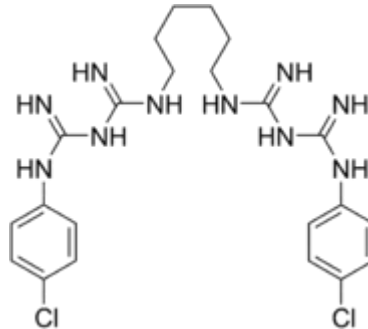
Az újabb- és újabb antibakteriális szerek (például az antibiotikumok) fejlesztése mellett, azoknak az anyagoknak a kutatása is nagy jelentőséggel bírhat, amelyek közvetlenül gátolják a biofilmek kialakulását, illetve képesek lebontani a már kialakult biofilmet. Egy ilyen lehetséges anyag a D-aminosav.

Számos baktérium a sejtfalszintézis során D-aminosavat épít be a peptidoglikán oldalláncába (D-alanin). A biofilm formációja során először a mikroorganizmusok egy felszínhez tapadnak, majd az eközben keletkezett apró kis fókuszok növekedni kezdenek és nagyméretű aggregátumokká fejlődnek. Az érett biofilmben a baktériumok extracellulárisan kezdenek el D-aminosavat termelni, ami oldja a biofilmet, valószínűleg a mikroorganizmusok közötti amiloid szálak mennyiségének csökkentésével. Ez a mechanizmus segíti a baktérium kiszabadulását a biofilmből, amikor ott már nem áll rendelkezésre számára elegendő tápanyag (54).

3.2.4 Antiszeptikus szájvizek

3.2.4.1 Klórhexidin

A klórhexidint (CHX) az 1940-es években fedezték fel (55). Biguanid típusú szintetikus szer (3. ábra).



3. ábra

CHX szerkezeti képlete (55)

Hatása kiterjed a Gram-pozitív, Gram-negatív, fakultatív anaerob és aerob baktériumokra. Gombákra és vírusokra is hatásos, de ezekre kifejtett hatásmechanizmusa nem teljesen ismert. A klórhexidin lipofil csoportjai a sejt lipoprotein hártájának dezorientációját okozzák, így a sejtmembrán ozmotikus képessége károsul. A CHX a baktériumsejt membránon keresztüli anyagcseréjét akadályozza. Körbeveszi a sejtek egész felületét, és aktív, vagy passzív transzporttal belép a sejtbe, előidézve ez által a citoplazma membrán destrukcióját (56). Antibakteriális aktivitása pH függő. Hatása 5,5-7,0 közötti pH-n a legideálisabb (1).

A CHX nem oldódik vízben, ezért klórhexidin diglukonát formájában alkalmazzák a szájvizekben, ahol a klórhexidin és a glükonsav oldott formában van jelen (57). A CHX azonnali baktericid hatása mellett, hosszú távú, elhúzódó hatásával is számolhatunk. Képes a zománchoz, az azon kialakult pellikula réteghez és a nyálkahártyához is kötődni (58). Jótékonyan használható a gingivitisz kezelésére, mert nem veszíti el hatásosságát olyan gyorsan a szájban, mint más szájvizek (59). A

hosszabb ideig tartó kezelések esetében, (például: gingivitisz, parodontitisz, traumák, ciszták) a 0,12-0,2%-os oldatát szokásos használni (60, 61).

Sajnos a CHX-nek előnytelen tulajdonságai is vannak. Kellemetlen íze mellett a nyálkahártyán égető érzést vált ki. Felelős lehet a nyálkahártya deszkvamációjáért is. A fogak, helyesebben a fogakon lévő pellicula, lepedék, vagy fogkő elszíneződését okozza (62, 63). Magas koncentrációban a sejteket károsítja, koagulálja a citoplazmát, továbbá képes a fehérjék és a nukleinsavak precipitálására (63). A klórhexidin tartalmú oldat toxicitása koncentrációtól függően elsősorban ingerlő, maró hatásának tulajdonítható. A 2%-osnál erősebb oldatok a bőrön már ingerlő hatást váltanak ki. A 4%-os oldat lenyelése ingerlő, a 20%-os oldat már maró hatású. 2500mg/kg CHX állat kísérletekben akut toxicitást okozott (64).

3.2.4.2 Listerine

1879-ben Joseph Lawrence és Jordan Wheat alkotta meg a Listerin oldatot, melyet sebészeti fertőtlenítésre, majd 1895-től a szájhigiénés kezelésre is alkalmaztak. Az összetétele alapján esszenciális olaj, mely 0,064% timol, 0,092% eukaliptol, 0,042% mentol, és 0,06% metil szalicilát keveréke. Etanol tartalma az ízesített termékekben 21,6%, mely elegendő az aktív összetevők feloldásához. Az eredeti formula 26,9% etanolt tartalmazott (65).

1985-ig nem ismerték pontosan a hatásmechanizmusát. Ma már tudjuk az oldatról, hogy a baktériumok sejtfalát szétroncsolja, gátolja enzimikus aktivitásukat. A Gram-negatív baktériumok lipopoliszacharidját hatástalanítja. Csökkenti a baktériumok aggregációját és hatásosan működik jóval a toxikusnak tartott érték alatt is (65).

A Listerine esetében is előnytelen tulajdonság a kellemetlen íz és a nyálkahártyán kifejtett égő érzet. Alkohol tartalma miatt felmerült a kérdés, hogy növelheti az orális rák előfordulásának kockázatát. A kérdéssel kapcsolatban, pro és kontra is megjelentek közlemények (66-68). Sokáig az a nézet volt elfogadott, hogy az alkohol tartalmú szájöblítők hosszú távú kezelésre nem alkalmasak. Korlátozott mennyiségben, kontrollált ideig szabad csak használni őket (68). Az American Dental Association 2009-es állásfoglalása szerint az orális rák és az alkohol tartalmú

szájöblítők használata között nem lehet összefüggést kimutatni (69). Ma már alkoholmentes változata is kapható a piacon. A Listerine használatakor ügyelni kell arra, hogy a dentintubulusok megnyílását fokozza, így károsítja annak felszínét. (70).

3.2.5 Antiszeptikus endodonciai szerek

Egy ideális gyökércsatorna öblítőszernek számos követelménynek kell megfelelnie. Széles spektrumú antimikrobiális hatása mellett, a nekrotikus pulpát is oldania kell. A kialakult smear layer-t (dentinforgács, mikroorganizmusok) oldania kell. E mellett nem lehet toxikus, szövet irritáló és allergiát sem okozhat.

3.2.5.1 Nátrium-hipoklorit

NaOCl az egyik legszélesebb körben alkalmazott gyökércsatorna átöblítő folyadék. Az endodontiában irodalmi adatok szerint 0,5-6% -os oldatát használják. A nátrium-hipoklorit bomlékony anyag, közönséges konyhasóra (NaCl), és naszcens oxigénre ('O') bomlik. Kiváló antiszeptikus hatását a naszcens oxigénnek köszönheti, ami mint erős oxidálószer nagyon reakcióképes. Így fertőtleníti, és így fehérit is. Idő kell, hogy kifejtse a hatását, mert az oxigén lassan szabadul fel belőle, és a szennyeződések elroncsolásához is kellő időre van szükség. Amikor a NaOCl organikus szövetrel lép kapcsolatba, akkor bonyolult kémiai reakciók sorozata zajlik le. A zsírsavat a zsírsav sójává és alkohollá alakítja, miközben felületi feszültsége csökken. Semlegesíti az aminosavakat, mely folyamat során víz és só keletkezik. Közben a pH értéke csökken. Amikor a hipoklórossav (HClO^-) kapcsolatba lép az organikus szövetrel akkor Cl szabadul fel, ami az amino csoporttal érintkezve klóramin képződéséhez vezet. A klóramin felelős a sejtek metabolizmusának gátlásáért (1). Organikus szövetoldó hatása előnnyel és hátránnyal is jár. A fertőzött pulpa szövet eltávolítása kedvező hatású, ha azonban a gyökércsúcson túljut, akkor a periapikális szövetek oldásával, irritálásával károsodást okoz (71). Ezért az endodonciában eléggé elterjedt 5,25%-os koncentrációjú használata megfontolandó. Biztonságosabb 2,5%-os oldatát használni, melynek antibakteriális hatása még kielégítő (72, 73).

3.2.5.2 Klórhexidin

A CHX gyökércsatorna irrigálószerként való alkalmazásakor antimikrobiális hatása mellett az anorganikus molekulákhoz történő kötődési képességét is ki tudjuk használni. A CHX-ből felszabaduló pozitív töltésű ionok a dentin karbonát komplexéhez kötődve, megakadályozzák a dentin felszínén a mikrobák kolonizációját. Ez a hatás elhúzódó, tovább tart, mint csupán az applikáció ideje (74). A CHX elhúzódó hatása függ az alkalmazott koncentrációtól és a behatás idejétől (75). Az ezzel kapcsolatos vizsgálatok leírják, hogy csak az applikáció után egy óra múlva növekszik az antibakteriális hatás (76) és, hogy 5 perc applikálás nem elegendő a hosszú távú hatás eléréséhez, hanem 7 napig tartó kezelés szükséges (77), illetve azt is, hogy a CHX elhúzódó hatása akár 12 hétig tarthat. CHX alkalmazásánál érdemes figyelembe venni, hogy a dentin és a dentinben lévő kollagén csökkenti a CHX antimikrobiális hatását (78). A CHX legnagyobb hátránya, mint gyökércsatorna irrigáló az, hogy nem rendelkezik szövetoldó hatással (79).

3.2.5.3 Kalcium-hidroxid

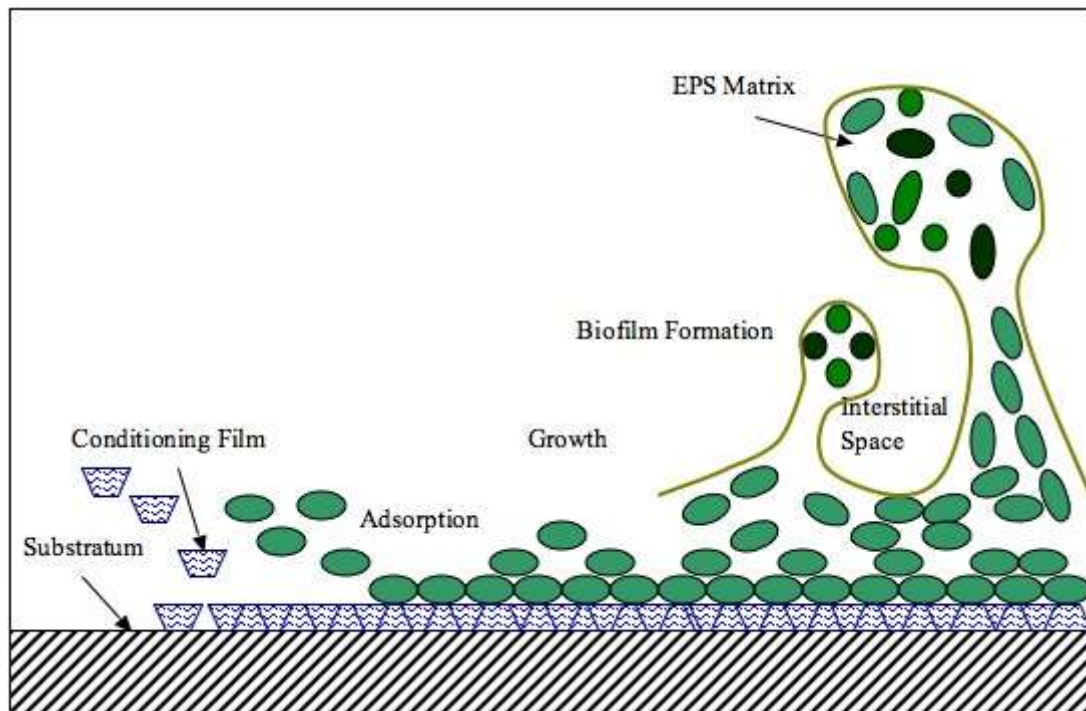
A kalcium-hidroxid erős bázis, pH értéke 12,5-12,8 között van. Antimikrobiális hatását annak köszönheti, hogy vizes oldatban hidrolizál. A hidroxidion erős oxidáló hatással bír, szabad gyök, mely rendkívül reaktív módon reagál minden anyaggal. Hatását a baktérium sejtek fehérjéinek denaturációjával, a DNS és a citoplazma membrán károsításával éri el (80). Sok endodonciai fertőzésért felelős patogén kórokozó ellen hatékony, de az *E. faecalis*-szal és a *Candida albicans*-szal szemben nem, vagy alig hatásos. Fogászatban antibakteriális, gyulladáscsökkentő és dentin képző hatásai miatt használják.

3.3 A biofilm

Az emberi szervezetben szinte mindenhol találhatunk mikroorganizmusokat. Amikor a mikroorganizmusok növekedésükhöz megfelelő biokémiai és fizikai állapotot találnak, akkor kolonizálódnak, megteremtve ezzel a szervezet normál flóráját. A szervezet az őt támadó mikroorganizmusok ellen mindaddig védekezni képes, amíg egészséges. A védekezés genetikailag determinált, automatikusan lezajló biológiai folyamat. Ha a szervezet védelmi rendszere valamilyen okból károsodik, az addig ártalmatlan normál flóra kórokozóvá válhat. A normál flóra akkor is patogénként viselkedik, ha olyan környezetbe kerül, például a pulpa kamrába, vagy a periapikális térbe, ami addig nem tartalmazott mikroorganizmusokat, fiziológiásan steril volt. A patogenitás mértékét az egyes mikroorganizmusok virulenciája és mennyisége határozza meg.

A fogak felszínén kialakuló pellicula az előfeltétele a bakteriális környezet kialakulásának. Ebbe a glikoprotein és poliszacharid polimer komplexet tartalmazó mátrixba épülnek be a leukociták, a makrofágok és a hámsejtek, ekkor már matéria albáról beszélünk. Plakknak, biofilmek akkor nevezzük, amikor már nagyrészt baktériumok alkotják a fogakon megtapadó fehér anyagot. Ezt már csak mechanikai behatással lehet eltávolítani. A biofilm mennyisége exponenciálisan növekszik a beépülő baktériumok számával, majd érésével a minősége is megváltozik.

Ahhoz, hogy megértsük, miért olyan nehéz a szájüregben, gyökércsatornában lévő kóros mikroorganizmusok eliminálása, a biofilm szerkezetével kell tisztában lennünk. A biofilm a baktériumok olyan ökológiai közössége, melyben az egyes összetevők másképpen viselkednek, mint amikor egyedül, úgynevezett planktonikus formában fordulnak elő (81). A biofilm védelmet nyújt a benne lévő baktériumok számára. A biofilm akkor jön létre, amikor a szabadon lebegő mikroorganizmusok képesek egy felszínhez hozzákötődni. Az extracelluláris polimerek szekrétaumi gondoskodnak a mátrix létrehozásáról, ami elősegíti az adhézió kialakulását. Az orális biofilm (plakk) kialakulását befolyásolja a baktériumok közötti adhézió, a pH, az oxigén mennyisége és a rendelkezésre álló táplálék (82). A dentális biofilm rendkívül komplex ökoszisztéma, melyben akár 800 különböző baktérium is előfordulhat (83).



4. ábra

A biofilm képződés mechanizmusa (84)

A biofilm képződése négy fő pontban foglalható össze:

1. A felszíni réteg tulajdonsága megváltozik (egy úgynevezett „kondicionáló film” hatására), lehetővé téve a mikroorganizmusok kötődését, megtapadását (84).

2. A felszínhez való kötődést a baktériumok és a szerkezet fehérjéi között létrejövő kapcsolódás teszi lehetővé. A kötődést befolyásolja a felszín hidrofóbitása (85).

3. A biofilm növekedése és a baktériumok kolonizációja következik ezután. A termelődő poliszacharid felelős a baktériumok felszínhez való kötéséért, biztosítva a kolóniák növekedését (84).

4. A biofilm képződése során az extracelluláris poliszacharid (EPS) mátrixot és vertikális struktúrákat tartalmaz, melyek között üres térközök jelennek meg. A biofilmben zajló belső transzportot ez teszi lehetővé (4.ábra) (84).

A biofilmben tehát üregek és csatornák találhatóak, melyek utat tudnak biztosítani a különböző kémiai anyagok számára. Az úgynevezett szállító utaknak a jelenléte és a lokalizációja azonban változik a biofilm korával, vastagságával, a táplálék mennyiségével és a külső környezetben bekövetkező hatásokkal (86). Az EPS mátrix megnehezíti és le is lassítja a biofilmben a dezinficiáló szerek, az antibiotikumok, antitestek hatását és diffúzióját. A biofilm képes a fagocitózis megakadályozására is (87). A biofilm fizikai tulajdonságainak köszönhetően tulajdonképpen indirekt rezisztenciát fejt ki az antimikrobiális ágensekkel szemben (88, 89).

A biofilm kialakulásának ideje alapján megkülönböztetünk korai plakkot (biofilmet), melyet főleg Gram-pozitív coccusok, levált hámsejtek és polimorfonukleáris leukociták alkotják. A különböző baktérium törzsek megtapadásával kialakul az érett plakk. Ebben már Gram-negatív baktériumok is megjelennek.

Az orális biofilm eliminálásának fontossága nem merül ki abban, hogy a jó szájhigiéné előfeltétele annak, hogy kariesz, gingivitisz és ezeknek következményes betegségei ne alakuljanak ki. 1980-as évek óta hívták fel a kutatók arra a figyelmet, hogy a dentális plakk kórokozói (blood borne bacteria) a véráramon keresztül képesek távolabbi szervekhez eljutva azokat provokálni, megbetegíteni (90). A parodontális tasakokból foghúzás után szintén képesek a kórokozók a véráramba kerülni. Közismert, hogy a *Streptococcus viridans* fajai endokarditist okoznak (91). A fogászati beavatkozások sokkal nagyobb százalékban felelősek bakteriémia kialakulásáért, mint más orvosi beavatkozások. Ezért minden fogászati beavatkozás, különösen a vérrel járó beavatkozások előtt a legfontosabb feladata a fogorvosnak a jó szájhigiéné megteremtése. Manapság a szájüregi mikroorganizmusok számának csökkentése céljából a fogászati beavatkozások előtt javasolt valamilyen antiszeptikus oldattal öblögetni.

3.3.1 A szájüreg normál flórája

A normál flóra feladata a szervezet védelme az exogén, patogén mikroorganizmusokkal szemben. Az újszülött szájürege steril, de *Candida* speciestek és *Lactobacillus* speciestek átmenetileg kimutathatóak közvetlenül a születés utáni időben. 1-2 órával a születés után már megjelennek a normál szájflóra aerob és fakultatív anaerob tagjai, *Streptococcus salivarius* (*S. salivarius*), *Streptococcus mucilaginosus*, *Neisseria* speciestek.

Az anyai szájflóra jelentősen befolyásolja a gyermek kialakuló flóráját. Ezért fontos lenne az anyákat szűrni aszerint, hogy hordozói-e a legvirulensebb speciesteknek. A leghatékósebb kórokozók átadásától a gyermekeket meg lehetne védeni, ha az anyából gyerekekre történő nyál kontaminációt kiküszöbölénk.

A fogak áttörésével a zománcra a *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Streptococcus sanguis* (*S. sanguis*), az *Actinomyces*ek, a gingivális szulkuszban pedig a *Fusobacterium*ok, *Prevotella* és *Treponema* speciestek jelennek meg. A fogak elvesztése után egyes fajok így a *S. mutans*, *S. sanguis*, *Lactobacillus* speciestek eltűnhetnek.

A normál szájüregi flóra legjelentősebb genusát a Gram-pozitív *Streptococcus* fajok adják. Mindenütt előfordulnak, ahol szénhidrátot tartalmazó szerves vegyületek vannak (92).

3.3.2 A szájüreg patogén flórája

Amikor a szervezet és a normál flóra között megbomlik az egyensúly az addig normálnak tekinthető flóra patogéné válik. A viridáns speciestek túlsúlyba jutnak. Az orálisan előforduló *Streptococcus viridans* csoport tagjai a *S. mutans*, *S. salivarius*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mitis*, *S. sanguis*, *Streptococcus sobrinus*. Nagy jelentőségük van a kariesz kialakulásában. Anaerob környezetben, és energiaszintetizáló folyamatokban egyaránt fel tudják használni a mannitot és a szorbitot. Fermentációjuk során tejsav képződik, ami elősegíti a fogzománc demineralizációját.

S. sobrinus kimutatása nehézkes, ezért kárieszben betöltött jelentősége nem kap elegendő hangsúlyt. Ez a baktérium sokkal acidogénebb, pH 6 alatt is fenntartja a savtermelést. Kariogén flórában magasabb százalékban fordul elő, mint a *S. mutans*.

Gram-pozitív pálcák közül jellemző fajok az *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*. A *Lactobacillus* jól tűri a savasabb környezetet, ezért a káriesz előrehaladottabb folyamatában vesz részt. Az *Actinomycesek* a dentális plakkban, fogkövekben, és a mélyre terjedő kárieszekben kolonizálódnak. Gram-negatív coccusok közül a *Veillonella* (*V.*), és a *Neisseria* (*N.*) *speciések* (*V. parvula*, *V. alcalescens*, *V. dispar*, *N. subflava*, *N. mucosa*, *N. sicca*) alkotják a patogén szájfloót.

A Gram-negatív pálcák között vannak fakultatív anaerob és obligát anaerob baktériumok. *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Capnocytophaga* genus tagjai az előbbi, a *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Wolinella*, *Seimonas*, *Treponema*, *Eikenella*, az utóbbi csoportba sorolható (93).

3.3.3 A fertőzött gyökércsatorna és a periapikális tér mikrobaflórája

Az endodonciai fertőzésekből történő tenyésztések szerint a gyökércsatorna baktérium flórájának 70%-át obligát anaerob baktériumok alkotják. A fakultatív anaerobok jelenlétét a fertőzés előre haladásával fokozatosan kiszorítják. A fertőzött csatornában 10^2 - 10^8 CFU/ml baktérium található. A baktériumok mennyisége és virulenciája befolyásolja a periapikális elváltozás mértékét. Endodonciai fertőzésekben a Gram-pozitív anaerob coccusok közül a *Peptostreptococcus*-ok találhatóak meg. Gram-pozitív baktériumok közül a *Streptococcus*-ok viszonylag nagy számban képviselik magukat a gyökércsatornában. Gram-pozitív anaerob pálcák közül az *Actinomyces*, a *Propionibacterium*, a *Lactobacillus* és az *Eubacterium* speciései találhatóak meg. Gram-negatív anaerob pálcák leggyakoribb képviselői a *Bacteroides*, a *Fusobacterium*, a *Prevotella*, és a *Porphyromonas* speciései.

A periapikális térből főleg *Actinomyces* és *Propionibacterium* tenyésztethető ki. Ezek hosszú ideig képesek perzisztálni, így a gyulladást fenntartani. Elhalt fogakból gombákat, vírusokat is ki tudtak mutatni (herpes zoster, HIV) (94).

4 Célkitűzések

1. Megvizsgálni az AmF-ot és SnF₂-ot tartalmazó fogpasztának és szájvíznek a nyál egyes mikroorganizmusaira (*S. mutans*, *L. acidophilus* *C. albicans*) kifejtett hatását *in vivo*.
2. A tejnek, mint a fluor vivőanyagának hatását vizsgálni *S. mutans*, *L. acidophilus* és *C. albicans* szám változásában *in vitro*. A NaF és a Na₂PO₄F mikroorganizmusokra kifejtett hatását vizsgálni különböző koncentrációban, tejben illetve foszfát pufferben.
3. A *S. mutans* DNS mintázata és megbetegedést okozó képessége közötti összefüggés vizsgálata.
4. D-aminosavak biofilm képződés gátló, illetve biofilm bontó képességének vizsgálata.
5. Összehasonlítani a nagytisztaságú ClO₂ (Solumium) oldat, néhány orális patogén mikroorganizmuson kifejtett hatását, más jól ismert, széles körben alkalmazott szájöblítővel és gyökércsatorna öblítővel, fenol koefficiens módszer segítségével, *in vitro*.
6. Összehasonlítani a nagytisztaságú ClO₂ orális biofilm bontó, elimináló képességét más antiszeptikumokkal *in vitro*.
7. Nagytisztaságú ClO₂-dal történő egyszeri öblítés után vizsgálni a nyál összecsíraszámában és a *S. mutans* számban bekövetkező változást *in vivo*.
8. A nagytisztaságú ClO₂ hatását összehasonlítani standard gyökércsatorna irrigálószerrel (NaOCl, CHX) *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) biofilmmel befertőzött gyökércsatornáknál. Scanning elektronmikroszkóppal a fertőződés és a visszafertőződés meglétének, illetve hiányának igazolása. Vizsgálni ugyanezen oldatok gázfázisának az *E. faecalis* szaporodására kifejtett hatását, *in vitro*.
9. A dentinpor hatásának vizsgálata a ClO₂ antibakteriális tulajdonságára *in vitro*.

10. ClO₂ szövetoldó hatásának vizsgálata szarvasmarha pulpán *in vitro*. Az eredmények összehasonlítása a NaOCl és CHX szövetoldó erejével.
11. A ClO₂ és a CHX, illetve a ClO₂ és az EDTA közötti interakció vizsgálata.

5 Anyag és módszer

5.1 Amin-fluorid és SnF₂ tartalmú fogpaszta és szájvíz hatásának vizsgálata a nyál egyes mikroorganizmusaira

Vizsgálatainkat két: 20 illetve 24 főből álló csoporton végeztük. A vizsgálatokban résztvevő egyének átlagéletkora 47 év volt. A 20 főből álló csoport AmF-ot és SnF₂-ot (külön-külön 750 ppm F⁻, összesen 1500 ppm F⁻) tartalmazó teszt fogkrémet és (külön-külön 125 ppm F⁻, összesen 250 ppm F⁻) szájvizet, a 24 főből álló csoport pedig NaF-ot (1500 ppm F⁻) tartalmazó kontroll fogkrémet és (250 ppm F⁻) szájvizet használt. A vizsgálat kettős vak jellege biztosított volt.

A résztvevők naponta kétszer mostak fogat, standardizált fogkefével. Egyperces öblítés szintén naponta kétszer, fogmosás után történt 10ml hígítatlan öblítővel. Mértük a nyálszekréció mértékét és meghatároztuk a *S. mutans*, a *L. acidophilus* és a *C. albicans* csíraszámát a stimulált nyálban a teszt periódus kezdetén, három hónap múlva, és a teszt periódus (öt hónap) végén. A nyálat kétperces paraffin rágatás után nyertük. A *S. mutans* szám meghatározását Dentocult-SM Strip táptalajon végeztük. A *Lactobacillus*-t Dentocult-LB táptalajon, míg a *C. albicans*-t Oricult-N táptalajon tenyésztettük. A táptalajok az Orion Diagnostica termékei. A Dentocult-SM-et és az Oricult-N-et 48 óráig, a Dentocult-LB-t 98 óráig 37°C-on inkubáltuk (95, 96).

5.2 A fluorozott tej hatásának vizsgálata az egyes mikroorganizmusokon

1. *S. mutans* (ATCC:HG882), *L. acidophilus* (ATCC:HG1149) és *C. albicans* (ATCC:HG392) liofilizált törzseket előírás szerint élesztettük fel. (A törzsek származása: Academic Centre of Dentistry, Amsterdam). A *S. mutans*-t Todd Hewitt Broth-ba (THB), majd Mitis Salivarius Agar-ra (MSA) a *L. acidophilus*-t Brain Heart Infusion-ba (BHI) majd Rogosa agar-ra helyeztük (RA). Ezután 37°C-on 48 órán keresztül anaerob körülmények között Gas Pak készülékben (BioMérieux, Marcy

I'Etoile, France) végeztük a tenyésztést. A *C. albicans*-t Sabouraud's Dextrose oldatban és Sabouraud's Dextrose agaron (SDA) 37°C-on 24 óráig tenyésztettük. (Táptalajok forgalmazója: OXOID Ltd.). A NaF és a Na₂PO₄F (MFP) hatását ezeken a törzseken 1,5%-os UHT tej vagy foszfát puffer (PBS) pH 6,5 illetve pH 5,5 hozzáadása után vizsgáltuk. A kétféle fluoridnak az 1, 5, 10, és 50 ppm-es koncentrációját vizsgáltuk. A 0, a 60, és a 120 perces inkubációs idő után hígítási sort készítettünk, 10 µl oldatot megfelelő táptalajra szélesztettünk (*S. mutans*: MSA, *L. acidophilus*: RA) (95, 96). Megfelelő inkubálás után csíraszámolást végeztünk. A vizsgálatokat ötször ismételtük meg.

2. A fluoridok tényleges hatásának vizsgálata céljából (kizárandó a tej esetleges befolyásoló hatását) fenol koeficiens vizsgálatot végeztünk. A NaF és a MFP mikroorganizmusokra kifejtett hatását a gold standardnak tartott fenol aktivitásával hasonlítottuk össze. A fluoridnak 0, 1, 5, 10, 50, 100, és 500 mg/l koncentrációit vizsgáltuk. A fenol koeficiens azt az arányt mutatja meg a hígított teszt oldat és a hígított fenol között, ahol a szer 5 perc után még nem, de 10 percen belül már előli az összes vizsgált mikroorganizmust. A vizsgálatokat háromszor ismételtük meg.

3. Bioscreen biofotometer (Labsystem, Finland) segítségével a mikroorganizmusok növekedési görbéjét is tanulmányoztuk különböző fluorid koncentráció hatása alatt (0,875 mg/l-500 mg/l NaF, MFP). A mikroplatekbe helyezett 37°C-on tartott oldatok turbiditását 24 órán keresztül vizsgáltuk. A *S. mutans*-t THB, a *C. albicans*-t SDA oldatban vizsgáltuk. A vizsgálatokat háromszor ismételtük meg.

5.3 *S. mutans* törzsek genetikai rokonságának meghatározása

A 28 db. *S. mutans* törzset 100, a kísérletben résztvevő gyermek plakkjából gyűjtöttünk össze. Minden gyerekből egy törzset használtunk fel a későbbi DNS analízishez. A gyerekek átlagéletkora 13 év volt. A résztvevők kariesz mentes, (DMFT index = 0, GI 0–1), kariesz aktív (DMFT index \geq 5, GI 0–2) és gingivitisz-es (GI \geq 2 DMFT = 0) csoportba lettek sorolva.

A gingivális indexet Loe és Sillness (97) szerint határoztuk meg. 0 = normális gingiva, 1 = enyhe gyulladás, 2 = mérsékelt gyulladás, 3 = súlyos fokú gyulladás.

A plakk mintákat a felső első moláris fogakról nyertük, 1ml steril fiziológiás sóoldatba helyeztük. Hígítási sor készítése után 0,1 ml-t, 23 mg/l bacitracint tartalmazó Mitis Salivarius agarra (MSA) (Difco Laboratories, Detroit) oltottunk. A plateket 5% CO₂ atmoszférában 37°C-on 72 órán keresztül inkubáltuk. Mindegyik plateről egy, a telepmorfológia alapján *S. mutans*-nak tartott telepet identifikáltunk API rapid ID 32 Strep diagnostic teszt és raffinóz fermentációs teszt alkalmazásával (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France). A 100 résztvevő plakk mintájából összesen 28 *S. mutans* törzset izoláltunk.

A pulsed-field gel electrophoresis analysis-sel (PFGE) történő DNS preparációig a *S. mutans* törzseket Tood-Hewitt oldatban -20°C-on tároltuk. Vizsgálatuk előtt ellenőriztük, hogy nem fertőződtek-e be.

A PFGE vizsgálat a mikroorganizmusok agaróz blokkba való ágyazásával, majd a sejtek lízisével történt. A kiszabadult kromoszómális DNS-t restriktációs enzimmel hasítottuk. A hasítási helyeket az enzim felismeri, és a DNS-t több darabra vágja. A kis agaróz blokkokat agaróz gélbe helyezve, a pulzáló mezejű gélelektroforézis méretük alapján választja szét a DNS darabokat. A baktériumok DNS mintázatát így össze lehet hasonlítani, és ez által a köztük lévő rokonsági fokot meg lehet állapítani.

A vizsgálatokat CHEF-DRII (Bio-Rad PR Z100 Reader, Redmond, WA, USA) készülékkel végeztük. A futtatás paraméterei Murchan (98) által közöltek szerint történt: blokk 1: idő 5-15 s, 6 V/cm 10 órán át, majd blokk 2: idő: 15-60s, 6 V/cm 13 órán át. Az elektródák szögét 120°-ra állítottuk be. A puffer hőmérséklete 14°C volt. A gélt félórán át ethidiumbromiddal festettük, majd a DNS mintázatot Kodak DC290-Zoom fényképezőgéppel dokumentáltuk. A DNS sávokat Bionumerics programmal (Applied Maths, Belgium) vizsgáltuk és dendogramot szerkesztettünk. A rokonsági fok megállapításánál a dendogramm megrajzolására WARD's (squared euclidean distance, variables normalized using z-scores) paramétert állítottunk be.

5.4 A D-aminosavak biofilm képződés gátló és biofilm bontó képességének vizsgálata

1. A D-aminosavak biofilm képződés gátlásának hatásosságát kevert mikroorganizmus populáción vizsgáltuk. A plakk mintákat 50%-os glicerines táplevesben -20°C -on tároltuk felhasználásáig, 1,5 ml-es Eppendorf csövekben. Felolvasztás után 37°C -os vízfürdőben 2-3 órán át szaporítottuk a baktériumokat.

A plakk mintákat (10 különböző minta) egy-egy 24 lyukú szövet (multiwell culture plate) tenyésztő platbe helyeztük. A wellékbe 1-1 ml steril táplevest adtunk majd, 15-15 μl baktérium szuszpenziót. Az irodalomban található, előzetes vizsgálatok alapján a biofilm képződését befolyásoló D-tirozin-t, D-metionin-t, D-triptofán-t és ezek kombinációját (Daa) megfelelő mennyiségben (Kolodkin-Gal és munkatársai vizsgálatait követve) adtuk közvetlenül a frissen nyert plakkokhoz (99). Az aminosavakat vízben oldottuk, kivéve a tirozin-t, aminek oldása savas közegben (HCl) történt, majd pH-ját visszaállítottuk semleges értékre. A platet 37°C -on 5 napig tenyésztettük. Két-két párhuzamos vizsgálatot végeztünk.

2. A biofilm eliminálási képesség méréséhez 30 plakk mintát vizsgáltunk. Masszív, 7 napos biofilmet képeztünk 96-lyukú microtiter platekben. Majd a táplevest leszívtuk, friss steril táptalajt és D-aminosavakat (a képződés gátlás protokollját követve) adtunk a biofilmre. A vizsgálatokat azonban 10-szeres és 100-szoros koncentrációkban is megismételtük. Mivel a szájüregben az antibakteriális szereknek csak rövid idő áll rendelkezésükre, hogy kifejtsék hatásukat, ezért a D-aminosavak rövid idő alatt kifejtett hatására voltunk kíváncsiak. 5 perc elteltével a lyukakat kétszer átmostuk steril fiziológiás só oldattal és 0,1%-os kristályibolya oldatot adtunk hozzá 1 percre. A festéket eltávolítottuk és a lyukakat alaposan átmostuk só oldattal. Ezután a biofilmben maradt festéket 70%-os alkohollal 5 percig kezeltük. Az így kapott oldatokat új microtiter platbe helyeztük és az oldatok abszorbanciáját (háttérfestést) 590 nm-en ELISA olvasóval lemértük (Bio-Rad, PR Z100 Reader, Redmond, WA, USA). Kontrollként fiziológiás sóoldatot használtunk. A biofilm mennyiségében bekövetkező változást a kontrollhoz képest adtuk meg %-ban (100).

5.5 A klór-dioxid oldat orális patogén mikroorganizmusokon kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal

A szájüreg patogén flórájából a következő mikroorganizmusokat választottuk vizsgálatunkhoz: *S. mutans* (ATCC:25175), *L. acidophilus* (ATCC314), *E. faecalis* (ATCC:29212), *V. alcalescens*, (ATCC:17745), *Eikenella corrodens* (*E. corrodens*) (ATCC23834), *Actinomyces odontolyticus* (*A. odontolyticus*) (ATCC:17929) *C. albicans* (ATCC:90028). A mikroorganizmusokból 10^5 CFU/ml szuszpenziót készítettünk denzitométer segítségével (VITEK DensiChek BioMerieux, Marcy l'Etoile, France). Az antiszeptikus oldatokból hígítási sort készítettünk. Tíz μ l baktérium vagy gomba szuszpenziót adtunk 1000 μ l oldathoz, mely fiziológiás sóoldatot és az előzetesen hígított antiszeptikumot tartalmazta (5,25 % NaOCl, 0,2% CHX, Listerine® (mentol 0,042%, timol 0,064%, metil-szalicilát 0,06% eucaliptol 0,092 %, Warner Lambert Company) vagy 0,03% ClO₂). Az antiszeptikumok hígításánál az egyes oldatok 100% aktív hatóanyag koncentrációját vettük figyelembe, így minden hígítási fokhoz azonos koncentrációjú baktérium szuszpenzió került. A mikroorganizmusokkal történő 5 és 10 perces kontaktidő után 5 μ l-et vettünk mindegyik mintából. Az aerob baktériumok esetében a mintákat véres agarra történő kioltás után 2 napig inkubáltuk 37°C-on. Az anaerob baktériumok Columbia agaron 5-6 napig Gas-Pack készülékben (Becton Dickinson Microbiology system, Cockeysville, Md. USA) 37°C-on inkubálódtak.

Az antiszeptikumok aktivitását fenol koefficiens segítségével hasonlítottuk össze. A vizsgálatokat öt alkalommal végeztük el.

A normalitás vizsgálatához Shapiro-Wilk tesztet használtunk, majd ANOVA Repeated Measures és Scheffe's post hoc teszttel végeztük a statisztikai számításokat. Az eltéréseket $p < 0,05$ esetén tartottuk szignifikánsnak. A statisztikai vizsgálatához számítógépes programot használtunk (Statistica 8. 0, StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

5.6 A klór-dioxid oldat biofilm oldó, elimináló képességének összehasonlítása antiszeptikumokkal

20 egészséges önkéntes felnőtt, felső első moláris fogáról dentális plakkot gyűjtöttünk. A DMF indexük 5-nél nem volt nagyobb, nem volt semmilyen szájüregi betegségük illetve parodontális elváltozásuk. A plakk mintákat BHI oldatba oltottuk (Difco). Másnap a mintákat friss BHI médiumba oltottuk át 1:100 arányban (100 µl) és 96-lyukú microtiter plateken (minden mintából 8 parallel kioltást végeztünk) 37°C-on 4 napig inkubáltuk, hogy masszív biofilmet kapjunk. Az *in vitro* nyert biofilm, antiszeptikumokkal történő kezelése után bekövetkező mennyiségi változását kristályibolya festéssel mutattuk ki. A biofilmeket 0,2% CHX vagy Listerine[®] vagy 0,03% ClO₂ oldattal kezeltük 1 vagy, 5 percen keresztül. Kontrollként fiziológias sóoldatot használtunk. A D-aminosavak eliminálásánál leírt kristályibolya módszert alkalmaztuk a biofilm mennyiségében bekövetkező változás méréséhez.

A normalitás vizsgálatához Shapiro-Wilk tesztet használtunk, majd ANOVA Repeated Measures és Bonferroni post hoc tesztel végeztük a statisztikai számításokat. Az eltéréseket $p < 0,05$ esetén tartottuk szignifikánsnak. A statisztikai vizsgálatához számítógépes programot használtunk (Statistica 8.0, StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

5.7 A klór-dioxid oldattal történő egyszeri öblítés hatásának vizsgálata a nyál összcsíraszámában és a *S. mutans* számban bekövetkező változáson

A vizsgálat önkéntes páciensek bevonásával történt (25-25 fő). A páciensek kiválasztásánál szempont volt: rossz szájhigiéne, 10-nél magasabb DMF érték, legalább 5 aktív kariesz. PSR érték ≥ 2 . A páciensektől 1 ml stimulálatlan nyál mintát gyűjtöttünk, steril eppendorfokban, majd Solumium Oral (0,03% ClO₂) szájvíz 20-szoros hígításával 1 percen keresztül öblögetés történt. 5 perc elteltével újabb 1 ml nyál mintát gyűjtöttünk. A minták feldolgozása 2 órán belül megtörtént. Kontrollként a Listerine legújabb és leghatásosabbnak tartott kizserelését, a Listerine Total Care-t (eukaliptol, timol, mentol, metil-szalicilát, cink-klorid, nátrium-fluorid) választottuk. A mintákból hígítási sort készítettünk. Az összcsíraszámot véres agaron, a *S. mutans*

meghatározását MSB (mitis salivarius + bacitracin) táptalajon végeztük. A tenyésztés *S. mutans* esetében 5% CO₂-os termosztátban 37°C-on 48 órán keresztül tartott. Ez után meghatároztuk a CFU/ml számot.

A normalitás vizsgálatához Shapiro-Wilk tesztet használtunk. A statisztikai számításokat Wilcoxon féle matched pair nonparametrikus teszttel végeztük. Az eltéréseket $p < 0,05$ esetén tartottuk szignifikánsnak. A statisztikai vizsgálatához számítógépes programot használtunk (Statistica 8. 0, StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

5.8 A klór-dioxid hatásának összehasonlítása standard gyökércsatorna irrigálószerrel

1. Soares és munkatársainak, egy módosított, *in vitro* modelljét alkalmaztuk gyökércsatorna irrigálószerrel antimikrobiális hatásosságának tanulmányozására (101). Korábban parodontális okok miatt eltávolított 40 egy gyökerű human fogat dekoronáltunk. A megmaradt gyökerek hossza átlag 16 mm volt. A gyökércsatornákat 25 K-file-ig (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Switzerland) feltágítottuk és autoklávban sterilizáltuk. A foramen apikalét cianoakriláttal kívülről lezártuk. A gyökereket egyenként steril BHI-t tartalmazó eppendorfbba helyeztük és 10^8 CFU/ml *E. faecalis*-sal (ATCC:29212) befertőztük, majd 37°C-on inkubáltuk. A befertőzés elősegítésére és az esetlegesen keletkező levegő buborékok elkerülése miatt 10-szer egy 15-ös spreader-t lefelé mozgattunk a csatornában. 14 napon keresztül, kétnaponként az eppendorfban lévő szuszpenziót frissítettük. A 14. napon mindegyik csatorna fertőzöttségét ellenőriztük. Papír poen-nal mintát vettünk a csatornákból. Ezeket 50 µl steril fiziológiás sóoldatot tartalmazó eppendorfbokba helyeztük és 10000 RPM fordulaton 5 percig centrifugáltuk. A felülúszóból 40 µl-t Columbia agarra oltottunk. Két nap múlva meghatároztuk a CFU/ml számot.

Az előzetesen befertőzött gyökereket random módon négy csoportba osztottuk (10 fog/csoport). A csatornákat 40-es K-file-ig feltágítottuk. A ClO₂ csoportba tartozó gyökereket a gyártó leírása szerint 0,5 ml, 0,12% Solumium Dental-lal 1 percig, majd 2 ml 20-szoros hígítású (hígítás desztillált vízzel) oldattal további 1 percig öblögettük (102). A többi csoportban a csatornák öblögetése hasonló paraméterekkel történt: 2

percig 2,5 ml 5,25% NaOCl vagy 2%-os CHX, vagy fiziológiás sóoldattal. Az irrigálószereket 2 ml steril desztillált vízzel kimostuk mindegyik gyökérből. Ezután mintát vettünk (S1) a csatornákból a fent leírt módon.

A kemo-mechanikai kezelésen átesett gyökerek külső felszínét 70%-os etil alkohollal lefertőtlenítettük és fiziológiás sóoldatot tartalmazó steril eppendorfokba helyeztük vissza. 37°C-on tároltuk, 2, majd 5 nap múlva újabb mikrobiológiai mintát (S2, S5) vettünk a gyökerekből a csatornák visszafertőződésének megvizsgálása céljából.

Normalitás vizsgálatához Shapiro-Wilk tesztet használtunk, majd a továbbiakban két utas (kezelés x idő) Repeated Measures ANOVA-t, Bonferroni post hoc teszttel. Az eltéréseket $p < 0,05$ esetén tartottuk szignifikánsnak. A statisztikai vizsgálatához számítógépes programot használtunk (Statistica 8. 0, StatSoft Inc. Tulsa, OK, USA).

Az *E. faecalis* fertőzöttséget elektronmikroszkóp segítségével (SME, Amray Inc. Bedford, MA, USA) is igazoltuk. A 14.-ik nap után két gyökeret kettévágtunk a kontroll csoportból. A második és ötödik napon egy-egy gyökeret választottunk ki a csatornák fertőzöttségének elektron mikroszkópos vizsgálatához. Így mindegyik csoportban az irrigálószerek antibakteriális hatását nyolc gyökéren vizsgáltuk.

2. 0,12% Solumium Dental, 5,25% NaOCl and 2% CHX gázfázisának antibakteriális hatását hasonlítottuk össze. Lefordított Petri csésze tetejébe szűrőpapírt helyeztünk. A papírra öntöttünk 500 μ l-t a vizsgált oldatokból. A véres agarra pedig *E. faecalis*-t oltottunk ki. A plateket parafilmmel szorosan lezártuk és 24 óráig 37°C-on tartottuk. Az *E. faecalis* növekedését, vagy annak hiányát vizsgáltuk. A vizsgálatot 20-szor ismételtük meg.

5.9 A klór-dioxid antibakteriális hatásának változása dentinpor jelenlétében

A dentinpor hatását vizsgáltuk a gyökércsatorna irrigálószerek antibakteriális aktivitásában bekövetkezett változáson. Ehhez egy módosított *in vitro* dentinpor modellt alkalmaztunk (103).

Egy kacsnyi *E. faecalis* (ATCC29212) baktériumot fiziológiás sóoldatban elkevertünk és denzitométer segítségével (VITEK DensiChek BioMerieux, Marcy l'Etoile, France) 0,5 McFarland oldatot készítettünk, hogy egy körülbelül 10^8 CFU/ml mennyiségű baktérium szuszpenziót nyerjünk. Zárt eppendorf csövekben vortex segítségével (30 sec) alaposan összekevertünk 50 μ l baktérium szuszpenziót, 50 μ l fiziológiás sóoldatot és 50 μ l antibakteriális szert. Az antibakteriális szerek a következők voltak: 2% CHX, 2,5% NaOCl, 0,12% ClO₂ (Solumium Dental) és Ca(OH)₂ (szaturált). Steril fiziológiás sóoldatot használtunk negatív kontrollként. A dezinficiáló szerek antibakteriális hatását vizsgáltuk a túlélő *E. faecalis*-on. Egy, 10, és 60 percig hagytuk a dezinficiáló szereket hatni, majd hígítási sort készítettünk az oldatokból. Véres agarra helyeztünk 100 μ l-t mindegyik hígításból és 37°C-on 24 órán át inkubáltuk azokat. A kontroll oldat baktérium mennyiségét (CFU/ml) mindig 100%-nak vettük az eredmények értékelésénél, hogy figyelembe vehessük az *E. faecalis*-nak a teszt periódus alatt történő sokszorozódását is. Az antibakteriális szerek hatása után is túlélő baktériumok mennyiségét a kontrollhoz képest százalékban adtuk meg.

Második lépésként a dentinpor antibakteriális befolyásoló hatását vizsgáltuk a fent említett dezinficiáló szereken. A dentinport humán, extrahált fogakból nyertük. A fogak gyökereiről a cement réteget eltávolítottuk és lassú fordulaton, a felmelegedést elkerülve widia fűróval a gyökér dentinjét porrá fűrtük. A dentinport autoklávban sterilizáltuk és egy olyan szuszpenziót készítettünk belőle, amely 50 μ l fiziológiás sóoldatban 28 mg port tartalmazott. Ehhez adtunk 50 μ l baktérium szuszpenziót és 50 μ l dezinficiáló szert. A dentinpor hatását olyan módon is megvizsgáltuk, hogy a dentinport egy órán keresztül elő-inkubáltuk a dezinficiáló szerekekkel, és csak ez után adtuk hozzá a baktérium szuszpenziót. A tesztelt időpontok, a hígítás, a tenyésztés, az inkubálás és a csíraszám meghatározás a fent említetteknek megfelelően történt. Minden vizsgálatot háromszor ismételtünk meg.

Következő lépésként a dentinpor mennyiségét fokozatosan csökkentettük (feleztük) 28 mg-ról 3,5 mg-ig, hogy megtudjuk mekkora az a dentinpor mennyiség, ami már nem befolyásolja a ClO₂ antibakteriális hatását. Ezt az utólagos vizsgálatot azért végeztük, mert egy korábbi vizsgálatunk eredményei (lásd később 5.8.) ellentmondásba ütköztek jelen kísérlet eredményeivel (lásd később 5.9).

Normalitás vizsgálatához Shapiro-Wilk tesztet használtunk, majd a továbbiakban két utas (kezelés x idő) Repeated Measures ANOVA-t Fisher LSD post hoc tesztel. Az eltéréseket $p < 0,05$ esetén tartottuk szignifikánsnak. A statisztikai vizsgálatához számítógépes programot használtunk (Statistica 8.0, StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

A dentinpor ClO_2 -on kifejtett hatását titrációs méréssel is megvizsgáltuk.

1. Titrálással meghatároztuk, hogy mennyi a koncentrációja az 1 ml fiziológiás sóoldatban 0,2 ml kénsavat, 0,1 ml kálium-jodidot, 50 μl ClO_2 -ot tartalmazó törzsoldatnak. Sav jelenlétében a jodidion a ClO_2 -t Cl^- -ig redukálja, miközben ő maga elemi jódá oxidálódik. A titrálásnál a jodot nátrium tioszulfáttal jód ionná redukáljuk vissza, e közben egy jód atom egy tioszulfát molekulát fogyaszt el.

2. A fent említett titrálást dentinpor jelenlétében végezzük. A két vizsgálatból nem lehet megállapítani, hogy a ClO_2 egy része redukálódott-e Cl^- á, és egy része ott maradt, vagy egy nagyobb mennyiség redukálódott, de csak ClO_2^- -ig.

Ezért a 3. lépésben a ClO_2 -ot először kénsav nélkül, majd kénsav jelenlétében, de dentinpor nélkül titráltuk. Sav nélkül adva a jód iont a rendszerhez, a ClO_2 csak ClO_2^- -ig redukálódik.

4. A harmadik lépés dentinpor jelenlétében került megismétlésre. A titrációs lépéseket 3 alkalommal ismételtük meg. A dentinpor mennyisége 50 μl fiziológiás sóoldatban 28 mg volt. Az 1 perc után bekövetkező koncentrációváltozást mértük.

5.10 A klór-dioxid szövetoldó hatásának vizsgálata

Vizsgálatunkat Cobankara és munkatársai által alkalmazott protokoll követésével végeztük (21). Fiatal, vágóhídon levágott szarvasmarhák alsó metszőfogait kihúztuk, kitörtük a mandibulából. A vizsgálat kezdetéig azokat -20°C -on tároltuk. A pulpa szövet kinyerése a koronai rész letörésével történt. A pulpa szövetet desztillált vízzel lemostuk, hogy a vért eltávolítsuk, majd leszárítottuk. 50 db megközelítően egyforma súlyú részre (30 mg) osztottuk a szövetet analitikai mérleggel (Sartorius R180D). A mérés után a szöveteket védtük a kontaminálódástól, és a kiszáradástól,

hogy a tömegük ne változzon. A szöveteket 2 ml-es eppendorfokba helyeztük és véletlenszerűen 5 csoportba osztottuk. Egy-egy csoportba 8-8 pulpa szövetet tartalmazó cső tartozott. A következő oldatok hatását vizsgáltuk; 5,25% NaOCl, 2,5% NaOCl, (pH 11), 0,12% ClO₂ (pH 6), 2% CHX (pH 6). Kontrollunk 0,9%-os NaCl volt. A tesztoldatot hozzáadtuk a pulpa szövethez és kémcsórázó (vortex) segítségével 2 percig alaposan összekevertük azokat. Ez után fecskendővel leszívtuk a tesztoldatot és frisset adtunk a szövethez, melyet ismét 2 percig hagytunk rázás közben a szövetre hatni. A folyamatot 10-szer ismételtük meg, így összességében 20 percen keresztül vizsgáltuk az oldatok szövetre kifejtett oldó hatását. A megmaradt szöveteket lemostuk desztillált vízzel, hogy a teszt oldatok hatását leállítsuk, és megszáritottuk, majd tömegüket visszamértük. A vizsgálatot háromszor ismételtük meg. A tömegváltozást százalékban fejeztük ki, a kiindulási tömeget 100%-nak véve. A statisztikai számításokat Kruskal-Wallis teszt alapján végeztük el, mivel az adatok eloszlása nem volt parametrikus.

5.11 A klór-dioxid CHX-nel, illetve EDTA-val történő kombinált alkalmazásának vizsgálata

20% CHX oldatot 1%-ra hígítottunk és 2 µl-nyi mennyiséget nagy teljesítményű folyadék kromatográfia/tömeg spektrometria (High Performance Liquid Chromatography/ mass spectroscope HPLC/MS) rendszerben futtatunk, hogy a kiinduló kromatogramot megkapjuk. Az alkalmazott készülék: Agilent 1100 series LC/MSD. Az oldatok UV spektrumát vettük fel (315 nm). A HPLC módszer vegyületek elválasztására, azonosítására használt kromatográfias eljárás MS a tömegmérés univerzális detektálást teszi lehetővé.

A CHX kromatogrammon kirajzolódó alacsony csúcsok azonosítása, mely várhatóan para-klóroanilin (PCA), oly módon történt, hogy 1 mg PCA-t 1000 µl vízben oldottunk és 5 µl-t HPLC-ben futtatunk.

Ezt követően 50 µl koncentrált hígítatlan ultratiszta 0,12% ClO₂ oldatot (Solumium Dental) adunk 1000 µl 1%-os CHX oldathoz egy lezárt fiolában. Szobahőmérsékleten 20 és 40 perc reakció idő után a keveréket HPLC/MS segítségével szeparáltuk, hogy megállapítsuk keletkezik-e új termék, emelkedik-e a PCA mennyisége.

Vizsgáltuk, hogy a PCA esetleg oxidálódik-e ClO_2 hatására. A vizsgálathoz 1 mg PCA-t vízben oldottuk és 50 μl koncentrált ultratiszta 0,12% ClO_2 oldathoz adtuk egy lezárt fiolában. A reakció ideje 4 óra volt szobahőmérsékleten.

A ClO_2 és EDTA közötti interakció vizsgálatát mágneses magrezonancia spektroszkópia (Nuclear Magnetic Resonance NMR) végeztük. A pontos módszer $^1\text{HNMR}$, ami a protonok kémiai változását oldatban vizsgálja. A módszer a vizsgálandó molekulát alkotó atommagok kvantummechanikai mágneses tulajdonságának mérésén alapszik.

Oldatok készítésénél, a szükséges koncentrációk meghatározása az oxidációhoz szükséges mennyiségek figyelembevételével történt (104). 100 mM EDTA oldatot készítettünk, melyet úgy kaptunk, hogy 372,2 mg EDTA-t 10 ml nehézvízben (D_2O) oldottunk. A 0,12%-os ClO_2 annak molekula súlyát figyelembe véve (67,46 g/mol) 17,4 mM-os oldatnak felel meg. Ehhez 10% D_2O -t adtunk, így 16 mM-os oldatot kaptunk. Ezek után 20 μl -t a 100 mM-os EDTA-ból hozzáadtunk 600 μl 0,12%-os ClO_2 oldathoz. Az EDTA végső koncentrációja így ~3 mM a ClO_2 -é 16 mM. (A D_2O szerepe a referencia szignál kezdő pontjának megadása).

$^1\text{HNMR}$ spektroszkópia: NMR vizsgálat Bruker Avance III 500 MHz spektrométerrel a $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ 9:1 arányú oldatában 1 dimenziós spektrum felvételével történt. A spektrumok kiértékelése Bruker Topspin 3.0 softwar-rel történt.

6 Eredmények

6.1 Amin-fluorid és SnF₂ tartalmú fogpaszta és szájvíz hatásának eredményei a nyál egyes mikroorganizmusaira

A *S. mutans*, a *L. achidophilus*, és a *C. albicans* csíraszám változásában, egyik csoportban sem kaptunk szignifikáns változást. A teszt csoportban a *S. mutans* értéke 5 esetben növekedett, két esetben változatlan maradt és nyolc esetben csökkent. A *Lactobacillus* értéke 6 esetben növekedett, 5 esetben változatlan maradt, és 9 esetben csökkent. A két baktérium csíraszámának mennyiségében enyhe fokú csökkenő trendet találtunk. A *C. albicans* csíraszámja gyakorlatilag változatlanak tekinthető. A kontroll csoportban egyik vizsgált mikroorganizmus csíraszámja sem mutatott jelentős változást (39).

6.2 A fluorozott tej hatásának eredményei az egyes mikroorganizmusokon

1. A NaF és MFP a tesztelt koncentrációkban, a tesztelt időtartam alatt sem a foszfát pufferben, sem a tejben nem okozott jelentős változást a mikroorganizmusok csíraszámában (1-2.táblázat).

1. táblázat

A NaF és a Na₂PO₄F hatása a *Streptococcus mutans* csíraszám változásán pH 6,5 foszfát pufferban 2 órás behatás után.

Fluorid koncentráció	Behatási idő (óra)		
	0	1	2
mg/l	CFU/ml		
	NaF		
0	6.3×10^2	1.1×10^3	1.4×10^3
1	7.5×10^2	1.3×10^3	1.3×10^3
5	3.3×10^2	1.2×10^3	7.5×10^2
10	3.2×10^2	1.5×10^2	1.2×10^3
50	1.9×10^3	6.4×10^2	4.4×10^2
	Na ₂ PO ₄ F		
0	6.3×10^2	1.1×10^3	1.4×10^3
1	3.5×10^2	8.9×10^2	2.6×10^2
5	3.3×10^2	1.6×10^3	2.2×10^3
10	7.0×10^2	4.1×10^2	5.2×10^2
50	1.0×10^3	7.8×10^2	2.9×10^2

2. táblázat

A NaF és a Na₂PO₄F hatása a *Streptococcus mutans* csíraszám változásán 1,5%-os UHT tejben 2 órás behatás után.

Fluorid koncentráció mg/l	Behatási idő (óra)		
	0	1	2
	CFU/ml		
	NaF		
0	2,1×10 ³	2,3×10 ³	2,1×10 ³
1	1,5×10 ³	1,3×10 ³	2,8×10 ³
5	2,0×10 ³	2,3×10 ³	2,1×10 ³
10	6,6×10 ²	8,6×10 ²	9,8×10 ²
50	5,8×10 ²	5,6×10 ²	8,2×10 ²
	Na ₂ PO ₄ F		
0	2,1×10 ³	2,3×10 ³	2,1×10 ³
1	1,8×10 ³	2,0×10 ³	1,9×10 ³
5	1,4×10 ³	1,6×10 ³	1,8×10 ³
10	6,4×10 ²	7,0×10 ²	1,0×10 ³
50	6,8×10 ²	6,6×10 ²	1,0×10 ³

2. A fenti eredmények felvetették a kérdést, hogy a fluoridok tesztelt formáinak az alkalmazott koncentrációkban, van-e pár percen belül bármilyen hatása a tesztelt mikroorganizmusokra? A fenol koefficiens vizsgálattal kapott eredmények azt mutatták, hogy sem a NaF-nak sem a MFP-nak az 5 és 10 perces vizsgált periódus nem volt elegendő egyik koncentrációban sem arra, hogy a mikroorganizmusokat elölje. A fenol

1:100-as hígítása 5 perc után már előlte a *S. mutans*-t és a *L. achidophilus*-t. 1:80-as hígítása pedig elegendő volt a *C. albicans* elpusztításához (3. táblázat).

3. táblázat

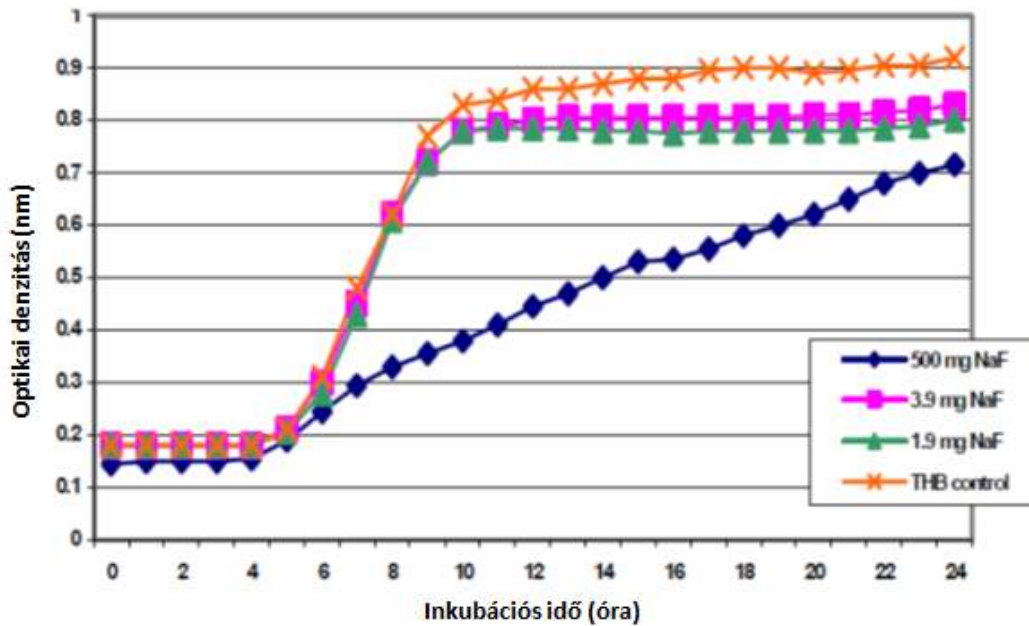
A NaF, a Na₂PO₄F és a fenol hatása a *Streptococcus mutans* 5 és 10 perces expozíció közötti túlélésére.

		Behatási idő	
		5 perc	10 perc
		Növekedés	
NaF PBS-ben pH 6,5	1 mg/l	+	+
	5 mg/l	+	+
	10 mg/l	+	+
	50 mg/l	+	+
	100 mg/l	+	+
	500 mg/l	+	+
Na ₂ PO ₄ F PBS-ben pH 6,5	1 mg/l	+	+
	5 mg/l	+	+
	10 mg/l	+	+
	50 mg/l	+	+
	100 mg/l	+	+
	500 mg/l	+	+
Fenol PBS-ben pH 6,5	1:60	-	-
	1:80	-	-
	1:100	-	-
	1:120	+	-
	1:140	+	+
	1:200	+	+
Kontroll		+	+

3. Mivel a vizsgált fluoridok nem mutattak antimikrobiális hatást, ezért a fluoridok különböző koncentrációinak hatását a *S. mutans* és a *C. albicans* 24 órán keresztüli növekedési görbéjében történő változáson vizsgáltuk. A NaF hatással volt a mikroorganizmusok növekedési görbéjére. *S. mutans* exponenciális fázisa a legmagasabb fluorid koncentrációnál ellaposodott. Az 500 mg/l-es NaF koncentráció tehát tehát már csökkentette a növekedést. A *C. albicans* lassan növekedett, a NaF alacsony koncentrációi nem változtattak ezen. Az 500 mg/l-es NaF koncentráció kiegyenesítette az exponenciális fázist és a lag fázis időtartamát megnyújtotta (5-6.

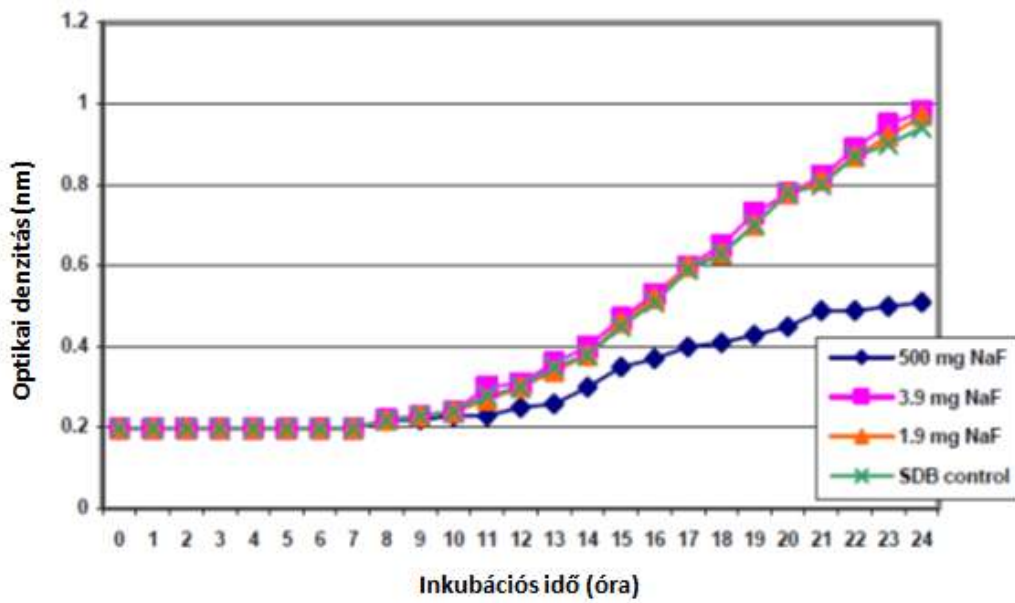
ábra). A MFP indifferensen viselkedett a mikroorganizmusok növekedési görbéjével szemben (7-8. ábra).

A tej magas denzitása miatt, a mikroorganizmusok fluoridok hatására bekövetkező növekedésgörbe változását tejben nem tudtuk tanulmányozni.



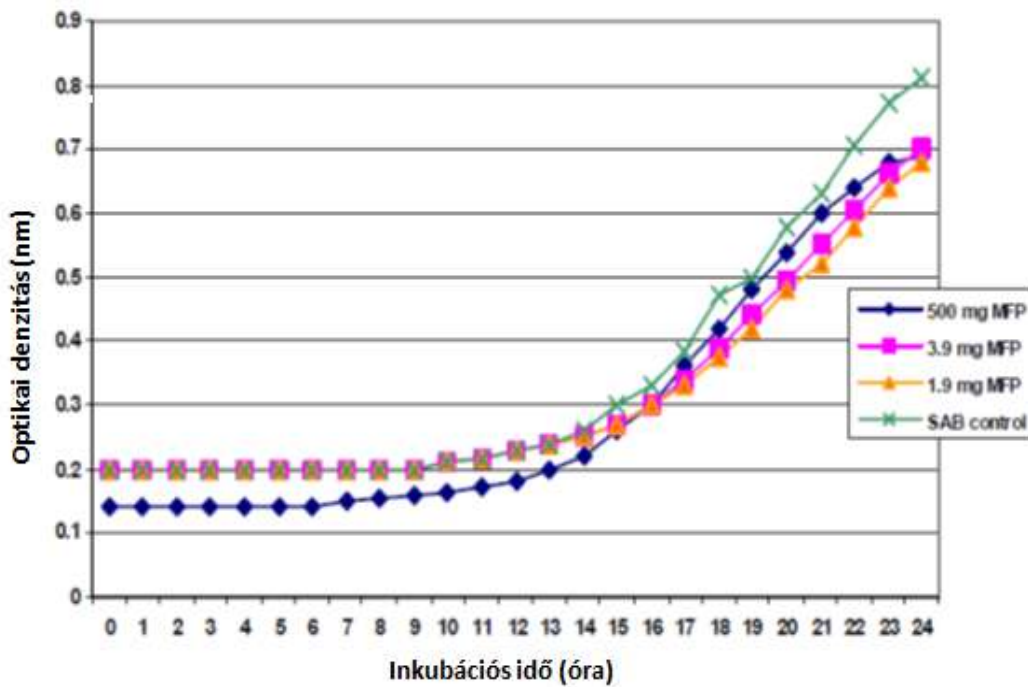
5. ábra

Streptococcus mutans növekedési görbéje NaF különböző koncentrációinak jelenlétében



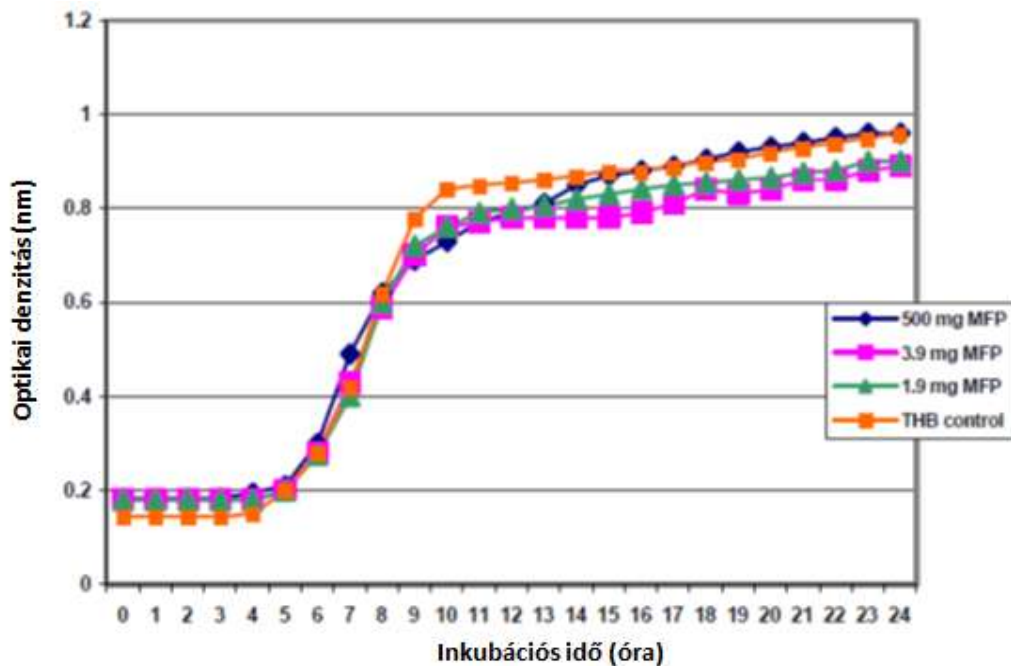
6. ábra

Candida albicans növekedési görbéje NaF különböző koncentrációinak jelenlétében



7. ábra

Streptococcus mutans növekedési görbéje MFP különböző koncentrációinak jelenlétében



8. ábra

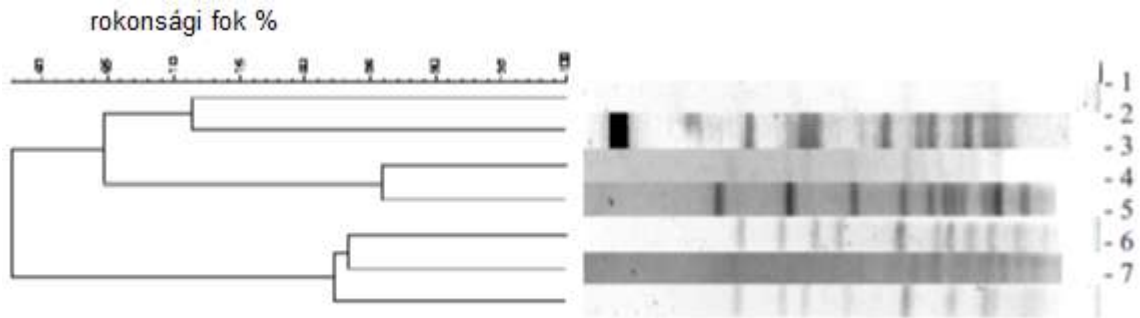
Candida albicans növekedési görbéje MFP különböző koncentrációinak jelenlétében

6.3 *S. mutans* törzs DNS mintázata és megbetegedést okozó képessége közötti összefüggés vizsgálatának eredményei

A 100 plakk mintából gyűjtött, telepmorfológia után *S. mutans*-nak tartott törzsből API diagnosztikai teszttel 35 *S. mutans* törzset identifikáltunk, melyből a raffinóz teszttel még 7 törzset zártunk ki. Ezek *S. sobrinus*-ok voltak. 28 törzsnek a filogenetikai kapcsolatát vizsgáltunk PFGE módszerrel. Szigorú statisztikai kritériumokat alkalmaztunk (70%-os megegyezés) az izolátumok közötti egyformaság, vagy különbség megállapításához.

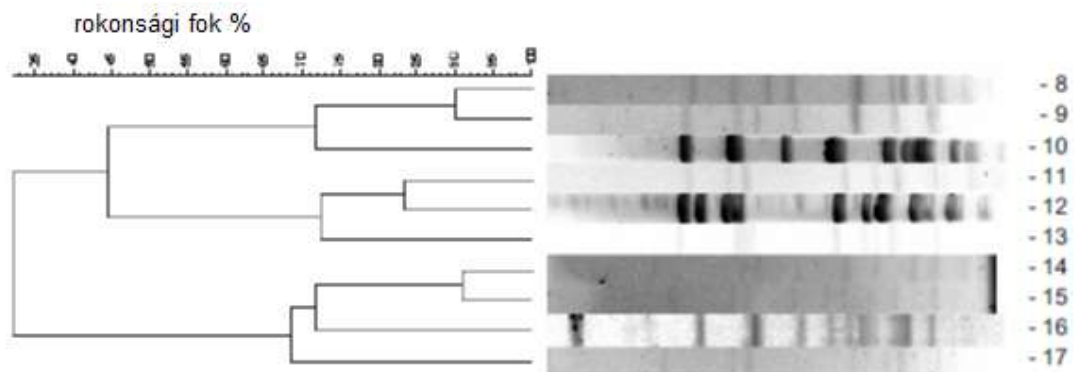
A kariesz aktív csoportban 7 *S. mutans* törzset vizsgáltunk és 3 különböző PFGE mintázatot találtunk (9. ábra). A kariesz mentes csoport 10 törzsében szintén 3 különböző PFGE mintázatot találtunk (10. ábra). A 11 gingivitiszes csoportba tartozó törzsek között 3 különböző mintázat fordult elő. Ebben a csoportban 2 ugyanolyan

(identikus) törzset találtunk (11. ábra). Az összes törzs sávjainak (bands) vizsgálata során összesen 3 egymással megegyező, azaz identikus párt találtunk, melyből csak egy pár származik ugyanabból a vizsgálati csoportból (12. ábra) (105).



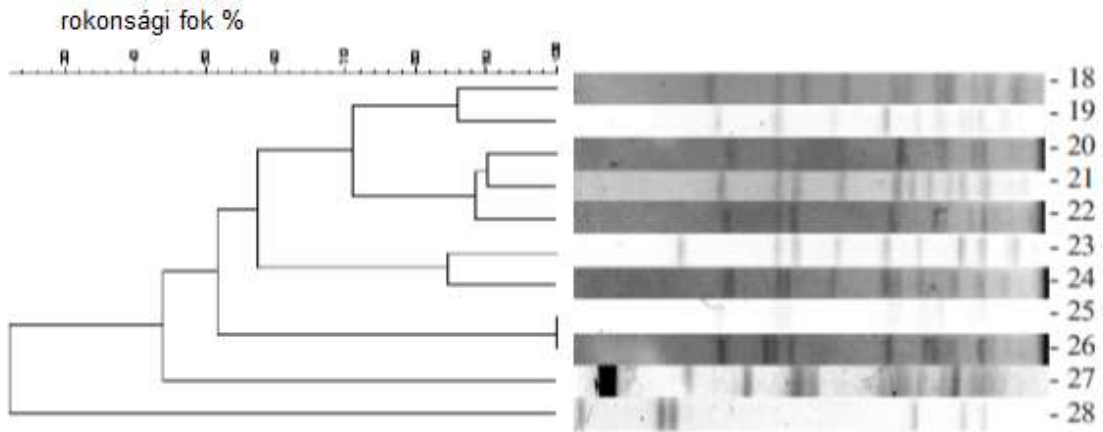
9. ábra

Streptococcus mutans filogenetikai mintázata kariesz aktív csoportban



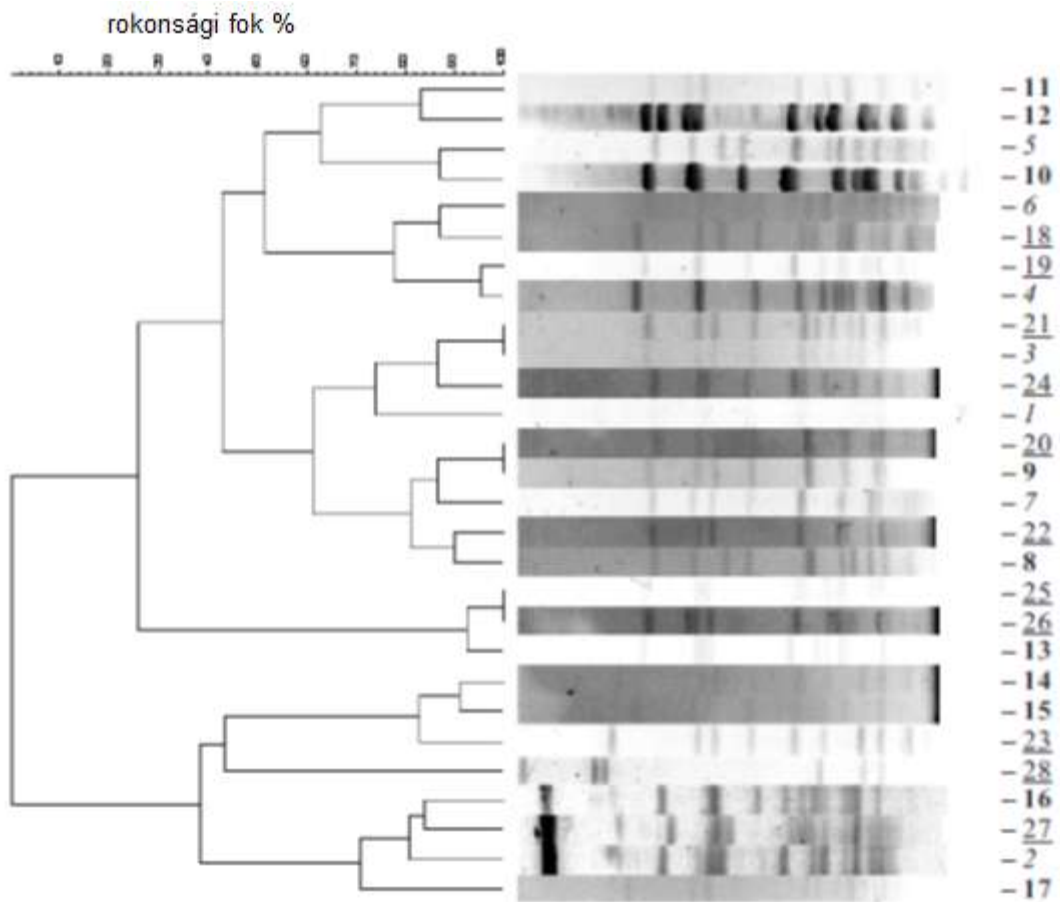
10. ábra

Streptococcus mutans filogenetikai mintázata kariesz mentes csoportban



11. ábra

Streptococcus mutans filogenetikai mintázata gingivitiszes csoportban



12. ábra

Streptococcus mutans filogenetikai mintázata a három csoportot összevetve

Félkövér számok: kariesz mentes csoport, dőlt számok: kariesz aktív csoport, aláhúzott számok: gingivitiszes csoport *S. mutans* törzsei

6.4 A D-aminosavak biofilm képződést gátló, illetve biofilm bontó képességének eredményei

Vegyes plakk flóra esetén is megfigyelhető volt a biofilm képződés gátlásának csökkentése D- metionin és D-triptofán alkalmazása esetén (13. ábra).



13. ábra

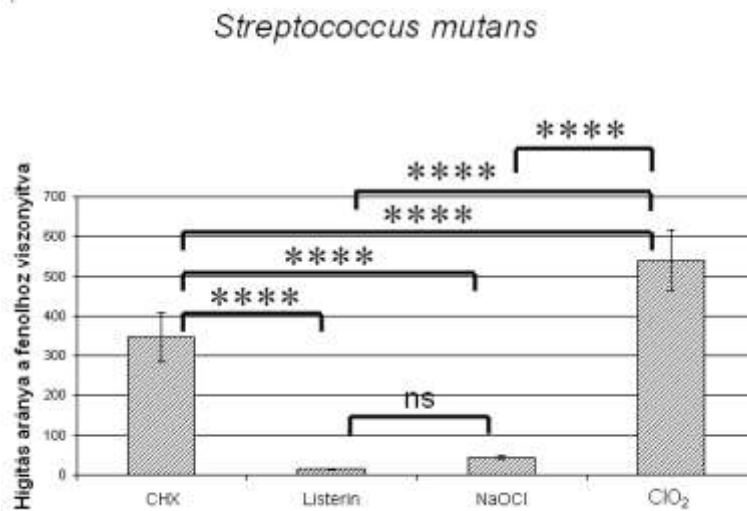
Biofilm képződés gátlása

K= kontroll, AA=négy D-aminosav keveréke, TYRO= D-tirozin, MET= D-metionin, TRYP= D-triptofán, kontrollhoz képest kevesebb biofilm képződött a karikával jelölt helyeken

A masszív biofilm eliminálásának ELISA-val történő értékelése azt mutatta, hogy a vizsgált koncentrációkban és időtartam alatt a D-aminosavak szinte hatástalanok voltak a biofilm mennyiségére. D- metionin esetében átlagban 10%-os, D-triptofán kezelés után 8%-os biofilm mennyiség csökkenést tapasztaltunk a kontroll értékhez képest. Az aminosavak koncentrációjának emelése nem változtatta a hatásosságot.

6.5 A klór-dioxid oldat orális patogén mikroorganizmusokon kifejtett hatásának eredményei

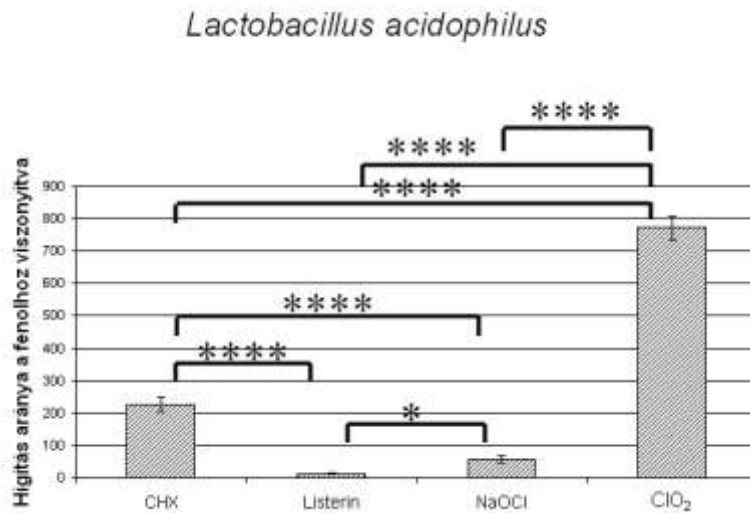
Minden esetben a vizsgált antiszeptikumok hatása szignifikánsan erősebb volt a fenolnál. A nagytisztaságú ClO₂ oldat aerob, fakultatív anaerob (*E. faecalis*, *S. mutans*) baktériumokon és *Candidán* kifejtett hatása szignifikánsan erősebb volt a többi dezinficiáló szerhez képest (14-17. ábra). Az anaerob módon tenyésztett fakultatív anaerob (*V. alcalescens*, *A. odontolyticus*) és anaerob (*Eikenella corrodens*) baktérium esetében a ClO₂ hatása hasonló volt a CHX oldatával, de mindkét oldat szignifikánsan erősebbnek bizonyult, mint a NaOCl vagy a Listerine® (18-20. ábra). Az ábrák azt mutatják, hogy a vizsgált oldatnak mennyivel nagyobb hígítása elegendő a fenolhoz képest ahhoz, hogy ugyan- azt az antimikrobiális hatást elérje.



14. ábra

A ClO₂ oldat *S. mutans*-on kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal

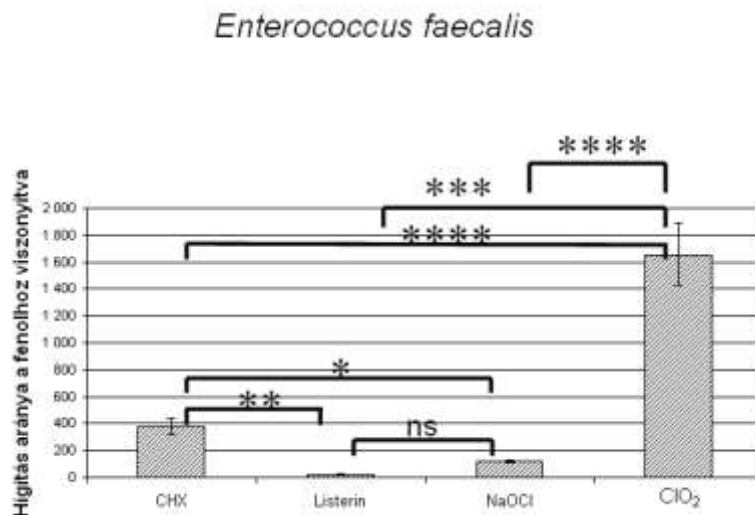
ClO₂ volt a leghatásosabb szer (540 x dilution/phenol dilution (d/phd)) szemben a CHX-nel (346 x d/phd), NaOCl (44 x d/phd) és a Listerine®-nel (14 x d/phd) a *S. mutans*-on. (Átlag ± SEM; ****: p < 0,0001; ns = nincs szignifikancia).



15. ábra

**A ClO₂ oldat *L. acidophilus*-on kifejtett hatásának összehasonlítása
antiszeptikumokkal**

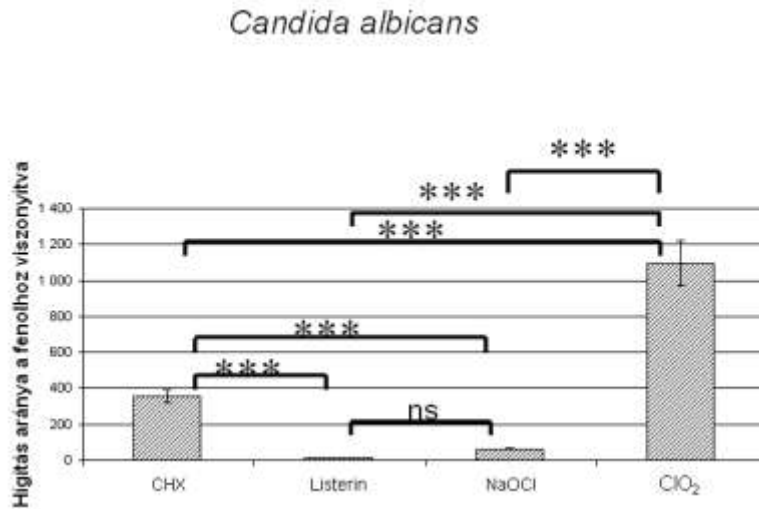
A ClO₂ hatása (772 x dilution/phenol dilution (d/phd)) a CHX (226 x d/phd), a NaOCl (57 x d/phd) és a Listerine® (13 x d/phd) hatásához képest *L. acidophilus*-on látható (Átlag ± SEM; *: p<0,05; ****: p<0,0001).



16. ábra

A ClO₂ oldat *E. faecalis*-on kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal

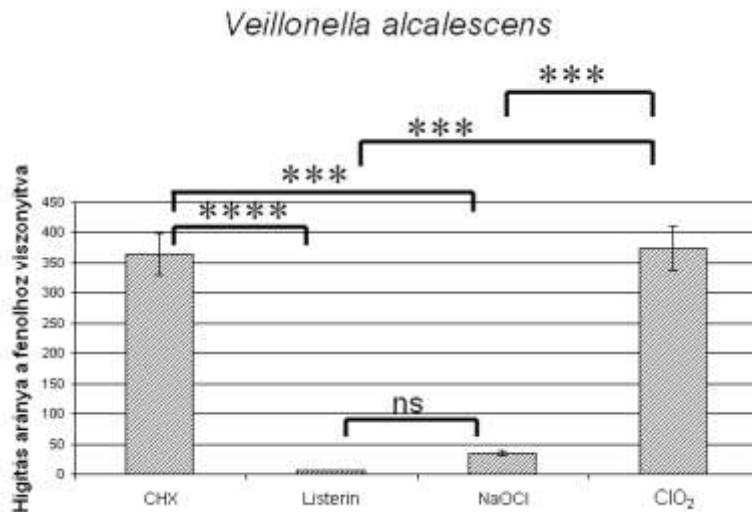
ClO₂ sokkal hatásosabb volt (1654 x dilution/phenol dilution (d/phd)) a CHX (379 x d/phd), a NaOCl (122 x d/phd) és a Listerine®-hez (22 x d/phd) képest *E. faecalis*-on. (Átlag ± SEM; *: p<0,05; **: p<0,01; ****: p<0,0001; ns = nincs szignifikancia).



17. ábra

A ClO₂ *C. albicans*-on kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal

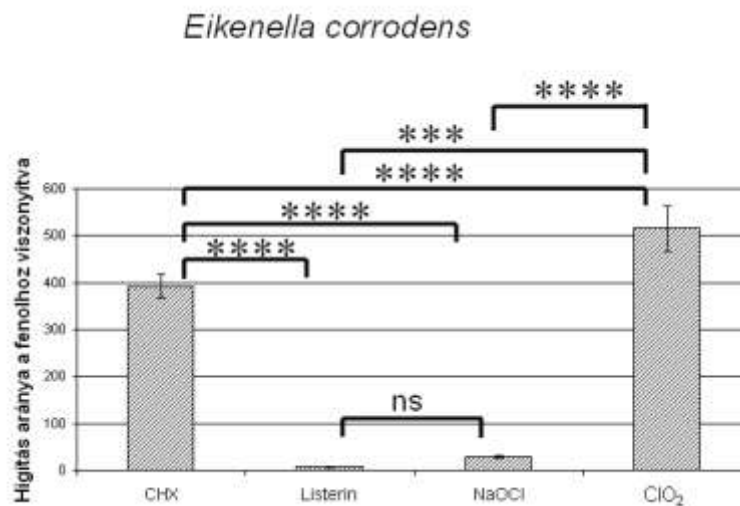
ClO₂ volt a leghatásosabb szer (1095 x dilution/phenol dilution (d/phd)) CHX (379 x d/phd) a NaOCl (64 x d/phd) és Listerine®-nel szemben (13 x d/phd) *C. albicans*-on (Átlag ± SEM; ****: p<0,0001; ns =nincs szignifikancia).



18. ábra

A ClO₂ *V. alcalescens*-en kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal

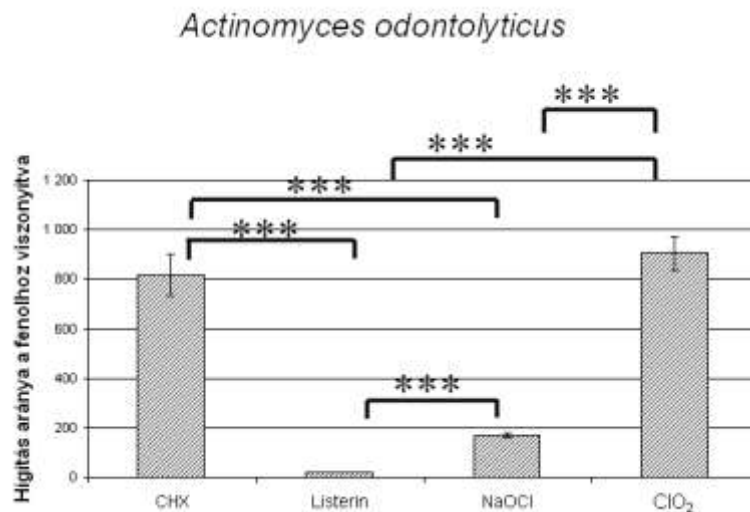
ClO₂-nak és a CHX –nek hasonló hatása volt (374 and 364 x dilution/phenol dilution (d/phd)), és mind kettő hatásosabb volt a NaOCl-nál (35 x d/phd) és Listerine®-nél (6 x d/phd) on *V. alcalescens*. (Átlag ± SEM; ****: p<0,0001; ns = nincs szignifikancia).



19. ábra

A ClO₂ *E. corrodens*-en kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal

A ClO₂ hatása volt a legmagasabb (516 x dilution/phenol dilution (d/phd)) a CHX (392 x d/phd), a NaOCl (29 x d/phd) és a Listerine®-hez (7 x d/phd) képest *E. corrodens*-zen (Átlag ± SEM; ****: p<0,0001; ns = nincs szignifikancia).



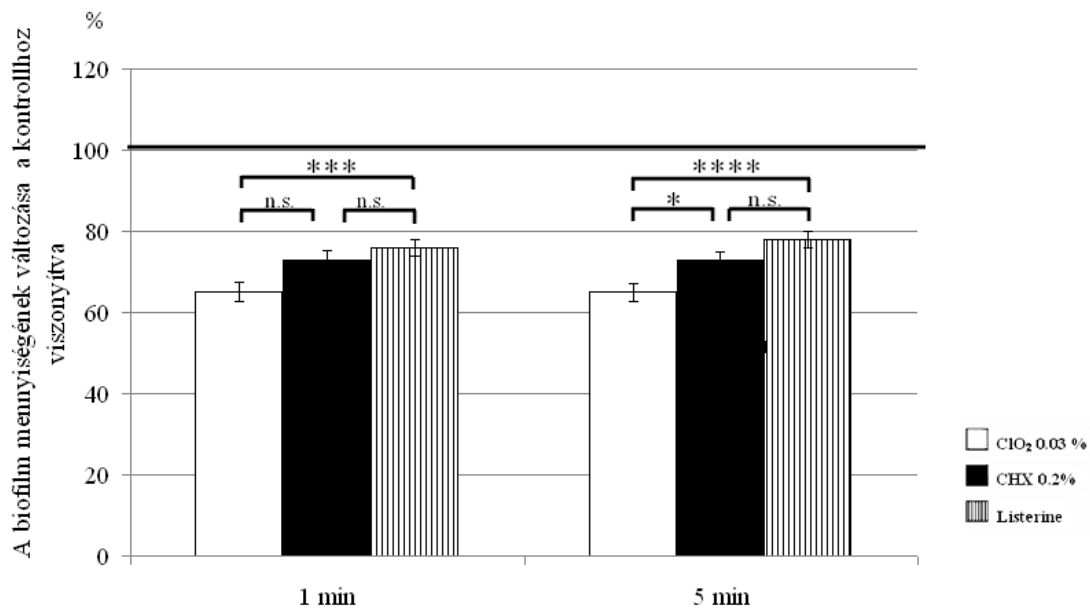
20. ábra

A ClO₂ *A. odontolyticus*-on kifejtett hatásának összehasonlítása antiszeptikumokkal

ClO₂ volt a leghatásosabb szer (904 x dilution/phenol dilution (d/phd)) a CHX (818 x d/phd), a NaOCl (168 x d/phd) és a Listerine®-hez képest (20 x d/phd) *A. odontolyticus*-on. (Átlag ± SEM; ***: p<0,001; ****: p<0,0001).

6.6 A klór-dioxid oldat biofilm oldó, elimináló képességének eredményei *in vitro*

A tesztelt szájvizek mindegyike szignifikánsan csökkentette az *in vitro* képzett orális biofilm mennyiségét a kontrollként alkalmazott fizioológias sóoldathoz képest a vizsgált időpontokban (p<0,0001). Az oldatok biofilm bontó aktivitásában az egy és öt perces behatás után történő vizsgálatnál nem volt szignifikáns különbség. A ClO₂ biofilm elimináló képessége a Listerine®-hez képest egy és öt perc után is szignifikánsan nagyobb volt, míg CHX esetében a szignifikáns különbség öt percnél valósult meg. A Listerine® és a CHX között nem volt a vizsgált időpontokban szignifikáns különbség (21. ábra).



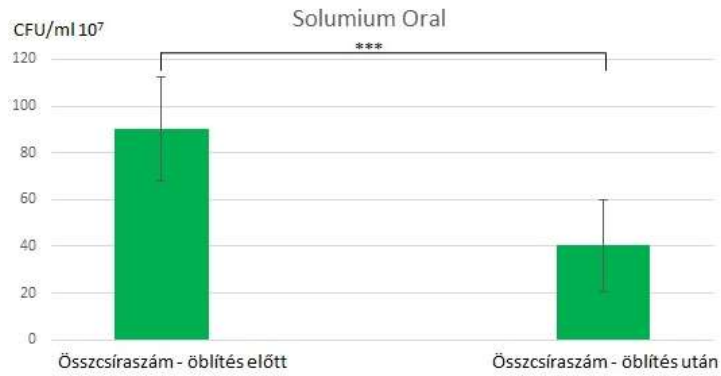
21. ábra

A ClO₂, CHX és Listerine® biofilm oldó kapacitása

A fiziológiás sóoldathoz (100%) hasonlított, százalékban kifejezett változása a biofilm mennyiségének 1 és 5 perces behatás idő után (átlag ±SEM; *: p<0,05; ***: p<0,001; ****: p<0,0001; ns = nincs szignifikancia)

6.7 A klór-dioxid oldattal történő egyszeri öblítés hatásának eredménye *in vivo*

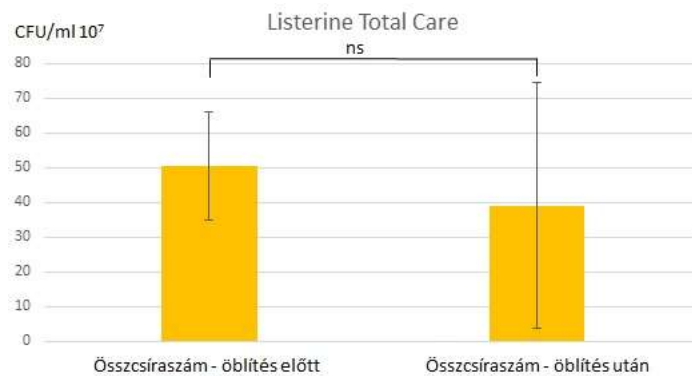
A Solumium Oral szignifikánsan csökkentette a nyál összcsíraszámát (22. ábra), míg a Listerine Total Care alkalmazásakor nem történt szignifikáns változás az egy percgig tartó öblögetés után (23. ábra). A *S. mutans* számát mind a két oldat szignifikánsan csökkentette (24-25. ábra). A szignifikancia szinteket figyelembe véve azonban a Solumium oldat hatása erőteljesebbnek mutatkozott.



22. ábra

Solumium Oral hatása az összcsíraszám változásra

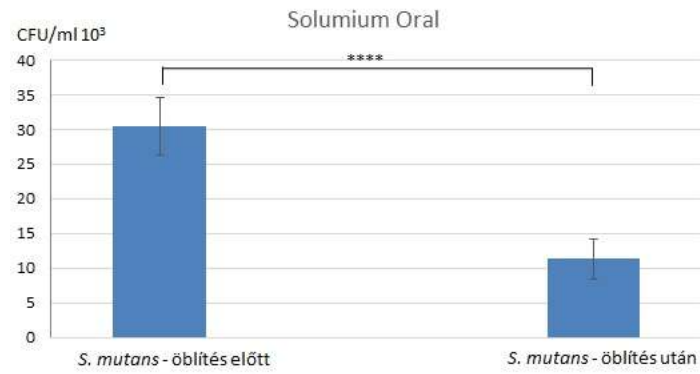
Összcíraszám változás bemutatása öblítés előtt és után (átlag \pm SEM; ***: $p < 0,001$)



23. ábra

Listerine Total Care hatása az összcsíraszám változásra

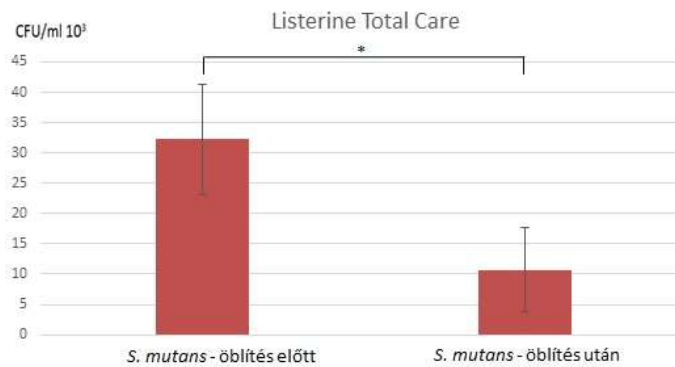
Összcíraszám változás bemutatása öblítés előtt és után (átlag \pm SEM; ns= nincs szignifikancia)



24. ábra

Solumium Oral hatása a *S. mutans* számának változására

S. mutans szám változás bemutatása öblítés előtt és után (átlag \pm SEM; ****: $p < 0,0001$;))



25. ábra

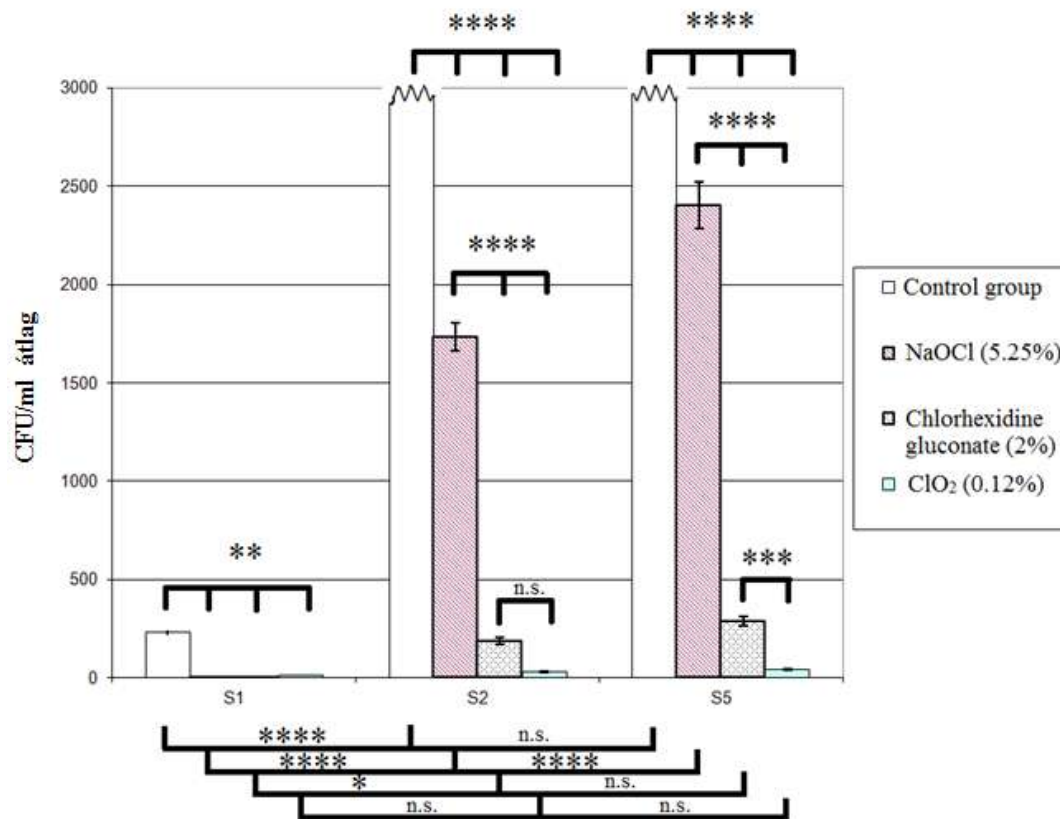
Listerine Total Care hatása a *S. mutans* számának változására

S. mutans szám változás bemutatása öblítés előtt és után (átlag \pm SEM; *: $p < 0,05$))

6.8 A klór-dioxid hatásának összehasonlítása standard gyökércsatorna irrigálószerrel

1. Antibakteriális hatás eredményei

A 14. nap után mindegyik gyökércsatorna fertőzött volt. A kemo-mechanikai kezelést követően csak a kontroll csoportból tudtuk az *E. faecalis*-t kimutatni. A tesztelt irrigálószer használata után nem volt detektálható baktérium mennyiség (23. ábra). A kontroll csoporthoz képest mindegyik irrigálószer használata után a dentintubulusokban maradt *E. faecalis* mennyisége (a visszafertőződése) szignifikánsan alacsonyabb volt a második nap után. A NaOCl és a CHX között illetve a NaOCl és a ClO₂ között azonban a második nap után már szignifikáns eltérés mutatkozott a visszafertőződésben. A NaOCl csoportban jelentősen emelkedett az *E. faecalis* csíraszám. A CHX és a ClO₂ között nem találtunk különbséget. A visszafertőződés vizsgálatának ötödik napján minden irrigálószer között szignifikáns különbség volt megállapítható. A második és az ötödik nap után mért eredmények azt mutatták, hogy a NaOCl csoportban a baktériumok mennyisége az ötödik napra szignifikánsan tovább emelkedett. A többi csoportra ez nem volt jellemző. Az eredményekből megállapíthatjuk, hogy a ClO₂ akadályozta meg leghatékonyabban az *E. faecalis* visszaszaporodását. Ebben a csoportban a vizsgált nyolc gyökérből öt esetben egyáltalán nem tudtunk baktériumot visszatenyészteni sem a második sem az ötödik nap után. Tehát a legkisebb mértékű visszafertőződést (CFU mennyiséget) a ClO₂-dal kezelt csoportban kaptuk a második és ötödik nap után is (26. ábra).



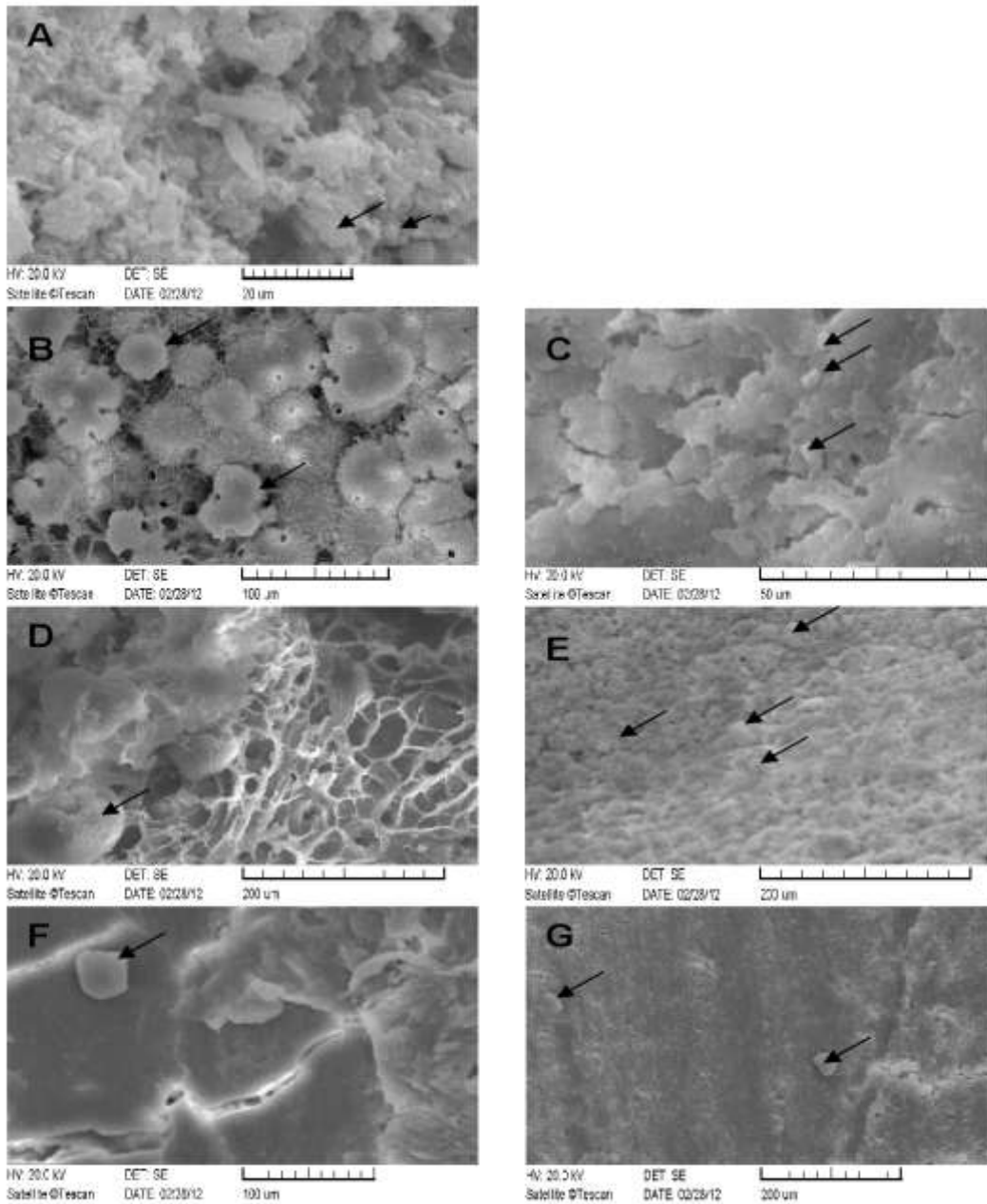
26. ábra

Irrigálószeres antibakteriális tulajdonsága mesterségesen fertőzött gyökércsatornáknak *in vitro*

E. faecalis mennyisége közvetlenül a kemo-mechanikai preparálás után (S1), illetve 2 (S2) és 5 (S5) nap múlva. (átlag \pm SEM, hullámos vonal megszámlálhatatlan mennyiség)

*: $p \leq 0,05$; **: $p \leq 0,01$; ***: $p \leq 0,001$; ****: $p \leq 0,0001$; n.s.=nincs szignifikancia)

A gyökércsatornák átmetszetéből készült SEM képek megerősítették a kapott összecsíraszám eredményeit (27. ábra). A kontroll csoportban (A), a gyökér felszín a 14. nap után teljesen fedve volt baktériumokkal. A CFU mennyisége jelentősen emelkedett a második és ötödik nap után a NaOCl (B, C,) és a CHX csoportban (D, E,) is. Míg ClO₂-dal történő irrigálás után (F, G,) csak egy pár detektálható *E. faecalis* fordult elő. Megállapítottuk, hogy a visszafertőződést legjobban a ClO₂ akadályozta meg.



27. ábra

Gyökércsatorna felszínek Scanning elektronmikroszkópos képei

A scanning electron mikroszkópos képek bemutatják; A) a kontroll csoport az *E. faecalis*-szal történő fertőzés után a 14. napon tele van baktériummal; B és C) a NaOCl

csoportban a második és ötödik nap után a visszafertőződés következtében nagy mennyiségű baktérium: D) a CHX csoportban két nap után a visszafertőződés következtében megnövekedett baktérium szám, E) az egész felszínt beborítják az ötödik nap után a baktériumok; F és G) elhanyagolható mennyiségű baktérium a ClO₂ csoportban a második és ötödik nap után. A nyilak a baktériumokra mutatnak.

2. Az irrigálószeres gázfázisának eredményei

A 0,1 % ClO₂, 5,25% NaOCl és a 2% CHX gázfázisának antibakteriális hatását vizsgálva megállapítottuk, hogy a véres agarra oltott *E. faecalis* növekedését az abszorpciós papírra öntött NaOCl és ClO₂ megakadályozta, míg CHX hatása miatt a gázfázis hiánya miatt a véres agaron kinőttek az *E. faecalis* törzsek. A ClO₂ gázfázisának hatása jelentős szereppel bírhat a gyökérkezelés során az oldal csatornák fertőtlenítésében.

6.9 A klór-dioxid antibakteriális hatásának változása dentinpor jelenlétében

Dentinpor nélkül a nagytisztaságú ClO₂ már egy perc után teljesen előlte az *E. faecalis*-t a Ca(OH)₂ pedig 60 perc után (28/A ábra). A CHX és a NaOCl esetében mindhárom tesztelt (1, 10, 60 perc) periódusban voltak túlélő baktériumok, melyek mennyisége azonban csökkent az idővel. A csökkenés mértéke nem volt szignifikáns.

Dentinport adva a tesztelt szerekhez, a túlélő *E. faecalis* mennyisége a ClO₂ és a Ca(OH)₂ esetében szignifikánsan emelkedett 10 perc után, összehasonlítva a dentinpor nélküli kezeléssel kapott eredményekkel (28/A ábra). Ez a növekedés 60 perc után tovább folytatódott a Ca(OH)₂-nál. A dentinpor ugyanakkor nem változtatta meg a CHX és a NaOCl antibakteriális hatását szignifikánsan a vizsgált teszt periódusokban. A dezinficiáló szerek dentinporral történő 60 perces előinkubálása szignifikánsan csökkentette az összes szer hatását (28/A ábra).

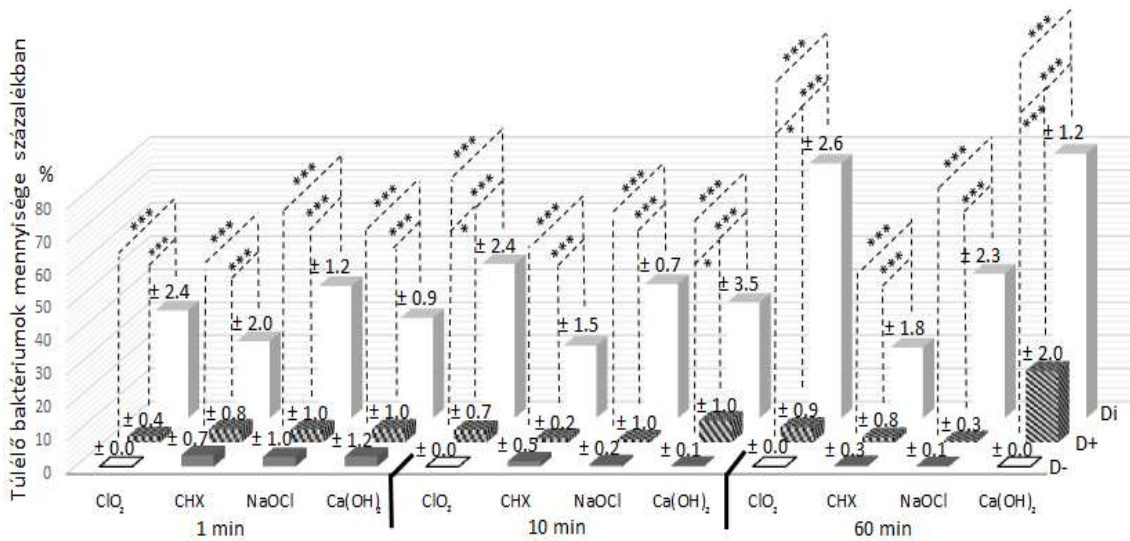
Az idő függvényében a dentinpor nélküli kezelésnél nem történt szignifikáns változás az antibakteriális hatásban (28/B ábra). A dentinporral történő kezelés csak a

Ca(OH)₂ hatását változtatta meg jelentősen az 1 és 60 perces eredményeket összevetve (28/B ábra). A 60 perces előinkubálás után az életben maradt baktériumok mennyisége szignifikánsan növekedett a ClO₂ a Ca(OH)₂ és a NaOCl alkalmazásakor (28/B ábra).

A vizsgált oldatokat egymáshoz hasonlítva (alcsoportok vizsgálata egy féle kezelés egy időpontban) a következő eredményeket kaptuk: Dentinpor nélkül a vizsgált szerek antibakteriális hatása között található 1 és 10 perces behatás utáni szignifikáns különbségek 60 perc után már megszűntek (4. táblázat). Dentinporral a ClO₂ és a Ca(OH)₂ antibakteriális hatása 10 és 60 perc után már szignifikánsan gyengébbnek bizonyult a CHX és NaOCl-hez képest (4. táblázat). A 60 perces előinkubálás után a ClO₂ és a Ca(OH)₂ dezinficiáló hatása alacsonyabbnak bizonyult a CHX és a NaOCl hatásánál 60 perc után (4. táblázat).

Egy további kísérletben azt találtuk, hogy amikor a dentinpor mennyiségét fokozatosan lecsökkentettük 3,5 mg-ra akkor ez a mennyiség már nem változtatta meg a ClO₂ antibakteriális hatását egyik időpontban sem.

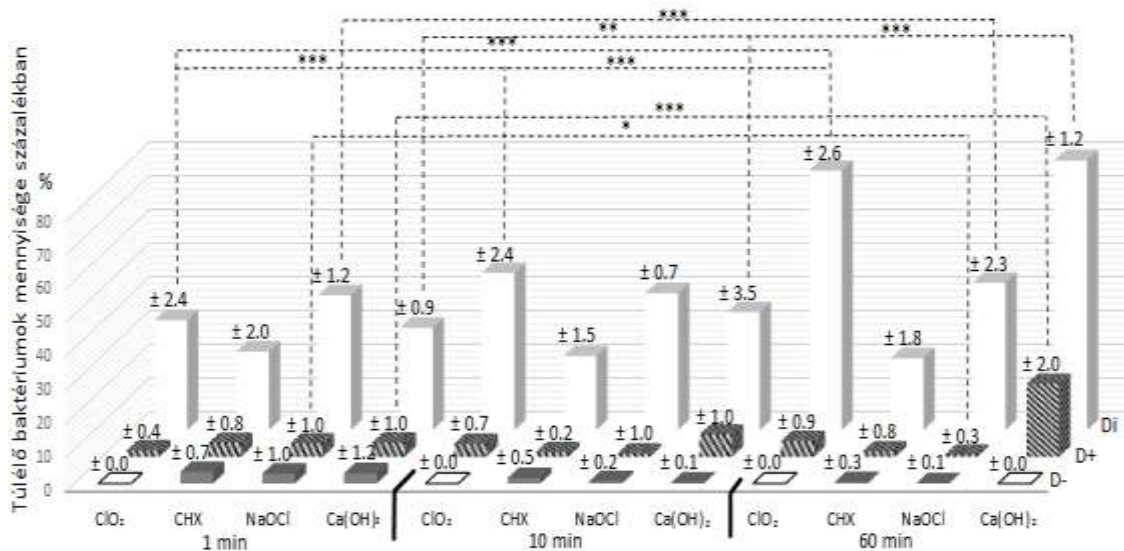
A dentinporral történő titrálási sorozat azt bizonyította, hogy adott körülmények között nem fogyott el az összes ClO₂. A kiinduló törzsoldatban 66 ppm volt a ClO₂ koncentrációja. 1 percig tartó dentinpor behatás után ez 40 ppm-re változott. A titrálási sorozat is bebizonyította, hogy ha a ClO₂ reakcióba lép, akkor redukciója nem áll meg egy közbülső oxidációs fokon, hanem egészen kloridig történik a redukálódás.



28/A ábra

Dentinpor hatása az antibakteriális szerekre

Szignifikancia vizsgálat a túlélő baktériumok dentinpor nélkül (D-), dentinporral (D+), és dentinporral történő előinkubálást követő (Di) kezelése után. (Átlag± SEM; *: p<0,05; ***: p<0,001)



28/B ábra

Dentinpor hatása az antibakteriális szerekre

Szignifikancia vizsgálat a különböző teszt periódusokban a túlélő baktériumok dentinpor nélkül (D-), dentinporral (D+), és dentinporral történő előinkubálást követő (Di) kezelése után az idő függvényében. (Átlag± SEM; *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001)

4. táblázat

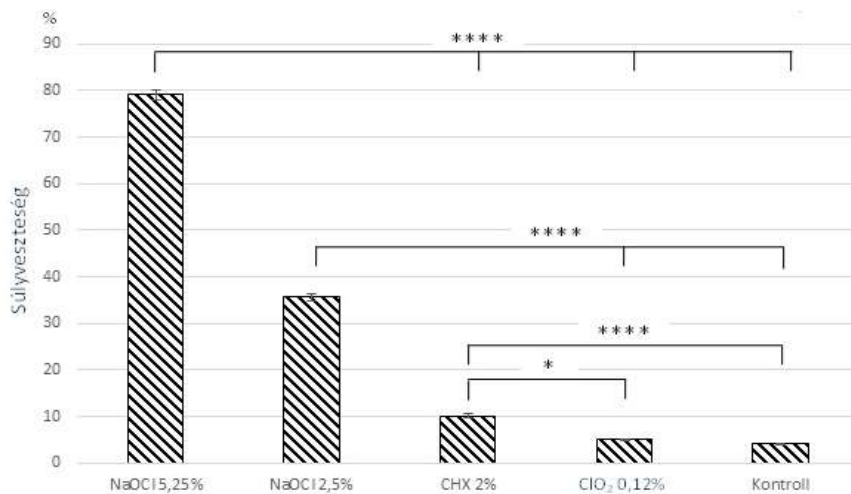
Dezinficiáló szerek statisztikai kereszt táblája a különböző teszt periódusokban, dentinpor nélkül, dentinporral és egy óras dentinporral történő előinkubálás után.

A fehér cellákban a jelek a post hoc teszt eredményeit mutatják az összes eredmény között (három féle kezelés három időpontban). A szürke cellák az alcsoportok közötti adatokat veszi csak figyelembe (egy féle kezelés egy időpontban) Jelek:* $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$; n.s.= nincs szignifikancia.

	Dentinpor nélkül				
	CIO₂ (1 min)	CHX (1 min)	NaOCl (1 min)	Ca(OH)₂ (1 min)	
Dentinpor nélkül	CIO₂ (1 min)		*	n.s.	n.s.
	CHX (1 min)	**		n.s.	n.s.
	NaOCl (1 min)	*	n.s.		n.s.
	Ca(OH)₂ (1 min)	*	n.s.	n.s.	
	Dentinpor nélkül				
	CIO₂ (10 min)		n.s.	n.s.	n.s.
	CHX (10 min)	***		n.s.	n.s.
	NaOCl (10 min)	n.s.	*		n.s.
	Ca(OH)₂ (10 min)	n.s.	**	n.s.	
	Dentinpor nélkül				
	CIO₂ (60 min)		n.s.	n.s.	n.s.
	CHX (60 min)	n.s.		n.s.	n.s.
NaOCl (60 min)	n.s.	n.s.		n.s.	
Ca(OH)₂ (60 min)	n.s.	n.s.	n.s.		
Dentinporral	Dentinporral				
	CIO₂ (1 min)		n.s.	n.s.	n.s.
	CHX (1 min)	*		n.s.	n.s.
	NaOCl (1 min)	n.s.	n.s.		n.s.
	Ca(OH)₂ (1 min)	*	n.s.	n.s.	
	Dentinporral				
	CIO₂ (10 min)		n.s.	n.s.	n.s.
	CHX (10 min)	*		n.s.	**
	NaOCl (10 min)	**	n.s.		**
	Ca(OH)₂ (10 min)	**	***	***	
	Dentinporral				
	CIO₂ (60 min)		n.s.	*	***
CHX (60 min)	n.s.		n.s.	***	
NaOCl (60 min)	*	n.s.		***	
Ca(OH)₂ (60 min)	***	***	***		
Dentinporral előinkubálva	Dentinporral előinkubálva				
	CIO₂ (1 min)		***	***	n.s.
	CHX (1 min)	**		***	***
	NaOCl (1 min)	*	***		n.s.
	Ca(OH)₂ (1 min)	n.s.	*	**	
	Dentinporral előinkubálva				
	CIO₂ (10 min)		***	***	***
	CHX (10 min)	***		***	***
	NaOCl (10 min)	*	***		***
	Ca(OH)₂ (10 min)	***	***	*	
	Dentinporral előinkubálva				
	CIO₂ (60 min)		***	***	n.s.
CHX (60 min)	***		***	***	
NaOCl (60 min)	***	***		***	
Ca(OH)₂ (60 min)	n.s.	***	***		

6.10 A ClO₂ szövetoldó hatásának eredménye

A marhapulpa szövetek gyökércsatorna irrigálószerrel történő kezelése után a következőket tapasztaltuk. A kontroll oldat súlyvesztése 4%-os volt. A ClO₂-é pedig 5%-os. Az 5,25%-os NaOCl használata átlagosan 79%-kal csökkentette a pulpa szövet súlyát. A megmaradt szövet több apró darabra esett szét. Néhány mintából nem is tudtunk mérést végezni, mert a szövet teljesen feloldódott. A 2,5%-os NaOCl esetében a súlyváltozás 35 %-os volt. A 2%-os CHX hatására 10%-os súlyvesztést mértünk (29. ábra).

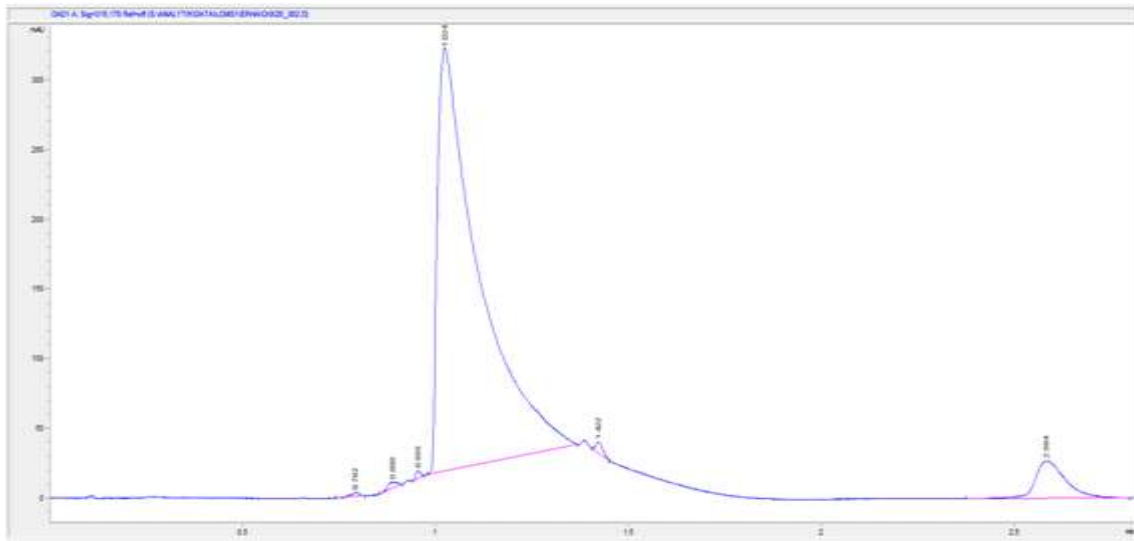


29. ábra

Szarvasmarha pulpa szövetoldódása

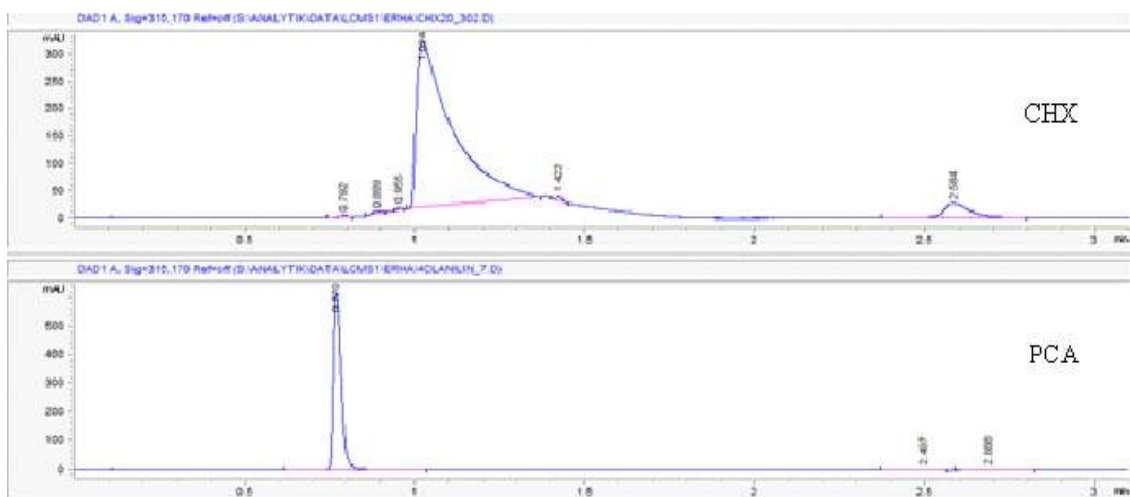
Gyökércsatorna irrigálószeres szövetoldó képességének összehasonlítása (Átlag± SEM; p<0,05; ****: p<0,0001)

6.11 A klór-dioxid interakciója CHX-nel , illetve EDTA-val



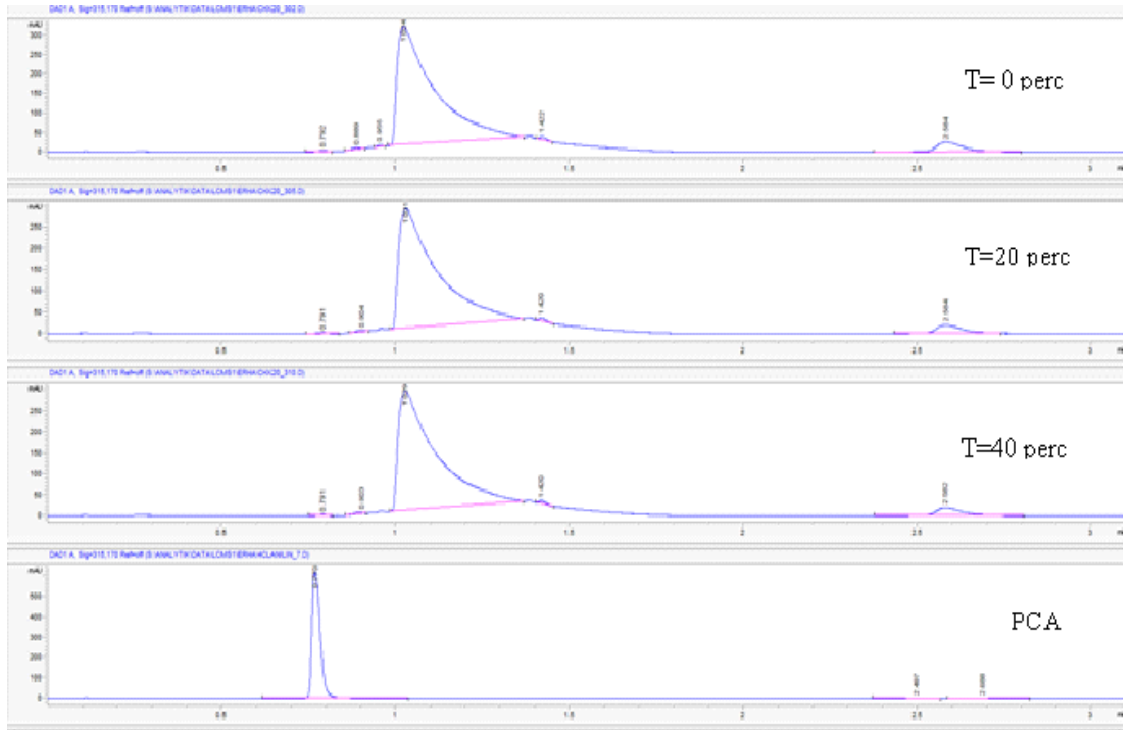
30. ábra
A CHX UV spektruma

A CHX kromatográfiai ábráján látható, hogy a guadin csoportnak megfelelően egy széles csúcs rajzolódik. Az oldat számos apró szennyeződést tartalmaz (alacsony csúcsok) (30. ábra.)



31. ábra
A CHX UV referencia spektrumát hasonlítja össze a PCA UV spektrumával

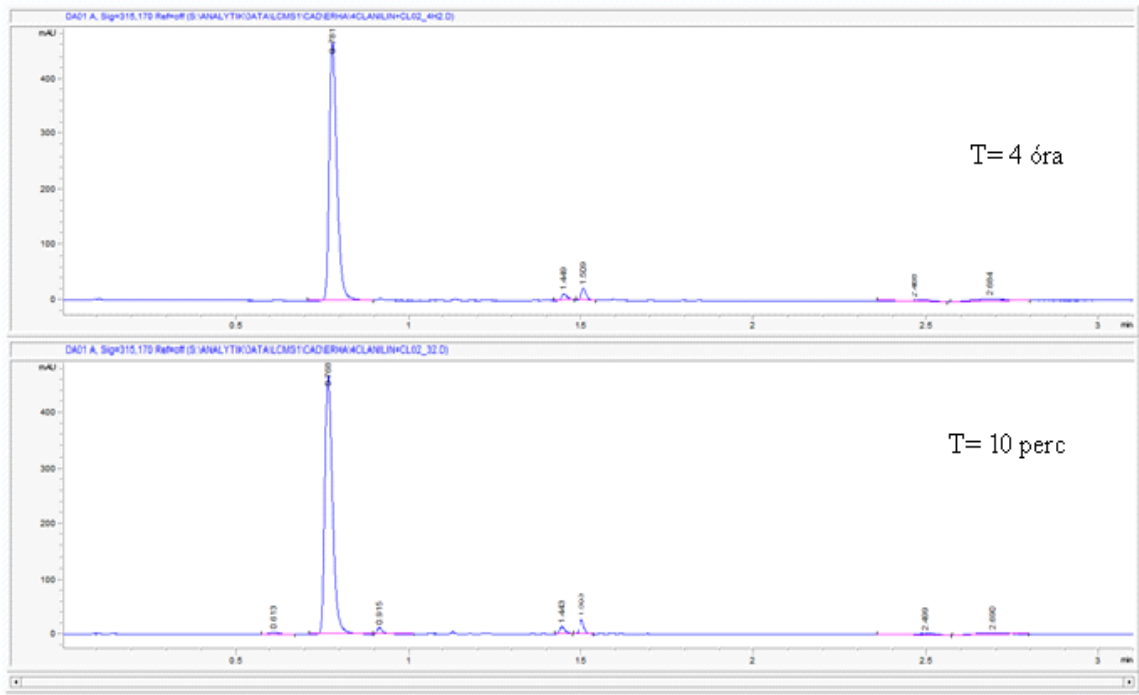
A vizsgálat megmutatta, hogy a CHX-ben lévő szennyeződés valóban PCA, melynek koncentrációja kisebb, mint 0,3% (31. ábra).



32. ábra

A CHX UV spektrumának vizsgálata 0, 20, 40 perc reakcióidő után hozzáadott ClO_2 -dal a PCA referencia spektrumához viszonyítva

Ez a kísérlet egyértelműen bizonyítja, hogy a CHX és a hozzáadott ClO_2 között semmilyen interakció nem lép fel, a spektrum nem változik meg a vizsgált periódus alatt. Az eredeti CHX oldat nem változik meg, új anyag nem keletkezik. A legfontosabb, hogy a PCA csúcsok sem emelkedtek (32. ábra).



33. ábra

A PCA UV spektrumának vizsgálata 10 perc és 4 óra elteltével hozzáadott 0,12% ClO₂ hatására

A kromatográfián 10 perc és 4 óra eltelte után az látható, hogy a ClO₂ nem oxidálta a PCA-t. Mivel a CHX-ben jelenlévő PCA szennyeződés nem emelkedik a ClO₂ hatására, ezért megállapíthatjuk, hogy gyökércsatornában történő együtt alkalmazásuk biztonságos (33. ábra).



34. ábra

¹HNMR vizsgálat az EDTA degenerálódását mutatja 0,12%-os ClO₂ hatására oldatban

x= intenzitás, y=kémiai változás ppm a) EDTA referencia spektruma H₂O/D₂O 9:1 arányú keverékében, b) EDTA ¹HNMR spektruma 5 perc elteltével, miután a 100 mM-os EDTA oldat 20 µl-jéhez 600 µl 0,12 %-os ClO₂ oldatot adtunk, c) EDTA ¹HNMR spektruma 10 perc elteltével, d) EDTA ¹HNMR spektruma 30 perc elteltével, e) EDTA ¹HNMR spektruma 60 perc elteltével

A 34. ábrán nyomon követhető az EDTA oxidációja 0,12%-os ClO₂ hatására az idő változásával. A ¹HNMR-rel kirajzolódó EDTA-t jellemző két fő csúcs, mely kémiai

szerkezetéből adódik, a ClO₂ hatására bekövetkező kémiai változás miatt (savassá váló környezet, változik a pH) távolodik egymástól. Az odat egyre jobban szétesik (alacsony csúcsok megjelenése). A két fő csúcs kémiai változása 3,83 ppm és 3,55 ppm között követhető nyomon. (34. ábra b, c, d, e). A ppm itt a: kémiai változás mérőszáma.

7 Megbeszélés

7.1 Amin-fluorid és SnF₂ tartalmú fogpaszta és szájvíz hatása

Fluorid nélkül nincs fogászati prevenció! A fluorid használata a fogászati prevencióban széles körben, de nem mindenki által elfogadott eljárás. Az Egyesült Államok „Center for Disease Control” központja a 20.-dik század tíz legjelentősebb egészségért folytatott módszere közé sorolja az ivóvíz fluorozását (106). A fluorid terápiának számos módja ismert az otthoni fluorid tartalmú fogkrémek és szájvizek használata mellett alkalmazható professzionális fluorid applikáció vagy a központi só, ivóvíz fluorozás.

Az irodalmi adatok egyértelműen megerősítik, hogy az AmF és az SnF₂ tartalmú fogpaszták és szájvizek baktericid hatásúak (46, 107, 108). Az AmF azonban a mikroorganizmusok összcsíraszámát sem a nyálban sem a plakokban jelentősen nem változtatja meg (108, 109). Az antibakteriális hatás a fluoridok használatának időtartalmától is függ. Amikor a szájöblítőket csak rövid távon (pár napig, hétig) alkalmazzák, a nyál *S. mutans* számában azok nem okoznak szignifikáns csökkenést (110). A két fluorid kombinált alkalmazása, például a Meridol szájvíz használatakor, a plakk összcsíraszámot jelentősen csökkenti (111). SnF₂ középtávú (fél éves) és hosszú távú (több évig tartó) alkalmazásakor a *S. mutans* szám már szignifikánsan csökken, a *Lactobacillus* száma azonban változatlan marad (109).

Vizsgálatunkban, melyben 5 hónapon keresztül kombináltan alkalmaztuk a két fluoridot, a vizsgált mikroorganizmusok csíraszámára csökkenő tendenciát mutatott, de az eredmények nem voltak szignifikánsak.

7.2 A fluorozott tej hatása a kariogén flórára

A NaF-dal és a Na₂PO₄F-tal végzett vizsgálataink az irodalmi adatokkal megegyezően, (112) nem mutattak azonnali hatást a vizsgált mikroorganizmusokon magas fluorid koncentráció alkalmazásakor sem. A mikroorganizmusok növekedési görbéje szintén nem mutatott jelentős változást.

A fluoridok kariesz prevencióban betöltött szerepe sokkal inkább a remineralizáció elősegítése, a hydroxilapatitba történő beépüléssel a zománc szerkezetének megerősítésében rejlik, mint a kariogén flóra jelentős eliminálásában (113). A fluoridnak pedig szisztémásan már minimális hatása van a szuvasodás megakadályozásában.

A fluorozott tej kariesz redukcióban betöltött szerepe annak köszönhető, hogy a környezet számára egy folyamatos, alacsony fluorid koncentrációt biztosít. A tej, a fejlődésben lévő zománcre is képes kifejteni hatását, így nem csak helyi, de szisztémás hatással is bír. Ezt zománc biopsziás vizsgálatok is bizonyították (53). A legnagyobb kariesz redukciót azok a vizsgálatok mutatták, ahol a gyerekek 4 évesnél fiatalabbak voltak (114, 115).

7.3 *S. mutans* DNS struktúrájának jelentősége

A *S. mutans* DNS struktúrájának vizsgálata arra hívja fel a figyelmet, hogy egy baktérium megbetegedést okozó képessége annak virulenciájától is függ. Amikor az összes *S. mutans* DNS mintázatát összehasonlítottuk három egymással teljesen azonos genetikai állományú párt kaptunk, annak ellenére, hogy két esetben ezek a *S. mutans*-ok különböző betegség csoportú páciensről származtak. Illetve, amikor a párok mindegyike a karieszes csoportból származott a DMFT indexük között jelentős különbség volt detektálható (DMFT:1 ill. 7). Loesche hasonló eredményeket írt le a *S. mutans* megbetegedést okozó tulajdonságáról, mely alapján feltételezte, hogy a kariesz és következményes betegségei endogén infekció következményei (116).

Számos szerző hangsúlyozza, hogy a *S. mutans*-nak magas a fenotípusos heterogenitása. Némelyik genotípus erőteljesebben képes a szervezetben megtelepedni és karieszt okozni (117). Ez a megállapítás eredményeinkkel korrelációban van, mi szerint a közeli rokonságban lévő *S. mutans*-ok különböző fogászati megbetegedést okozhatnak, ugyanakkor a normál flóra részét is képezhetik (105). A fiatal gyerekek még csak egy genetikai állományt tartalmazó *S. mutans*-szal rendelkeznek (118), ez azonban az élet során változhat. Jordan és munkatársai ugyanazon betegben két-három különböző PFGE mintázatú *S. mutans*-t is találtak (119). A *S. mutans* nyállal történő

átörökítésének jelentősége nem elhanyagolható. Egy virulensebb *S. mutans* átörökítése, a gyerekekben dentális megbetegedéshez fog vezetni.

7.4 A D-aminosavak hatása

A D-aminosavak biofilmre kifejtett hatásának jelentőségét először a *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) esetében figyelték meg, ahol a D-tirozin, D-leucin, D-triptofán, és a D-metionin friss baktérium kultúrákban megakadályozta a biofilm képződését. A sejtek és az extracelluláris matrix fehérjéi közötti kapcsolat károsításával. Hasonló gátló hatást figyeltek meg *Staphylococcus aureus* és *Pseudomonas aeruginosa* biofilm esetében is (99).

S. aureus esetében azonban a D-fenilalanin, a D-prolin és a D-tirozin, illetve ezek kombinációja idézte elő a gátló hatást. A D-aminosavak két különböző baktérium esetében tehát különbözőképpen hathatnak. *S. aureus* esetében a D-aminosavak a felszínhez történő kitapadást nem befolyásolták, csak a növekedést akadályozták meg. D-alanin jelenlétében a többi D-aminosav hatástalannak bizonyul.

A jelenlegi vizsgálatok még messze nem tisztázzák a D-aminosavak pontos helyét a biofilm képződés ellen folytatott harcban. Saját vizsgálataink, melyek vegyes flórát tartalmazó biofilmre irányultak azt mutatták, hogy a biofilm képződés valamelyest csökkent D-tirozin és D-metionin hatására, de a már kialakult biofilm mennyiségére az általunk vizsgált aminosavak még 10-szeres és 100-szoros koncentrációban is hatástalanok voltak. Annak megismerése, hogy egy vegyes flórából kialakult biofilmre hat-e a D-aminosav, és ha igen melyik, további vizsgálatok sorozatát teszik szükségessé.

7.5-7.6 A klór-dioxid oldat orális patogén mikroorganizmusokon és biofilmen kifejtett elimináló hatása *in vitro*

A dentális biofilm a fogak nem öntisztuló felszínén kialakuló mikrobák közössége (120). A szervezetbe történő baktérium invázió, a fog szövetének károsodása,

a fogágy gyulladás és az ezt kísérő csont veszteség a kezeletlenül hagyott dentális plakk destruáló hatásából adódik. Az orális patogén mikroorganizmusok (orális biofilm) eliminálása ezért mind a preventív, mind a terápiás kezelés során elengedhetetlen fontossággal bír. A megfelelő szájhigiéné biztosításához, vagy a már patogén flórával rendelkező páciensek gyógyításához alkalmazott antimikrobiális anyagoknak meg kell akadályozni a baktériumok adhézis és kolonizációs képességét. Védelmet kell nyújtaniuk a baktériumok káros anyagcseretermékei ellen és gátolniuk a baktériumok növekedését, szaporodását.

A CHX egyike a legismertebb plakk ellenes szernek, sokszor „gold standard”-ként is emlegetik. Hatásos a Gram-pozitív és a Gram-negatív baktériumokkal szemben is. Mind a lágy, mind a kemény szövetekhez kötődik a szájbán, így az öblögetés után még hosszabb ideig aktív marad, így elhúzódó hatását is élvezhetjük (121). Klinikai vizsgálatokban gyakran alkalmazzák pozitív kontrollként, mivel számos vizsgálat írta le kiváló antibakteriális hatása mellett a gingivitisz kezelésében is kifejtett hosszú távú pozitív aktivitását. Direkt antimikrobiális hatása azonban nem erős. Amikor egyszeri öblítés után, vagy 3 napon keresztül napi kétszer 1 percig tartó öblítés után vizsgálták hatását nem találtak szignifikáns csökkenést a dentális plakk mennyiségében (122-124).

Hosszú távú alkalmazása sokkal kedvezőbb hatású. 0,12%-os CHX oldat 60%-kal képes csökkenteni a plakk indexet, a gingivális index csökkenése pedig eléri a 33%-ot (125). 12 héten keresztül, napi használata szignifikánsan csökkenti a tasak mélységet, javítja a tapadási szintet (126).

A Listerine® számos mikroorganizmus növekedést gátolja (127). Placebóval szemben plakk redukciónak okoz, de antimikrobiális aktivitása alul marad a CHX hatásának, rövid távú és hosszú távú alkalmazása után is (63, 128). A plakk indexet átlagosan 16%-kal, a vérzési indexet 21%-kal csökkenti (62).

Sajnos a CHX-nek és a Listerine®-nek is vannak előnytelen tulajdonságai. A nyálkahártyán égő, csípő érzést válthat ki, íze is kellemetlen. A CHX ezen kívül elhúzódó íz- érzészavart okoz. A fogakat, az azokon lévő lepedéket, fogkövet elszínezi (129, 130). Magas koncentrációban már károsítja a citoplazmát, koagulálja a fehérjéket és a nukleinsavat (1). Egyes vizsgálatok szerint a Listerine®-nek károsító hatása van a dentin felszínén, mert fokozza a dentintubulusok expozícióját. Ezért fogmosás előtti öblögetésre szabad dentin felszínnel rendelkező fogak esetében nem javasolt (70).

A CHX és a Listerine® mellett számos más jól ismert antibakteriális szájöblítőszer, illetve azok kombinációja kapható a piacon, de mellékhatásoktól mentes, ugyanakkor magas hatásfokú készítménnyel nem találkozunk. Ezen probléma megoldására, az ideális biocidként számoltartott ClO_2 oldat használata megoldást adhat.

A ClO_2 orális alkalmazásával kevés publikáció foglalkozik. Nehézséget jelent az irodalomban fellelhető adatok összehasonlítása is, mivel az irodalomban ClO_2 néven említett oldatok valójában nem tiszta oldatok. A kereskedelmi forgalomban kapható ClO_2 oldatok fogalmának meghatározása sok esetben téves. A nagy tisztaságú ClO_2 különbözik a stabilizált illetve az aktív, vagy más néven igazi ClO_2 -tól. A “stabilizált ClO_2 ” név hibás, mivel az előállításból adódóan itt NaClO_2 -ról kell beszélnünk. A NaClO_2 , pedig gyengébb dezinficiáló szer mint a tiszta ClO_2 (18, 19). Az aktív, vagy “igazi” néven előforduló ClO_2 -ot két anyagnak, legtöbbször a NaClO_2 -nak és a citromsavnak a használat előtti közvetlen összekeveréséből nyerik. A piacon kapható ClO_2 tartalmú oldatokkal az a probléma, hogy előállításuk időigényes, stabilitásuk nem megfelelő. Ezekben az oldatokban más komponensek, például el nem reagált ClO_2^- és ClO_3^- is előfordulhatnak, melyek toxikusak (17).

Vizsgálatainkban alkalmazott ClO_2 oldat membrán technológia segítségével létrehozott, nagy tisztaságú, szennyeződésektől mentes anyag (12). Csak nagy tisztaságú ClO_2 -ot és vizet tartalmaz, ezért stabilitása is megfelelő. Ennek a tiszta, vizes oldatnak mindössze 10-15 %-a bomlik el 2 év után szoba hőmérsékleten. Nagyfokú tisztasága miatt, humán alkalmazása teljesen biztonságos (12).

Stabilizált ClO_2 alkalmazásának irodalmi eredményei: Egy metastabilizált 0,04%, illetve 0,16% klóros sav/ ClO_2 (MECA) tartalmú szájvíz szignifikáns csökkenést mutatott a dentális plakk mennyiségében egy placebo termékhez képest. A plakk index változást azonban nem kísérte a nyál baktérium számának szignifikáns csökkenése (131). Drake és munkatársai leírták, hogy a stabilizált ClO_2 (CloSYS) és CHX szájvíz egyaránt elpusztítja a gingivitiszt és periodontitist okozó patogén baktériumok csaknem 100%-át (132).

Az aktív ClO_2 hatásáról ellentétes irodalmi adatok állnak rendelkezésre. Leírják annak egyenértékű plakk gátló hatását a 0,12%-os CHX szájvízzel (133). Ugyanakkor 100 ppm-es aktív ClO_2 hatását összevetve 0,2%-os CHX oldattal azt állapították meg, hogy a ClO_2 alul marad a CHX-hez képest a plakk redukcióban (29). Candidiázisban a

0,8%-os ClO₂ (DioxiDent) alkalmazása kiemelkedő eredményt mutatott (134). (0,8%-os ClO₂ már toxikus mennyiség, valószínűleg, ebben a kísérletben sem a tiszta ClO₂ mennyiségét adták meg)!

Vizsgálataink megerősítették a nagy tisztaságú ClO₂ erős biocid hatását. Az orális patogén mikroorganizmusokon fenol koefficiens teszttel történő vizsgálatok azt mutatták, hogy sokkal hatásosabb a CHX-nél, a Listerine®-nél vagy a NaOCl-nál. Sokkal hígabb koncentrációi elegendőek az oldatnak az aerob, fakultatív anaerob baktériumok és a *Candida* eliminálásához. Az anaerob baktériumok esetében azonban nem mutatott szignifikáns eltérést a CHX- hez képest (135).

A nagy tisztaságú ClO₂ biofilm bontó képessége is szignifikánsan erősebb a Listerine-hez képest 1 vagy 5 percre tartó behatás után. A CHX-hez képest pedig 5 perces behatási idő után. A biofilm mennyiségének csökkentésében a ClO₂-dal 35%-os, a CHX-nel 27%-os a Listerine-nel pedig 22%-os változást lehetett elérni. A biofilm baktérium összetétele, a baktériumok aránya befolyásolja a szájvizek hatásosságát. A ClO₂ előnye amellett, hogy erősebb biofilm bontó képességgel rendelkezik, mint a 2%-os CHX oldat az, hogy nem rendelkezik mellékhatásokkal, nem okoz fogelszíneződést és ízérzés zavart.

Az antiszeptikumok hatása sokkal gyengébb a masszív, strukturált biofilmen, mint a mikroorganizmusok planktonikus formáján. Ezért a biofilm fellazítása, „széttörése” megfontolandó lépés lehetne szájvizek használata előtt (136). Itt merülhetne fel a D-aminosavak szerepének jelentősége.

Összességében arra kell törekednünk az egészséges szájflóra fenntartása érdekében, hogy miközben a biofilm káros hatását csökkenteni igyekszünk, ne váltsunk ki a szervezetben káros biológiai hatásokat. A nagy tisztaságú ClO₂ számos klinikai előnnyel bír a konvencionális szájvizekhez képest. A ClO₂ szájhigiénében betöltött valódi helyzetének megítéléséhez azonban még további rövid és hosszú távú klinikai vizsgálatok szükségesek, beleértve az *in vivo* vizsgálatokat is.

7.7 A klór-dioxid oldattal történő egyszeri öblítés hatása *in vivo*

A rossz szájhygiénájú, vagy rizikó csoportba tartozó páciensek kezelését a fogkrémek használata mellett érdemes szájoöblítő oldatok alkalmazásával kiegészíteni. Műtéti beavatkozás előtt alkalmazva segíthet a felülfertőzések megakadályozásában. A nyálban található *S. mutans* redukálása mindenképpen célja a szájhygiénés kezelésnek. A Solumium oldattal korábban nem történtek még *in vivo* vizsgálatok. Az oldat *S. mutans*-on kifejtett gyors és erős antibakteriális hatása, illetve jó biofilm oldó képessége, korábbi vizsgálatokkal *in vitro* már bizonyított (135). A Listerine oldat egyszeri öblítés után szintén szignifikánsan képes a plácébóval szemben csökkenteni a *S. mutans* számot (137). Egy-egy hatásos szájvíz kiválasztásában szubjektív tényezők is jelentős szereppel bírhatnak. Az általunk kontrollként alkalmazott Listerine Total Care oldattal pácienseink nem szívesen öblögettek 1 percen keresztül a jelentkező csípő érzés miatt. Néhány betegnél rendkívüli nyálbőség jelentkezett, ami még percek elteltével is fennállt. Az eredményekben észlelt nagyon magas szórás a biológiai minták jellegzetessége mellett adódhatott a jelentősen felhígult nyálból is. A Solumium oldattal történő öblítést a páciensek elfogadhatónak tartották.

7.8 A klór-dioxid hatásának összehasonlítása standard gyökércsatorna irrigálószerrel

A gyökércsatornát érintő bakteriális invázió a fogak pulpájának és periapikális terének fertőződését és a fertőzés tartós fennállását eredményezi. A gyökérkezelés során a fogorvos feladata, hogy a behatoló baktériumokat eliminálja, kiküszöbölve ezek káros toxikus produktumait, illetve megfelelő apikális és koronális zárással meg kell akadályozni a csatornák visszafertőződését. A kemo-mechanikai preparálás biztosítja a leghatásosabban a mikroorganizmusok redukcióját, de sajnos tökéletes dezinficiálást nem tudunk elérni.

Az irrigálószerrel és a lokális dezinficiáló szerek antibakteriális hatása az *in vitro* vizsgálatokban kielégítőnek tűnnek, de ezzel ellentétben az *in vivo* eredmények már nem olyan látványosak (138). Az eredményes gyökérkezelés egyrészt függ a

mikroorganizmusok minél hatásosabb eliminálásától, másrészt a szervezet reakciójától, illetve a megfelelő apikális és koronális zárástól.

Egy ideálisnak mondható irrigálószer sok elvárásnak kell, hogy megfeleljen. Antibakteriális hatása mellett organikus és inorganikus oldó hatással kell bírnia, síkosító hatása szintén jelentős és a legfontosabb, hogy kis mennyiségben és koncentrációban se legyen toxikus (139).

A gyökérkezelés során alkalmazott irrigálószerrel az a probléma, hogy a szükséges antibakteriális, szövetoldó és antitoxikus hatás egyszerre nincs jelen (140, 141).

Vizsgálatainkban az *E. faecalis*-t használtuk teszt baktériumnak, mivel ez a baktérium gyakran előfordul a gyökércsatornában. Endodonciai patogenitását mutatja, hogy nem csak a csatornák frissen történő fertőződésekor, hanem régi gyökértömések újra kezelésénél is magas csíraszámokban mutatható ki. Krónikus, illetve aszimptomatikus folyamatokban megtalálható, mivel könnyen penetrál a dentintubulusok közé és számos gyógyszerrel szemben, mint például a kalcium-hidroxid ellenálló (142).

A mikroorganizmusok tökéletes eliminálása érdekében számos praktikus ajánlás született. Javasolt például az apikális tér megnövelt preparálása (143). Az irrigálószer kombinált alkalmazása szintén rutinszerűen alkalmazott módszer, törekedve arra, hogy az antibakteriális hatást kiegészítsük a szövetoldó hatással, mely elősegítve a fertőzött szövet eltávolítását, tovább fokozza a csíraszám csökkenését. Ilyen ajánlás például a 6% NaOCl, 17 % EDTA, 2% CHX egymás utáni használata, vagy csatornán belül 2% CHX gél, vagy 2% CHX gél és kalcium-hidroxid együttes alkalmazása (142, 144). Az MTAD használata is egyre elterjedtebb. Az MTAD keveréke a tetraciklin egyik izomerjének (doxicilin), egy savnak (citrom sav), és egy detergensnek (Tween 80). Klinikai használatát 20 percig tartó 1,3%-os NaOCl-t követő 5 perces öblögetéssel ajánlják. Az MTAD pulpara és dentinre kifejtett hatása hasonló EDTA-éhoz. Az MTAD-ben lévő doxicilin pedig az 5,25%-os NaOCl-dal egyenértékű antibakteriális hatást biztosít (145). Az MTAD kevésbé toxikus az eugenolnál, a 3%-os H₂O₂-nél, a Ca(OH)₂ pasztánál és az 5,25%-os NaOCl-nál. A NaOCl 2,63%-os és ennél kisebb koncentrációinál azonban toxikusabb (146).

A NaOCl a legszélesebb körben elterjedt irrigálószer az endodonciában. Bár kiváló antibakteriális hatással bír, és *in vitro* a patogén orális flóra nagy részét 5,25%-os

koncentrációban alkalmazva 30 szekundum alatt előli, kivéve az *E. faecalis*-t, ami 60 szekundum után is életben marad. 100%-os csíramentességet nem lehet elérni vele (147). *In vivo* antibakteriális hatása gyengébb (148).

Vizsgálatainkban sem a planktonikus *E. faecalis*-t, sem a gyökércsatornában képzett *E. faecalis* biofilmet (149) nem eliminálta maradéktalanul. Így a csatornák visszafertőződése, a meglévő baktériumok felszaporodása nem meglepő (149). Magas koncentrációban citotoxicitása és erős szövetoldó hatása is hátrányára válik. Periapikális térbe kerülve duzzanatot, fájdalmat és vérzést okozhat. Irodalmi adatok szerint 0,5%-os koncentrációban a legbiztonságosabb a használata, de ennél a hígításnál már antibakteriális hatása is jelentősen csökken, illetve lelassul és 30 perc szükséges például az *E. faecalis* eliminálásához (72, 73).

NaOCl használata helyett gyakran javasolják a CHX alkalmazását. Számos vizsgálat hasonlítja össze a két szer hatásosságát. Az irodalmi adatok ellentmondásosak, némelyik vizsgálat a NaOCl (150), míg mások a CHX (71) antibakteriális hatását tartják erősebbnek. A CHX-t 0,2%, 1%, és 2%-os koncentrációban gél és folyadék formában, a NaOCl-ot 0,5%, 1%, 2,5%, 4% és 5,25%-os koncentrációban alkalmazva, a következő eredmények születtek: a CHX 2% koncentrációja gél és folyadék formájában 15 szekundum alatt eliminálta a *Staphylococcus aureus*-t és *Candida albicans*-t, a gél forma 1 perc után ölte el az *E. faecalis*-t, 15 szekundum után mindegyik vizsgált irrigáló eliminálta a *Porphyromonas* és *Prevotella* törzseket (1). Néhány vizsgálat azt állapította meg, hogy a két szer hatása között nincs különbség (151). Vizsgálatainkban a planktonikus és a biofilmet formált *E. faecalis*-t is erősebben eliminálta a CHX (149).

Számos tanulmány foglalkozik a NaOCl és a CHX kombinált alkalmazásával. Kombinált alkalmazásuk növelte az *E. faecalis*-on kifejtett antibakteriális hatást az egyedül alkalmazott NaOCl-hoz képest, de nem múlta felül a CHX-nel önmagában elérhető hatást (152).

Antibakteriális vizsgálatainkban az EDTA-val nem foglalkoztunk, hiszen antibakteriális tulajdonsággal nem rendelkezik. Más irrigálószer hatását azonban növelni képes, valószínűleg a fertőzött smear layer eltávolításával nagyobb teret adva azok számára (153, 154).

A ClO₂ endodonciai irrigálószerként történő alkalmazásakor kapott irodalmi eredményeket a már említett pontatlan terminológiai megnevezések miatt lehetetlen

összehasonlítani az általunk alkalmazott tiszta ClO_2 -dal kapott eredményekkel. A NaClO_2 tartalmú stabilizált ClO_2 , mely gyengébb antimikrobiális hatással bír, mint a tiszta ClO_2 , magyarázhatja például annak a vizsgálatnak az eredményeit, mely stabilizált ClO_2 (0,04% stabilizált ClO_2) alkalmazása után azt a következtetést vonta le, hogy mind a 3%-os NaOCl , mind a 2%-os CHX szignifikánsan nagyobb antibakteriális hatással bír (155). Az úgynevezett “mixed-on-site” 10% (*Clidox-S*) vagy a 13,8% (*BioClenz*) ClO_2 oldat hatását eredményesnek találták szarvasmarha dentális tubulusaiból történő *E. faecalis* eliminálásakor 30 perc behatási idő után, de ezekben az esetekben is a NaOCl szignifikánsan erősebbnek bizonyult (156). A vizsgálatban közölt 10% és 13,8% azonban nem lehet a ClO_2 koncentrációja, inkább csak a NaClO_2 -é, mert a ClO_2 ezen koncentrációja (több mint 100000 ppm) már erősen toxikus, veszélyes és robbanékony.

A nagy tisztaságú ClO_2 előnyös tulajdonságai miatt fontosnak tartottuk vizsgálni a szer endodonciai kezeléseknél betöltött szerepét. Eredményeink azt mutatták, hogy a ClO_2 hatékonyan semmisíti meg a mechanikusan preparált gyökércsatornában a mesterségesen képzett *E. faecalis* biofilmet és sokkal eredményesebb az újra fertőződés megakadályozásában, mint a NaOCl és a CHX , az általunk alkalmazott vizsgálati körülmények között. A dentintubulusokban túlélő baktériumokkal szemben is hatékonyan veszi fel a versenyt, megakadályozva a csatornában a baktériumok tovább szaporodását, a visszafertőződést. Klinikai szempontból fontos és ígéretes megfigyelés, hogy a vizsgált gyökércsatornák több mint felében abszolút csíra mentességet detektáltunk mind a 2., mind az 5. napon. Ilyen hatékonyságot a többi irrigálószer esetében nem tapasztaltunk. Nem elég hangsúlyozni, hogy az endodonciai kezelés sikere végső soron a gyökércsatorna rendszerben lévő mikroorganizmusok komplett eliminálásán múlik. A szervezet védekezőképessége, a gyökértömés koronális és apikális zárása csak egy esetleges későbbiekben bekövetkező felülfertőzés ellen véd (157).

A ClO_2 tenziója és illékonysága nagyon fontos tulajdonságai a szernek, mivel ezek fokozzák az antibakteriális hatást azáltal, hogy a mechanikai preparálás számára elérhetetlen oldalcsatornába és a dentintubulusokba segítik az oldat penetrációját, ezáltal azok fertőtlenítését. A NaOCl gázfázisa a HClO pH-jától függően szintén bír baktericid hatással. A ClO_2 illékonyságának köszönhető, hogy nem marad vissza

reziduális anyag használata után, ezért nincs szükség semlegesíteni, kiöblíteni a csatornából a gyökércsatorna tömése előtt.

7.9 A dentinpor jelentősége az antibakteriális hatás változásában

A dentinpor kémiailag apatit kristályba zárt I típusú kollagén mátrixként jellemezhető. A dentin szerves és szervesetlen összetevőinek az antibakteriális hatást befolyásoló tulajdonsága *in vitro* kísérletekből ismert az irodalomban. Az antibakteriális hatás csökkentéséért elsősorban a szervesetlen összetevő pufferoló hatását tartják felelősnek (158, 159). Az irrigálószer antibakteriális hatása *in vitro*, a baktériumok planktonikus formáján, mindig sokkal erősebb, mint *in vivo*. *In vivo* a NaOCl antibakteriális hatása erős, de a kemo-mechanikai preparálás soha nem eredményez steril gyökér csatornát (160). A dentinpor jelenléte is oka lehet ennek, de az organikus és inorganikus összetevők szerepe még nem teljesen tisztázott (148, 161). Morgental és munkatársai megállapították, hogy a dentinpor az 1%-os és a 6%-os NaOCl antibakteriális erejét rövidtávon gátolja (1 perc), de 6 óra elteltével már nem (139). A CHX képes a dentin szövethöz kapcsolódni, ami csökkentheti valamelyest rövid távú aktivitását, de hosszú távon, 24 óra elteltével már kimutatták, hogy az *E. faecalis*-nak már csak 1%-a maradt élve (103). Amikor a CHX-hez adott dentinpor szervesetlen részének mennyiségét változtatták az antibakteriális hatásban nem történt változás (158). CHX esetében tehát inkább a dentin organikus részét tartják felelősnek az antibakteriális hatás csökkenéséért, míg például $\text{Ca}(\text{OH})_2$ esetében mindkét összetevő jelentőséggel bír (103, 162). A $\text{Ca}(\text{OH})_2$ mivel lassan hidrolizál viszonylag stabil és hosszútávon ható anyag (103). A hidroxid ionok lassan diffundálnak be a dentinbe.

Jelen vizsgálatban dentinpor nélkül csak a ClO_2 ölte meg a baktériumok 100%-át 1 perc után. 60 perc elteltével a $\text{Ca}(\text{OH})_2$ hasonló eredményt adott, míg NaOCl és CHX esetében a baktériumoknak egy kis mennyisége 60 perc elteltével is kimutatható volt. A dentinpor jelenléte szignifikáns csökkenést okozott a ClO_2 és a $\text{Ca}(\text{OH})_2$ antibakteriális aktivitásában, míg ezt a jelenséget nem tapasztaltuk CHX és NaOCl alkalmazásakor. Az egy órás dentinporral történő előinkubálás tovább csökkentette a ClO_2 és a $\text{Ca}(\text{OH})_2$ hatását. Ezen körülmények között a CHX és NaOCl szignifikánsan aktívabbnak bizonyult (163).

Eredményeink egybevágának az irodalomban tapasztaltakkal abban, hogy a CHX antibakteriális hatása maradt a legerősebb dentinporral történő előinkubálás után is (103, 139).

A vizsgálatunkban alkalmazott 28 mg dentinport tartalmazó oldatok nem maradtak intenzív vortexelés hatására sem oldatban. Ezért a dentinpor leülepedése akadályozhatta az oldatok baktériumokhoz jutását és azok túlélését elősegíthette. A dentin megőrlésével a dentinporban lévő fehérjék sokkal elérhetőbbé váltak, mint endodonciai kezelés során. Ezért az általunk alkalmazott *in vitro* modell, melyben a dentin organikus része jelentősen megemelkedett mennyiségben érhető el, előnytelen a ClO₂ számára, mivel az szelektíven kötődik a fehérjék négy aminosavához. Amikor a dentinpor mennyisége csak 3,5 mg volt a korábbi 28 mg-hoz képest a ClO₂ már képes volt a jelenlévő baktériumokat elpusztítani (163). *In vivo* kísérletekben figyelembe kell venni, hogy a baktériumok és a dentin organikus összetevői mellett a nekrotikus pulpa szövet és a gyulladt extrudátum is csökkenteni képes a ClO₂ hatását. Ezért a ClO₂ endodonciai irrigálószerként történő alkalmazása a kemo-mechanikai preparálás és a smear layer eltávolítása után lehet a leghatásosabb.

Az irodalomból ismert, hogy 300 ppm ClO₂ 2,9 ms alatt képes előlni az összes baktériumot (28). Így az az eredmény, hogy a titrálási vizsgálat után még 40 ppm ClO₂ maradt, mégsem történt meg az *E. faecalis* teljes kiirtása, magyarázatot követel. Egy lehetséges magyarázat, hogy a kis fogdarabkák kollagén réteggel vannak bevonva, melyek egymással érintkezve, ha lazán is, de egy időre összeragadnak. Ha sok ilyen részecske van jelen, úgynevezett barlangocskák alakulhatnak ki, amiknek nem csak a száma, de a mérete is egyre nő. Ide a ClO₂ nehezen tud bejutni. A baktériumok előléséhez szükséges idő már nem csak azok méretétől, hanem a barlangocskák méretétől függhet, ami a méret négyzetével arányosan nő a ClO₂ esetében. (Sejteknel, szöveteknél ez a feltevés kísérletesen bizonyított, de üregek esetében egyenlőre feltételezés) (28).

7.10 A klór-dioxid szövetoldó hatása

A tiszta klór-dioxidnak nincs szövetoldó hatása. Úgynevezett “size selective” tulajdonsága, illetve az élő szervezet ClO_2 -dal szembeni, már említett védekezőképessége miatt, nem képes mélyen a szövetekbe behatolni és roncsolni azokat (11). Illékonyága is rövid időre korlátozza hatását (11).

Vizsgálataink megerősítették a fent említett tulajdonságból adódó szövetoldási képesség hiányát. Az irodalomban azonban a már említett elnevezésekből adódó ellentmondások miatt szövetoldó hatását írták le. Cobankara és munkatársai 13,8% -os ClO_2 (BioClenz) és 5,25%-os NaOCl marhapulpára kifejtett szövetoldó hatását egyformának értékelték (21). A vizsgálatban feltüntetett koncentráció, tiszta klór-dioxidból, már messze a toxikus érték felett van. A vizsgálatban résztvevő anyag koncentrációja valószínűleg NaClO_2 -ra vonatkozik, mely pH-ja hasonlóan a NaOCl pH-jához 12-re volt beállítva, A 12-es pH eléréséhez a ClO_2 -hoz NaOH-t adtak. Az oldaton történő változtatás, már önmagában elegendő lehet, a szövetoldó hatás fokozásához.

A NaOCl szövetoldó hatását vizsgálataink is igazolták. Az 5,25 %-os oldattal történő kezelés eredményei azt mutatták, hogy a szövet jelentős része feloldódik ilyen koncentráció mellett. Ez felhívja a figyelmet arra a veszélyre, hogy a gyökércsatornán túljutva az anyag súlyos károsodást okozhat. A CHX marhapulpán kifejtett hatása enyhe csökkenést okozott a szövetek súlyában. Irodalmi adatok szerint, magas koncentrációban a sejteket károsítja, a citoplazma koagulációját okozza, továbbá képes a fehérjék és a nukleinsavak precipitálására (63). A 2%-os CHX is már irritáló hatást válthat ki. Elképzelhető, hogy ez a koncentráció már képes a baktériumoknál nagyobb sejtekbe behatolva azokat roncsolni. Ezáltal szövettörmelékek keletkeznek. Valószínű a kísérlet során az oldat folyamatos cseréjével e szövettörmelékeket eltávolítottuk, és ez okozta a súlycsökkenést.

7.11 A klór-dioxid kombinált alkalmazása más endodonciai irrigálószerrel

Az endodonciai kezelések fő célja megsemmisíteni a gyökércsatornában lévő káros, patogén mikroorganizmusokat. Emellett a fertőzött szövetek, a smear layer eltávolítása is fontos feltétele a sikeres gyökérkezelésnek. A gyökércsatornában a rutin fogorvosi gyakorlatban alkalmazott irrigálószerrel az a probléma, hogy a szükséges antibakteriális és szövetoldó hatás egyszerre nincs jelen. Ezért a gyakorlatban különböző irrigálószereket alkalmazunk egymás után a célnak megfelelően. Az irrigálószerek azonban egymással reakcióba léphetnek és káros, toxikus mellékterméket hoznak létre.

A leggyakrabban kombinált kiváló antibakteriális hatással bíró CHX és a kiváló szövetoldó hatással is rendelkező NaOCl egymás utáni alkalmazásakor a CHX lassú hidrolízise során toxikus para-klóroanilin (PCA) keletkezik (164, 165). Amikor a NaOCl-ot és a CHX-t összekeverjük, sav-bázis reakció játszódik le. A keletkező PCA, a NaOCl koncentrációjának növelésével fokozódik (164). A CHX közömbösítéséhez szükséges 3% Tween 80 + 0,3%-os α -lecitin, illetve a NaOCl közömbösítéséhez szükséges 0,5% nátrium thioszulfáttal történő közömbösítés valószínűleg a megfelelő ismeretek hiánya, illetve a kezelés bonyolultabbá válása miatt, nem terjedt el a mindennapi gyakorlatban (1, 166).

CHX-t és EDTA-t egymás után használva a gyökércsatornában azok szintén interakcióba lépnek egymással. A keletkező precipitátum 1%-a p-klóranilin, melynek klinikai jelentősége azonban nem ismert (1).

Az általunk gyökércsatorna fertőtlenítésre használt 0,12% ClO_2 oldat és CHX oldat közötti interakció vizsgálat azt mutatta, hogy a CHX és a hozzá adott ClO_2 között semmilyen interakció nem lép fel. A CHX-ben lévő PCA szint sem emelkedik.

Az EDTA módosítani képes a gyökércsatorna dentin falát, melyen így látható jelei mutatkoznak az erózióknak. NaOCl és EDTA egymás utáni alkalmazásakor egy nagyon lassú degradáció megy végbe. A reakció közben ismeretlen melléktermékek keletkeznek (104). Amikor EDTA használata után, NaOCl-ot alkalmazunk az EDTA közömbösítésére a dentális erózió mértéke tovább fokozódik. Ennek az lehet a magyarázata, hogy az EDTA dekalifikálja a peritubuláris dentint, és az ezt követő

NaOCl-dal történő öblítés kioldja a megnyitott tubulusokban lévő organikus matrixot. A túl mélyre terjedő eróziót alacsonyabb koncentrációjú EDTA alkalmazásával lehet kiküszöbölni. 3%-os EDTA-val ugyanaz a hatás elérhető, mint a 15%-sal, és így elkerülhető a túlzott demineralizáció (167). EDTA alkalmazása helyett javasolják a QMix használatát. Ez a gyökércsatorna öblítőszer biszbiquadint, poliaminokarboxil-savat és egy kelátképzőt tartalmaz. NaOCl-dal történő öblítés után végső öblítőszerként javasolt alkalmazása. Előnye, hogy elkerülhető a túl mélyen történő dentin erózió, emellett kevésbé toxikus mint pl. a 3%-os NaOCl, a 2%-os CHX és a 17%-os EDTA (168).

A ClO₂ és EDTA NMR vizsgálata azt mutatta, hogy együtt alkalmazásakor az EDTA degenerálódik, szétesik. A ClO₂-ot érdemes végső öblítőszerként alkalmazni, mert a felesleges EDTA-t kiöblíti, lebontja (bár a folyamat igen lassú), a csatorna csíramentesítését azonban használatával tovább fokozhatjuk.

8 Következtetések

Eredményeink a következőket mutatják.

1. Az AmF és az SnF₂ tartalmú fogpaszták és szájvizek rövid ideig tartó alkalmazása nem csökkenti szignifikánsan a *S. mutans*, a *L. achidophilus*, és a *C. albicans* csíraszámát.
2. A NaF és a Na₂PO₄F az alkalmazott koncentrációkban és időtartam alatt nem mutat azonnali hatást a *S. mutans*, a *L. achidophilus*, és a *C. albicans* mikroorganizmusokon, ezen a tej jelenléte nem változtatott. A NaF hatással van a mikroorganizmusok növekedési görbéjére, míg a MFP indifferensen viselkedik.
3. A közeli rokonságban lévő *S. mutans*-ok különböző fogászati megbetegedést okozhatnak, ugyanakkor a normál flóra részeit is képezhetik.
4. A D-metionin és D-triptofán csökkenti a vegyes flórából képzett biofilm kialakulását, de a már kifejlett, masszív biofilm eliminálására szinte hatástalanok.
5. A nagy tisztaságú ClO₂ oldat aerob, fakultatív anaerob baktériumokon és *Candida*-n kifejtett hatása szignifikánsan erősebb a CHX, a NaOCl és a Listerine dezinficiáló hatásánál. Az anaerob módon tenyésztett baktériumok esetében a ClO₂ hatása hasonló a CHX oldatéhoz, és mindkét oldat szignifikánsan erősebb, mint a NaOCl vagy a Listerine.
6. A ClO₂ *in vitro* biofilm elimináló képessége a Listerine-hez képest 1 és 5 perc után szignifikánsan nagyobb, 5 perc után pedig hatása a CHX-nél is szignifikánsan erősebb.
7. *In vivo* a nagy tisztaságú ClO₂ oldat szignifikánsan csökkenti egyszeri öblítés után is a nyál össz és *S. mutans* számát.
8. A nagy tisztaságú ClO₂ oldat és gázfázisa szignifikánsan megszünteti a kísérleti *E. faecalis* fertőzést a gyökércsatorna rendszerben. A visszafertőződéssel szemben hatékonyabb, mint a NaOCl és a CHX.

9. A gyökércsatornában lévő dentinpor mennyiségének csökkentése, feltétele a ClO_2 megfelelő antibakteriális hatásának biztosításához.
10. A ClO_2 -nak nincs szövet oldó, szövet roncsoló hatása.
11. A ClO_2 nem lép interakcióba a CHX-nel és nem növeli a benne lévő toxikus PCA mennyiségét, így azok együttes alkalmazása a gyökércsatornában biztonságos. A ClO_2 hatására az EDTA oxidálódik, az anyag stabilitása, aktivitása megszűnik.
12. Összefoglalva a nagytisztaságú klór-dioxiddal végzett kísérletek eredményeit elmondható, hogy a klór-dioxid preventív és terápiás célra is alkalmas a szájhigiénés és az endodonciai kezelések során.

9 Összefoglalás

A fluoridok káriesz prevencióban betöltött szerepe fontos a fogászatban, de hatása elsősorban nem a kariogén mikroflóra jelentős eliminálásában rejlik.

A klór-dioxid (ClO₂) alkalmazása előnyös tulajdonságai ellenére (nem alakul ki vele szemben rezisztencia, kevés anyaggal reagál, oldódik poláris és apoláris oldatokban is, nem toxikus, nem allergizál) nem terjedt el a humán gyógyászatban. Vizsgálatunk fő célja a nagytisztaságú, szennyezőanyagoktól mentes, tiszta formában elérhető klór-dioxid (Solumium), fogászati alkalmazhatóságának vizsgálata volt.

A ClO₂ oldat antimikrobiális hatása aerob, fakultatív anaerob baktériumokon és *Candidán* szignifikánsan erősebb a 0,2%-os klórhexidin (CHX), a Listerine és az 5,25%-os nátrium-hipoklorit (NaOCl) dezinficiáló hatásánál. A ClO₂ orális biofilm bontó, elimináló képessége szignifikánsan nagyobb 0,2%-os CHX-del és Listerine-nel szemben *in vitro*. A ClO₂ már egyszeri öblítés után is szignifikánsan csökkenti a nyál összesíraszámát és *Streptococcus mutans* számát *in vivo*. Fentiekből következik, hogy a ClO₂ oldat jelentős szereppel bírhat a jó szájhigiéné biztosításában, a szájüregi fertőzések kezelésében.

A ClO₂ gyökérsatorna öblítőként történő alkalmazása új lehetőséget nyit az endodonciai kezeléseknél. A leghatékonyabbnak bizonyult az *Enterococcus faecalis* biofilmmel *in vitro* fertőzött gyökérsatornáknál a baktérium eliminálásában, szemben az 5,25%-os NaOCl-dal, a 2%-os CHX-nel. A dentintubulusokban visszamaradó baktériumok miatt történő visszafertőződést, melyek a nagyon alacsony csíraszám miatt tenyésztéssel már nem mutathatóak ki, a leghatékonyabban akadályozza meg. Gázfázisának hatása jelentős szereppel bírhat a gyökérkezelés során az oldalsatornák fertőtlenítésében. A nagy mennyiségű dentinpor jelenléte csökkenti a ClO₂ antibakteriális hatását, ezért annak eltávolítása után, végső öblítőszerként érdemes alkalmazni. A ClO₂ szövetoldó hatással nem rendelkezik, ezért mindenképpen más irrigálószerekkel történő kombinált alkalmazása biztosítja csak a legjobb eredményt a gyökérkezelés során. A ClO₂ kombinált alkalmazása biztonságos, mert nem lép interakcióba a CHX-nel és így nem növeli a benne lévő toxikus para-klóroanilin (PCA) mennyiségét. ClO₂ hatására az EDTA oxidálódik, az anyag stabilitása, aktivitása megszűnik.

Summary

The role of fluorides in caries prevention is important in dentistry, but their effect is not primarily the significant elimination of the cariogenic microflora.

The use of chlorine dioxide (ClO_2) is not widespread in human health care despite its advantageous characteristics (no resistance develops against it, it reacts with only few molecules, it can be diluted both in polar and apolar solutions, it is not toxic, it does not induce allergic reaction). The major goal of our experiment was to determine the possible dental use of a hyperpure, uncontaminated chlorine dioxide (Solumium).

The antimicrobial effect of ClO_2 on aerob, facultative anaerob bacteria and on *Candida* is significantly stronger than the disinfective effect of 0.2 % chlorhexidine (CHX), Listerine and 5.25 % sodium-hypochlorite (NaOCl). The oral biofilm catabolizing, eliminating capability of ClO_2 is significantly greater than that of 0.2 % CHX and Listerine *in vitro*. ClO_2 significantly decreases the total number of microbes in the saliva and the number of *Streptococcus mutans* *in vivo* even after a single rinse. We can conclude from the above mentioned, that ClO_2 may have a major role in maintaining a good oral hygiene and in the treatment of oral infections.

The use of ClO_2 as a root canal irrigant offers new possibilities in endodontic treatments. It seemed the most effective in eliminating bacteria *in vitro* in root canals infected by *Enterococcus faecalis* biofilm in contrast to 5.25 % NaOCl or 2 % CHX. It is the most potent in impeding reinfection caused by bacteria remaining in the dentin tubules, which cannot be demonstrated by culturing due to the very low number of colony forming units. Its gas phase may play a significant role in disinfecting the lateral canals during the endodontic treatment. The presence of a large amount of dentin powder reduces the antibacterial effect of ClO_2 , therefore it is advised to use it as a final irrigant after eliminating the dentin powder. ClO_2 does not dissolve the pulpal tissue that is why it is necessary to apply it in combination with other irrigant solutions during endodontic treatment to achieve the best results. The combined use of ClO_2 with CHX is safe, as they do not react with each other therefore the amount of the toxic para-chloroanilin (PCA) will not be increased. ClO_2 oxidizes EDTA, so its stability and activity ceases.

10 Irodalomjegyzék

1. Kandaswamy D, Venkateshbabu N. (2010) Root canal irrigants. *J Conserv Dent*, 13: 256-264.
2. Disinfectants chlorine Dioxide. [accessed 2014 03.20.] Available from: <http://lenntech.com/process/disinfection/chemical/disinfectants>
3. Wojtowicz JA. Dichlorine monoxide, hypochlorous acid and hypochlorites. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, In: Hawe-Grant Wiley, New York, 1993; 5: 932-968.
4. Chlorine Dioxide (ClO₂). 2013 [accessed 2013. 08.14.]; Available from: <http://www.thesabrecompanies.com/science/chemistry.aspx>
5. Ison A, Odeh IN, Margerum DW. (2006) Kinetics and mechanisms of chlorine dioxide and chlorite oxidations of cysteine and glutathione. *Inorg Chem*, 45: 8768-8775.
6. Loginova IV, Rubtsova SA, AV. K. (2008) Oxidation by chlorine dioxide of methionine and cysteine derivatives to sulfoxide. *Chem Nat Comp*, 44: 752-754.
7. Napolitano MJ GB, Nicoson JS, Margerum DW. (2005) Chlorine dioxide oxidations of tyrosine, N-acetyltyrosine, and Dopa. *Chem Res Toxicol*, 18: 501-508.
8. Stewart DJ, Napolitano MJ, Bakhmutova-Albert EV, Margerum DW. (2008) Kinetics and mechanisms of chlorine dioxide oxidation of tryptophan. *Inorg Chem*, 47: 1639-1647.
9. ATSDR. Toxicological Profile for Chlorine Dioxide and Chlorite 2004 [accessed 2012. 12.18.]; Available from: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=582&tid=108>
10. Lubbers JR, Bianchine JR. (1984) Effects of the acute rising dose administration of chlorine dioxide, chlorate and chlorite to normal healthy adult male volunteers. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 5: 215-228.
11. Noszticzus Z, Wittman M, Kály-Kullai K, Beregvári Z, Kiss I, Rosivall L, et al. Demonstrating that chlorine dioxide is a size-selective antimicrobial agent and high purity ClO₂ can be used as a local antiseptic. 2013 [accessed 2013 26.04]; Available from: <http://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1304/1304.5163.pdf>
12. Noszticzus Z, Rosivall L, Wittman M. (2010) Univerzális fegyver a mikróbák ellen? A hipertizta klór-dioxid *Természet Világa*, 4: 154-157.

13. Simpson GD MR, Laxton GD, Clements WR. A focus on chlorine dioxide: the "ideal" biocide. *Corrosion* 93 2013 [accessed 2013. 04.15]; Available from: <http://www.clo2.gr/en/pdf/secure/chlorinedioxideidealbiocide.pdf>
14. Frascella J, Gilbert RD, Fernandez P, Hendler J. (2000) Efficacy of chlorine dioxide-containing mouthrinse in oral malodor. *Compend Contin Educ Dent*, 21: 241-248.
15. Shinada K UM, Konishi C, Takehara S, Yokoyama S, Kawaguchi Y. (2008) A randomized double blind crossover placebo-controlled clinical trial to assess the effects of a mouthwash containing chlorine dioxide on oral malodor. *Trials*, 9: 71-71
16. Chlorine dioxide. [accessed 2013. 12.10]; Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorine_dioxide
17. Csikány C, Várnai G, Noszticzius Z. (2009) Solumium Dental: a hipertizta klórdioxid oldat és alkalmazása a fogorvosi gyakorlatban. I.-II.-III. . *Dental Hírek*, 4, 5, 6: 30-33, 36-38, 56-57.
18. Frontier Pharmaceutical. Doxi Care. Active Chlorine Dioxide System, Eliminates Bad Breath plus Promotes Advanced Oral Hygiene and Dental Health Care. 2011. [accessed 2012. 12.18.]; Available from: <http://www.frontierpharm.com/faqs.php>
19. Frontier Pharmaceutical Stabilized Chlorine Dioxide, A Closer Look. 2011. [accessed 2012. 12.18.]; Available from: http://www.frontierpharm.com/stabilized_chlorine_dioxide.php
20. Lynch E, Sheerin A, Claxson AW, Atherton MD, Rhodes CJ, Silwood CJ, Naughton DP, Grootveld M. (1997) Multicomponent spectroscopic investigations of salivary antioxidant consumption by an oral rinse preparation containing the stable free radical species chlorine dioxide (ClO₂). *Free Radic Res*, 26: 209-234.
21. Cobankara FK, Ozkan HB, Terlemez A. (2010) Comparison of organic tissue dissolution capacities of sodium hypochlorite and chlorine dioxide. *J Endod*, 36: 272-274.
22. Noszticzius Z, Balogh S, Gyökérné, Wittman M, Kály-Kullai K, Megyesi M, Szegedi J. Permeation method and apparatus for preparing fluids containing high purity chlorine dioxide. 2006 [accessed 2013. 02.11.]; Available from: <http://patentscope.wipo.int/search/en/WO2008035130>
23. Solumium , A hét csillagos fertőtlenítőszer. 2011 [accessed 2013. 08.11.]; Available from: www.solumium.com
24. Aieta EM, Berg JD. (1986) A review of chlorine dioxide in drinking water treatment. *Am Water Works Assoc J*, 78: 62-72.

25. Alternative Disinfectants and Oxidants Guidance Manual: Chapter 4 Chlorine Dioxide 2011. [accessed 2013. 02.23.]; Available from: http://www.epa.gov/ogwdw/mdbp/pdf/alter/chapt_4.pdf)
26. Daniel FB, Conidine LW, Robinson M, Stober JA, York RG. (1990) Comparative 90-day subchronic toxicity studies on three drinking water disinfectants, chlorine, monochloramine and chlorine dioxide in the sprague-Dawley rats. *Am Water Works Assoc J*, 82: 61-69.
27. Lubbers JR, Chauhan SR, Bianchini JR. (1982) Controlled clinical evaluations of chlorine dioxide, chlorite and chlorate in man. *Environ Health Perspect*, 46: 57-62.
28. Noszticzius Z, Wittmann M, Kály-Kullai K, Beregvári Z, Kiss I, Rosivall L, Szegedi J. Chlorine dioxide is a size-selective antimicrobial agent. 2013 [accessed 2013. 11.20.]; Available from: PLoS One 2013;8:e7915
29. Paraskevas S, Rosema NA, Versteeg P, Van der Velden U, Van der Weijden GA. (2008) Chlorine dioxide and chlorhexidine mouthrinses compared in a 3-day plaque accumulation model. *J Periodontol*, 79: 1395-1400.
30. Tanner SR. (1989) Comparative testing and evaluation of hard-surface disinfectants. *J Indust Microbiol*, 4: 145-154.
31. Nauseef WM. (2007) How human neutrophils kill and degrade microbes. An integrated view. *Immunol Rev*, 219: 88-102.
32. Rosen H, Klebanoff SJ, Wang Y, Brot N, Heinecke JW, Fu X. (2009) Methionine oxidation contributes to bacterial killing by the myeloperoxidase system of neutrophils. *Proc Natl Acad Sci*, 106: 18686-18691.
33. Pattison DI, Davies MJ. (2006) Absolute rate constants for the reaction of hypochlorous acid with protein side chains and peptide bonds. *Chem Res Toxicol*, 14: 1453-1464.
34. Pullar JM, Vissers MCM, Winterbourn CC. (2000) Living with a killer: the effects of hypochlorous acid on mammalian cells. *IUBMB Life*, 50: 259-266.
35. Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. (1989) *Annual Rev Biochem*, 58: 79-110.
36. Harris AG, Hinds FE, Beckhouse AG, Kolesnikow T, Hazell SL. (2002) Resistance to hydrogen peroxide in *Helicobacter pylori*: role of catalase (KatA) and Fur, and functional analysis of a novel gene product designated 'KatA-associated protein', KapA (HP0874). *Microbiology*, 148: 3813-3825.

37. Barnes RL, Caskey DK. Using Ozone in the Prevention of Bacterial Biofilm Forming and Scaling. 2002 [accessed 2013.03.02.; Available from: <http://www.prozoneint.com/pdf/biofilms.pdf>
38. Rice RG, Wilkes JF. (1992) Fundamental Aspects of Ozone Chemistry in Recirculating Cooling Water. *International Ozone Association J*, 14: 329-365.
39. Herczegh A, Gombik Á, Rost M, Wierzbicka M, Bánóczy J. (1991) Aminfluorid és ónfluorid tartalmú fogkrém és szájöblítő mikrobiológiai hatásosságának vizsgálata. *Fogorv Sz*, 84: 181-184.
40. Kamotsay K, Herczegh A, Rozgonyi F, Nász I, Gintner Z, Bánóczy J. (2002) Effect of fluoride on cariogenic oral microorganisms. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 49: 47-58.
41. Flour. [accessed 2014 03.20.]; Available from: wikipedia.org/wiki/Fluor
42. Nevitt GA, Witter DH, Bowman WD. (1958) Topical applications of sodium fluoride and stannous fluoride. *Public Health Rep*, 73: 847-850.
43. Perlich MA, Bacca LA, Bollmer B, Lanzalaco AC, McClanahan S, Sewak, LK., Beiswanger BB, Eichold, WA, Hull JR. (1995) The clinical effect of a stabilized stannous fluoride dentifrice on plaque formation, gingivitis and gingival bleeding: a six-month study. *J Clin Dent*, 6: 54-58.
44. Hamilton I R. (1990) Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. *J Dent Res*, 69: 660-667.
45. Bánóczy J, Szoke J, Kertesz P, Toth Z, Zimmermann P, Gintner Z. (1989) Effect of amine fluoride/stannous fluoride-containing toothpaste and mouthrinsings on dental plaque, gingivitis, plaque and enamel F-accumulation. *Caries Res*, 23: 284-288.
46. Camosci DA, Tinanoff N. (1984) Anti-bacterial determinants of stannous fluoride. *J Dent. Res*, 63: 1121-1125.
47. Svanberg M, Rolla G. (1982) Streptococcus mutans in plaque and saliva after mouthrinsing with SnF₂. *Scand J Dent Res*, 90: 292-298.
48. Aminfluoridok. [accessed; Available from: http://www.gaba.hu/htm/1814/hu_HU/Articles-Dental-Professionals.pdf
49. Shern RJ, Rundell BB, Defever CJ. (1974) Effects of an amine fluoride mouthrinse on the formation and microbial content of plaque. *Helv Odontol Acta*, 18: 57-62.
50. Vacca-Smith AM KM, Bowen WH. (1994) Effect of milk and casein on P1-mediated Streptococcal adherence. *J Dent Res*, 73: 340-340.

51. Phillips PC. (1991) Fluoride availability in fluoridated milk systems. *Caries Res*, 25: 237-237.
52. Bánóczy J. Preventív fogászat. In: Bánóczy J, Nyárasdy I. (szerk.), *Medicina Könyvkiadó Rt, Budapest*, 1999: 64-65.
53. Stephen KW, Bánóczy J, Pakhomov. Milk fluoridation for the prevention of dental caries. World Health Organization/Borrow Dental milk Foundation, Geneva, 1996: 95-96.
54. Lam H, Oh DC, Cava F, Takacs CN, Clardy J, de Pedro MA, Waldor MK. (2009) D-Amino acids govern stationary phase cell wall remodeling in bacteria. *Science*, 325: 1552–1555.
55. Zehnder M. (2006) Root canal irrigants. *J Endod*, 32: 389-398.
56. Klórhexidin. [accessed 2013. 03.08.]; Available from: <http://hu.wikipedia.org/wiki/Kl%C3%B3rhexidin>
57. Ryan S. Chlorhexidine as a canal irrigant : A review. [accessed 2013. 10.12.]; Available from: <http://www.cdeword.com/courses/4455-chlorhexidine>
58. Jenkins S, Addy M, Wade W. The mechanism of action of chlorhexidine. (1988) A study of plaque growth on enamel inserts in vivo. *J Clin Periodontol*, 15: 415-424.
59. Gaffar A, Afflitto J, Nabi N. (1997) Chemical agents for the control of plaque and plaque microflora: An overview. *Eur J Oral Sci*, 105: 502-507.
60. Zadik Y. (2008) Algorithm of first-aid management of dental trauma for medics and corpsmen. *Dent Traumatol*, 24: 698-701.
61. Zadik Y, Yitschaky O, Neuman T, Nitzan DW. (2011) On the self-resolution nature of the buccal bifurcation cyst. *J Oral Maxillofac Surg*, 69: 282-284.
62. Dolińska E, Stokowska W. (2006) Short time effect of elmex and Listerine mouthrinses on plaque in 12-year-old children. *Adv Med Sci*, 1: 73-76.
63. Overholser CD, Meiller TF, DePaola LG, Minah GE, Niehaus C. (1990) Comparative effects of 2 chemotherapeutic mouthrinses on the development of supragingival dental plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol*, 17: 575-579.
64. BT-BTAdatlap_új-KLÓRHEXIDIN-DIGLÜKONÁT 20 %. 2012 [accessed 2013. 10.14.]; Available from: <http://www.molar.hu/pdf/bt04720.pdf>
65. Fine DH. Listerine: past, present and future--a test of thyme. (2010) *J Dent. Res*, 38 Suppl 1: S2-55.

66. Cole P, Rodu B, Mathisen A. (2003) Alcohol-containing mouthwash and oropharyngeal cancer: a review of the epidemiology. *J Am Dent Assoc*, 134: 1079-1087.
67. Elmore JG, Horwitz RI. (1995) Oral cancer and mouthwash use: evaluation of the epidemiologic evidence. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 113: 253-261.
68. McCullough M, Farach CS. (2008) The role of alcohol in oral carcinogenesis with particular reference to alcohol-containing mouthwashes. *Aust Dent J*, 53: 302-305.
69. Science brief on alcohol-containing mouthrinses and oral cancer. 2009 [accessed 2013. 09.12.]; Available from: <http://www.ada.org/sections6professionalResources/pdfs/topic-cancer-brief-mouthrinses.pdf>
70. Addy M, Loyn T, Adams D. (1991) Dentine hypersensitivity effects of some proprietary mouthwashes on the dentine smear layer: a SEM study. *J Dentistry*, 19: 148-152.
71. Menzes MM, Valeria MC J, Koga-Ito CY, Camargo CH, Mancini MN. (2004) In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J*, 37: 311-319.
72. Bystrom A, Sundqvist G. (1983) Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 55: 307-312.
73. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. (2004) In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 97:79-84.
74. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. (2007) The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Australian Dental J*, 52: 64-82.
75. Mohammadi Z, Khademi AA, Davari AR. (2008) Evaluation of the antibacterial substantivity of three concentrations of chlorhexidine in bovine root dentine. *Iranian Endod J*, 2: 113-125.
76. Lin S, Zuckerman O, Weiss EI, Fuss Z. (2003) Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow-releasing device to disinfect dentinal tubules. *J Endodontics*, 29: 416-418.
77. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S. (2000) Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentine. *J Endodontics*, 26: 315-317.

78. Mohammadi Z, Abbott PV. (2009) The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J*, 42: 288-302.
79. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. (2004) Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endodontics*, 30: 785-787.
80. Siqueira Jr JF, Lopes HP. (1999) Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J*, 32: 362-369.
81. Mah TF, O'Toole GA. (2001) Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol*, 9: 34-39.
82. Brune RA, Marquis RE. (2000) Alkali production by oral bacteria and protection against dental caries. *FEMS Microbiol Lett*, 193: 1-6.
83. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. (2006) The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol 2000*, 42: 80-87.
84. Chemistry of biofilm prevention. [accessed 2013. 09.06.]; Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Chemistry_of_biofilm_prevention
85. Hwang-Soo Joo, Michael O. Molecular Basis of In Vivo Biofilm Formation by Bacterial Pathogens. 2012 [accessed 2013. 11.12.]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.10.022>
86. Filoche S, Wong L, CH S. (2010) Oral biofilms: emerging concepts in microbial ecology. *J Dental Res*, 89: 8-18.
87. Thurnheer T, Gmür R, Shapiro S, Guggenheim B. (2003) Mass transport of macromolecules within an in vitro model of supragingival plaque. *Appl Environ Microbiol*, 69: 1702-1709
88. Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Eglund PG, Foster J, Palmer RJ. (2002) Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*, 66: 486-505.
89. Spoering AL, Lewis K. (2011) Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. *J Bacteriology*, 183: 6746-6751
90. Lockhart PB, Durack DT. (1999) Oral microflora as a cause of endocarditis and other distant site infections. *Infect Dis Clin North Am*, 13: 833-850.
91. Fischman SL. (1997) The history of oral hygiene products: how far have we come in 6000 years? *Periodontol 2000*, 15: 7-14.
92. Nász I. *Klinikai Mikrobiológia*. Medicina, Budapest, 1988: 266-266.

93. Nász I. Klinikai Mikrobiológia. Medicina, Budapest, 1988: 272-272.
94. Herczegh A. Megtartó fogászat és endodoncia. In: Fazekas Á (szerk.), Semmelweis kiadó, Budapest, 2006: 367-367.
95. Gold OG, Jordan HV, Van Houte J. (1973) A selective medium for Streptococcus mutans. Arch Oral Biol, 18: 1357-1386.
96. Rogosa M, Mitchell JA, R W. (1951) A selective medium for the isolation and enumeration of oral lactobacilli. J Dent Res, 30: 682-689.
97. Loe H, Sillness J. (1963) Periodontol disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. Act. Odont. Scand, 21: 533-551.
98. Murchan S, Kaufmann ME, Deplano A, Cookson B. (2003) Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocol for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant Staphylococcus aureus: single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains. J Clin Microbiol, 41: 15-85.
99. Kolodkin-G I, Diego R, Cao S, Clardy J, Kolter R, Losick R. (2010) D-Amino Acids Trigger Biofilm Disassembly. Science, 328: 627-629.
100. Hochbaum AI, Kolodkin-Gal I, Foulston L, Kolter R, Aizenberg J, Losick R. (2011) Inhibitory Effects of D-Amino Acids on Staphylococcus aureus Biofilm Development. J of Bacterology, 193: 5616-5622.
101. Soares JA, Roque de Carvalho MA, Cunha Santos SM, Mendonca RM, Ribeiro-Sobrinho AP, Brito-Junior M. (2010) Effectiveness of chemomechanical preparation with alternating use of sodium hypochlorite and EDTA in eliminating intracanal Enterococcus faecalis biofilm. J Endod, 36: 894-898.
102. SOLUMIUM.COM. Solumium Dental Package Insert. 2012 [accessed 2012 12.18.]; Available from: http://www.solumium.com/static/pdf/SOLUMIUM_DENTAL_PACKAGE-INSERT.pdf
103. Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TM, Orstavik D, Haapasalo MP. (2000) Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. Int Endod J, 33: 126-131.
104. Grande NM1, Plotino G, Falanga A, Pomponi M, Somma F. (2006) Interaction between EDTA and sodium hypochlorite: a nuclear magnetic resonance analysis. J. Endod, 32: 460-464.

105. Herczegh A, Ghidan A, Deseő K, Kamotsay K, Tarján I. (2008) Comparison of streptococcus mutans strains from children with caries-active, caries-free and gingivitis clinical diagnosis by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 55: 419-427.
106. About CDC Ten great public health achievements. [accessed 2014. 03.25.]; Available from: <http://www.cdc.gov/about/history/tengpha.htm>
107. Svaton B, Attramadal A. (1978) The effect of stannous fluoride on human plaque acidogenicity in situ. *Acta Odontol Scand*, 36: 211-218.
108. Tinanoff N, Brady JM, Gross A. (1976) The effect of NaF and SnF₂ mouthrinses on bacterial colonization of tooth enamel. *Caries Res*, 10: 415-426.
109. Klock B, Serling J, Kinder S, Manvel MA, Tinanoff N. (1985) Comparison of effect on SnF₂ and NaF mouthrinses on caries incidence, salivary *S. mutans* and gingivitis in high caries prevalent adults. *Scand J. Res.* 93: 213-217.
110. Etemadzadeh H, Meurman JH, Murto M, Lappi L, Roos M. Effect on plaque growth and salivary microorganisms of amine fluoride-stannous fluoride and chlorhexidine containing mouthrinses. *J. Clin. Periodontol.* 1989;16:175-178.
111. Brex M, Netuschil L, Reishert B, Schreil G. (1990) Efficacy of Listerine, Meridol and chlorhexidine mouthrinses on plaque, gingivitis and plaque bacteria vitality. *J Clin Periodontol*, 17: 292-297.
112. Maltz M, Emilson CG. (1982) Susceptibility of oral bacteria to various fluoride salts. *J Dent Res*, 61: 786-790.
113. Marquis RE, Clock SA, Mota-Meira M. (2003) "Fluoride and organic weak acids as modulators of microbial physiology". *FEMS Microbiol Rev*, 26: 493-510.
114. Bánóczy J, Zimmermann P, Pintér A, Hadas E, Bruszt V. (1983) Effect of fluoridated milk on caries: 3-year results. *Community Dent Oral Epidemiol*, 11: 81-85.
115. Zahlaka M, Mitri O, Munder H, Mann J, Kaldavi A, Galon H, Gedalia I. (1987) The effect of fluoridated milk on caries in Arab children. Results after 3 years. *Clin Prev Dent*, 9: 23-25.
116. Loesche W J. (1996) Antimicrobials in dentistry: with knowledge comes responsibility. *J Dent Res*, 75: 1432-1433.
117. Li Y, Caufield PW, Redmo EI. (2001) Differentiation of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* via genotypic and phenotypic profiles from three different populations. *Oral Microbiol Immunol*, 16: 16-23.

118. Caufield PW, Ratanapridakul K, Allen DN, Cutter GR. (1988) Plasmid-containing strains of *Streptococcus mutans* cluster within family and racial cohorts: implications for natural transmission. *Infect Immun*, 56: 3216–3220.
119. Jordan C, LeBlanc DJ. (2002) Influences of orthodontic appliances on oral populations of *mutans streptococci*. *Oral Microbiol Immunol*, 17: 65-71.
120. Wilson M. (1997) Bacterial biofilms and human disease. *Science Progress* 2001;84: 235-254.
121. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol* 2000, 15: 55-62
122. Addy M, Wright R. (1978) Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of providone iodine and chlorhexidine gluconate mouthrinses. *J. Clinic Periodontol*, 5: 198-205
123. Keijser JA. (2003) Comparison of 2 commercially available chlorhexidine mouthrinses. *J Periodontol*, 74: 214-218.
124. Pratten J, Wilson M. (1999) Antimicrobial susceptibility and composition of microcosm dental plaques supplemented with sucrose. *Antimicrob Agents Chemother*, 43: 1595-1599
125. Grossman E, Reiter GP, Sturzenberger OP, de la Rosa M, Dickinson TD, Ferreti GA. (1986) Six month study of the effects of a chlorhexidine mouthrinse on gingivitis in adults. *J Periodontal Res*, 21: 33-43.
126. Horwitz J, Machtei EE, Peled M, Laufer D. (2000) Amine fluoride/stannous fluoride and chlorhexidine mouthwashes as adjuncts to surgical periodontal therapy: a comparative study. *J Periodontol*, 10: 1601-1606.
127. Buul T, Kato T, Iijima H, Ishihara K, Kanek T, Hirai K, Naito Y, Okuda K (1990) Antibacterial effects of Listerine on oral bacteria. *The Bulletin Tokyo Dental Collage*, 31: 301-307.
128. Moran J, Addy M, Wad W, Mayna J, Roberts SE, Aström M. (1992) A comparison of delmopion and clorhexidine on plaque regrowth over a 4 day period and salivary bacterial counts. *J Clinic Periodontol*, 19: 749-753
129. Addy M, Moran J, Griffiths A, Wills-Wood Nj. (1985) Extrinsic tooth discolouration by metals and chlorhexidine.1: Surface protein denaturation or dietary precipitation? *Br Dent J*, 159: 331-334.
130. Kenrad B. Toxin effects from chlorhexidine gluconate: case report. (1990) *Tandlaegebladet*, 94: 489-491.

131. Goultschin J, Green J, Machtei E, Stabhol A, Brayer L, Schwartz Z, Sela MN, Soskolne A. (1989) Use of a metastabilized chlorous acid/chlorine dioxide formulation as a mouthrinse for plaque reduction. *Isr J DentSci*, 2: 142-147.
132. Drake D, Villhauer A. (2011) An in vitro comparative study determining bactericidal activity of stabilized chlorine dioxide and other oral rinses *J Clin Dent*, 22: 1-5.
133. Yates R, Moran J, Addy M, Mullan P J, Wade WG, Newcombe R. (1997) The comparative effect of acidified sodium chlorite and chlorhexidine mouthrinses on plaque regrowth and salivary bacterial counts. *J Clinic Periodontol*, 24: 603- 609.
134. Mohammad AR, Giannini PJ, Preshaw PM, Alliger H. (2004) Clinical and microbiological efficacy of chlorine dioxide in the management of chronic atrophic candidiasis: an open study. *Int Dent J*, 54: 154-158
135. Herczegh A, Gyurkovics M, Agababyan H, Ghidan A, Lohinai Z. (2013) Comparing the efficacy of hyper-pure chlorine dioxide with other oral antiseptics on oral pathogen microorganisms and biofilm in vitro. *Acta Microbiol et Immunol Hung*, 60: 359-372.
136. Zanatta FB, Antoniaz RP, Rösing C K. (2010) Staining and calculus formation after 0.12 % chlorhexidine rinses in plaque-free and plaque covered surfaces: a randomized trial. *J Appl Oral Sci*, 5: 515-521.
137. DePaola LG, Minah GE, Overholser CD, Meiller TF, Charles CH, Harper DS, McAlary M. (1996) Effect of an antiseptic mouthrinse on salivary microbiota. *Am J Dent*, 3: 93-95.
138. Portenier I, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. (2006) Killing of *Enterococcus faecalis* by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA. *J Endod*, 32: 138-141.
139. Morgental RD, Singh A, Sappal H, Kopper PM, Vier-Pelisser FV, Peters OA. (2013) Dentin inhibits the antibacterial effect of new and conventional endodontic irrigants. *J Endod*, 39: 406-410.
140. Kishor G., Bina P, Glynis E. (2005) Effects of mechanical and chemical procedure on root canal surfaces. *Endod Topics*, 1: 103-122.
141. Kovac J, Kovac D. (2011) Effect of irrigating solutions in endodontic therapy. *Bratisl Lek Listy*, 112: 410-415.
142. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. (2006) *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod*, 32: 93-98.

143. Card SJ, Sigurdsson A, Orstavik D, Trope M. (2002) The effectiveness of increased apical enlargement in reducing intracanal bacteria. *J Endod*, 28: 779-783.
144. Siquera JF, Rocas IN, Santos SR, KC L, Magalhaes FA, De Uzeda M. (2002) Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod*, 28: 181-184.
145. Torabinejad M SS, Aparecio RM, Kettering JD. (2003) The antimicrobial effect of MTAD: an in vitro investigation. *J Endod*, 29: 400-403.
146. Zhang W TM, Li Y. (2003) Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT-tetrazolium method. *J Endod*, 29: 654-657.
147. Sena NT, Gomes BPF, Viana ME, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. (2006) In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. *Int Endod J*, 39: 878-885.
148. Bystrom A, Sundqvist G. (1985) The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*, 18: 35-40.
149. Herczegh A, Ghidan Á, Friedreich D, Gyurkovics M, Bendő Z, Lohinai Z. (2013) Effectiveness of a high purity chlorine dioxide solution in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. *Acta Microbiol et Immunol Hung*, 60: 63-75.
150. Vianna ME, Horz HP, Gomes BP. (2006) Conrads G. In vivo evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J*, 39: 484-492
151. Rocas IN, Siqueira JF Jr. (2011) Comparison of the in vivo antimicrobial effectiveness of sodium hypochlorite and chlorhexidine used as root canal irrigants: a molecular microbiology study. *J Endod*, 37: 143-150.
152. Vianna ME GB. (2009) Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 107: 585-589.
153. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Garcia M, Baca P. (2009) *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod*, 35: 711-714.
154. Surapipongpuntr P, Duangcharee W, Kwangsamai S, Ekka A. (2008) Effect of root canal irrigants on cervical dentine permeability to hydrogen peroxide. *Int Endod J*, 41: 821-827.
155. Lundstrom JR, Williamson AE, Villhauer AL, Dawson DV, Drake DR. (2010) Bactericidal activity of stabilized chlorine dioxide as an endodontic irrigant in a polymicrobial biofilm tooth model system. *J Endod*, 36: 1874-1878.

156. Eddy RS, Joyce AP, Roberts S, Buxton TB, Liewehr F. (2005) An in vitro evaluation of the antibacterial efficacy of chlorine dioxide on *E. faecalis* in bovine incisors. *J Endod*, 31: 672-675.
157. Sabeti MA, Nekofar M, Motahary P, Ghandi M, Simon JH. (2006) Healing of apical periodontitis after endodontic treatment with and without obturation in dogs. *J Endod*, 32: 628-633.
158. Haapasalo M, Qian W, Portenier I, Waltimo T. (2007) Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod*, 33: 917-925.
159. Portenier I, Haapasalo H, Orstavik D, Yamauchi M, Haapasalo M. (2002) Inactivation of the antibacterial activity of iodine potassium iodide and chlorhexidine digluconate against *Enterococcus faecalis* by dentin, dentin matrix, type-I collagen, and heat-killed microbial whole cells. *J Endod*, 28: 634-637.
160. Shuping GB OD, Sigurdsson A, Trope M. (2000) Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications. *J Endod*, 26: 751-755.
161. McGurkin-Smith R, Trope M, Caplan D, Sigurdsson A. (2005) Reduction of intracanal bacteria using GT rotary instrumentation, 5.25% NaOCl, EDTA, and Ca(OH)₂. *J Endod*, 31: 359-363.
162. Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M. (2001) Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. *Int Endod J*, 34: 184-188.
163. Herczegh A GM, Ghidan A, Megyesi M, Lohinai Z. (2014) Effect of dentin powder on the antimicrobial properties of hyperpure chlorine-dioxide and its comparison to conventional endodontic disinfecting agents. *Acta Microbiol Immunol Hung*, DOI: 10.1556/AMicr.61.2014.2.10 2014.
164. Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A. (2007) Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod*, 33: 966-969.
165. Heard DD, Ashworth RW. (1968) The colloidal properties of chlorhexidine and its interaction with some macromolecules. *J Pharm Pharmacol*, 20: 505-512.
166. Pappen F G, Shen Y, Qian W, Leonardo M R, Giardino L, Haapasalo M. (2010) In vitro antibacterial action of Tetraclean, MTAD and five experimental irrigation solutions. *Int Endod J*, 4: 528-535.
167. Niu W1, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. (2002) A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J*, 35: 934-939.

168. Veeramachaneni C, Vanapatla A, Vanapatla S R, T Jaya P, A Siva R, Ch Gayathri. (2013) Evaluation of biocompatibility of a new root canal irrigant Q Mix TM 2 in 1- An in vivo study. *J. Conserv Dent*, 16: 36-40.

11 Saját publikációk jegyzéke

11.1 Értekezéssel kapcsolatos közlemények

1. **Herczegh A**, Gyurkovics M, Ghidan A, Megyesi M, Lohinai Z. (2014) Effect of dentin powder on the antimicrobial properties of hyperpure chlorine-dioxide and its comparison to conventional endodontic disinfecting agents DOI: 10.1556/AMicr.61.2014.2.10 (**IF: 0,646**)
2. **Herczegh A**, Gyurkovics M, Agababyan H, Ghidán A, Lohinai Z. (2013) Comparing the efficacy of hyper-pure chlorine-dioxide with other oral antiseptics on oral pathogen microorganisms and biofilm in vitro. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 60: 359-73. (**IF: 0,646**)
3. **Herczegh A**, Ghidan A, Friedreich D, Gyurkovics M, Bendő Z, Lohinai Z. (2013) Effectiveness of a high purity chlorine dioxide solution in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 60: 63-75. (**IF: 0,646**)
4. **Herczegh A**, Ghidán A, Deseo K, Kamotsay K, Tarján I. (2008) Comparison of *Streptococcus mutans* strains from children with caries-active, caries-free and gingivitis clinical diagnosis by pulsed-field gel electrophoresis. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 55: 419-27.
5. Kamotsay K, **Herczegh A**, Rozgonyi F, Nász I, Gintner Z, Bánóczy J. (2002) Effect of fluoride on cariogenic oral microorganisms (an in vitro study). *Acta Microbiol Immunol Hung*, 49: 47-58.
6. **Herczegh A**, Gombik A, Rost M, Wierzbicka M, Bánóczy J. (1991) Aminfluorid és ónfluorid tartalmú fogkrém és szájöblítő mikrobiológiai hatásosságának vizsgálata. *Fogorv Sz*, 84: 181-4.

11.2 Értekezéssel nem kapcsolatos közlemények

1. Gyurkovics M, Barta A, Bartha K, Bíró ÁB, Döbrentey Zs, Fazekas R, Gánti B, Gyórfi A, **Herczegh A**, Jelencsics D, Kis P, Komora P, Mikó S, Nagy Zs, Pataky G, Sági B, Szabó E, Tóth Zs. (2013) A fogorvoslás fejlődése az elmúlt 20 évben *Orvostovábbképző Sz*, 20: (1. ksz.) pp. 18-28.
2. Árendás K, **Herczegh A**, Kerémi B, Tóth Zs. (2013) Caries rizikópáciens komplex ellátása: Esetismertetés *Fogorv Sz*, 106: 17-21.

3. Bánóczy J, Orsós M, Gombik A, **Herczegh A.** (1997) The development and results of oral microbiology at the Semmelweis University of Medicine. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 44: 291-4.
4. **Herczegh A.** (1993) A gyökérfelszíni caries mikrobiológiája *Fogorv Sz*, 86: 333-337. Review. Hungarian.
5. Wierzbicka M, Rost M, Strużycka I, Bánóczy J, Grzywacz R, Gombik A, **Herczegh A.** (1992) Wpływ związków fluoru stosowanych do domowej higieny jamy ustnej na drobnoustroje próchnicotwórcze u osób dorosłych [Effects of fluoride dentifrices and mouthrines on caries related bacteria in adults] *Cza Stomatol*, 45: 189-195.
6. **Herczegh A,** Gyarmati I, Nász I, Bánóczy J. (1991) Néhány fotopolimerizációs tömőanyag és üveginomer cement baktériumállóságának vizsgálata. *Fogorv Sz*, 84: 151-154. Review. Hungarian.

12 Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom konzulensemnek, dr. Lohinai Zsoltnak, hogy felhívta figyelmemet az érdekes és a mindennapi fogászati gyakorlat szempontjából jelentőséggel bíró téma vizsgálatára. Köszönöm a sok segítséget, biztatást a publikációk elkészítésében. Köszönettel tartozom dr. Ghidán Ágoston konzulensemnek, aki a kísérletek megtervezésében, kivitelezésében maximális segítséget nyújtott. Köszönöm dr. Gyurkovics Milán nélkülözhetetlen segítségét az adatok statisztikai értékelésében. Köszönöm intézetvezetőmnek, dr. Tóth Zsuzsannának, hogy lelkesített és támogatott törekvéseim elérésében. Köszönettel tartozom dr. Nagy Károly professzor úrnak és az Orvosi Mikrobiológia Intézet számos dolgozójának, hogy biztosították számomra a kísérletek elvégzéséhez szükséges feltételeket. Szeretném megköszönni 5 diákkörös hallgatónak is lelkes, szorgalmas segítségüket. Kísérleteim anyagi finanszírozását a kari kutatási pályázatok kiírójának köszönhetem. Köszönöm Noszticzius Zoltánnak, Meggyesi Mariannak a nagytisztaságú klór-dioxid megteremtőinek, hogy felmerülő problémáink, kérdéseink megoldásában mindig segítségünkre voltak.

Hálával tartozom szüleimnek, férjemnek és két lányomnak, hogy mellettem álltak a legnehezebb pillanatokban és mindenben segítettek, hogy munkámat elkészíthessem a fokozatszerzéshez.